tions (aerobic incubation at 30°C, growth medium containing 10 mg of ampicillin/l) in a case of a beef meat was 101.8%, pork meat 99.8%, and fish meat 111.6%. The obtained results point that the ADA medium combined with a kit of certain biochemical tests (oxidase production, type of polysaccharide degradation, fermentation of glucose with or without gas production, splitting of aesculine) which enable to differentiate the Aeromonas bacteria may be used to quantitative determination of Aeromonas in meat.

KRZYSZTOF KWIATEK

Ocena stanu bakteriologicznego glukozy używanej do peklowania mięsa

Zakład Higieny Produktów Zwierzęcych Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Surowce pomocnicze używane w przetwórstwie mięsa tj. przyprawy, woda, substytuty białkowe, sacharoza, glukoza wywierają wyraźny wpływ na zanieczyszczenia bakteryjne produktów mięsnych (2, 7). Z ostatnio opublikowanych danych (4) wynika, że glukoza krystaliczna stosowana do sporządzania solanek peklujących może stanowić poważne źródło zanieczyszczenia szynek pasteryzowanych przetrwalnikującymi laseczkami beztlenowymi. Wart odnotowania jest fakt, że obowiązująca obecnie norma jakościowa (5) nie określa wymagań bakteriologicznych dla glukozy krystalicznej używanej w przemyśle mięsnym do sporządzania solanek peklujących. Z dostępnego piśmiennictwa krajowego wynika również, że stan mikrobiologicznego zanieczyszczenia tego węglowodanu nie był przedmiotem zainteresowania badaczy.

W związku z powyższym podjęto badania, których celem było określenie stanu bakteryjnego zanieczyszczenia glukozy używanej do peklowania mięsa. Ponadto postanowiono określić wpływ różnych poziomów glukozy w pożywce Wrzoska na zdolność wzrostu bakterii rodzaju *Clostridium*. Badania te pozwolą odpowiedzieć na pytanie, czy dodatek 1 g glukozy do podłoża Wrzoska nie stwarza w tej pożywce środowiska hamującego rozwój beztlenowych laseczek przetrwalnikujących.

Materiał i metody

Przedmiotem badań bakteriologicznych było 10 próbek glukozy krystalicznej pobranych z różnych partii produkcyjnych tego materiału. Węglowodan ten używany był do sporządzania solanki w zakładach mięsnych. Wszystkie partie badanego materiału pochodziły z jednego zakładu produkcyjnego, który produkuje ten cukier na bazie skrobi ziemniaczanej. Przeprowadzono następujące oznaczenia:

a) ogólną liczbę bakterii tlenowych mezofilnych w 1 g,
b) liczbę przetrwalnikujących bakterii tlenowych w 1 g,
c) liczbę i miano przetrwalnikujących laseczek beztlenowych.

Powyższe oznaczenia wykonano zgodnie z obowiązującymi zasadami postępowania (2, 6), z wyjątkiem badania w kierunku obecności przetrwalnikujących laseczek beztlenowych w 1 g glukozy. W badaniu tym, celem wyeliminowania hamującego oddziaływania wysokich stężeń glukozy na wzrost laseczek rodzaju *Clostridium*, zwiększono objętość pożywki Wrzoska do 40 ml. W ten sposób uzyskano w pożywce 2,5% koncentrację tego cukru, która nie wykazywała właściwości inhibicyjnych wzrostu. Ponadto, podobnie jak w pracy poprzedniej (4), do zestawu podłoży zalecanych normą (5) do izolowania laseczek *Clostridium* włączono agar odżywczy (Difco) z dodatkiem 10% krwi końskiej oraz podłoże agarowe Brucella (Ixoid) wzbogacone także 10% dodatkiem krwi końskiej.

Wyizolowane na podłożach agarowych szczepy beztlenowych laseczek przetrwalnikujących przesiewano kilkakrotnie aż do otrzymania czystych kultur. Wyosobnione szczepy laseczek rodzaju *Clostridium* sprawdzano na zdolność wytwarzania przetrwalników i ich umiejscowienie w komórce. Określono także ich zdolność rozkładu arabinozy, eskuliny, fruktozy, galaktozy, glukozy, glicerolu, ksylozy, laktozy, maltozy, mannitolu, rafinozy, skrobi, sorbitolu, sacharozy i trehalozy. Badano także zdolność wyizolowanych szczepów do wytwarzania indolu, ureazy i siarkowodoru oraz właściwości proteolityczne w odniesieniu do żelatyny i kazeiny. Badania cech biochemicznych przeprowadzono wg metody Beerensa (2).

W trakcie badań wyłoniło się także zagadnienie wymagające sprawdzenia w jakim stopniu dodatek 1 g glukozy do probówki z podłożem Wrzoska oddziaływuje hamująco na wzrost beztlenowych laseczek przetrwalnikowych (wyniki fałszywie ujemne).

W związku z powyższym postanowiono określić zdolność wzrostu wyizolowanych laseczek rodzaju *Clostridium* w podłożu Wrzoska zawierającym różne stężenia tego węglowodanu tj. 12,5%, 10,0%, 7,5%, 5,0% 2,5% i 0%. Próbki z pożywką Wrzoska o odpowiedniej koncentracji glukozy po dodaniu do każdej z nich co 1×10^3 komórek *Cl. pasteurianum* inkubowano w temp. 37°C w warunkach beztlenowych. Wynik odczytywano po 48 i 72 h inkubacji.

Wyniki i omówienie

Kształtowanie się poziomów ilościowego i jakościowego zanieczyszczenia glukozy mikroflorą tlenową i beztlenową oraz charakterystykę wyizolowanych szczepów betlenowych laseczek przetrwalnikujących przestawiono w tab. 1—3.

Jak wynika z danych tab. 1 na ogółem zbadanych 10 próbek glukozy we wszystkich przypadkach stwierdzono występowanie bakterii tlenowych i beztlenowych. Należy jednakże podkreślić, że ogólna liczba bakterii tlenowych mezofilnych oraz liczba bakterii tlenowych przetrwalnikujących była niewielka i w żadnej z badanych próbek nie przekroczyła 100 cfu/g.

Poziom zanieczyszczenia badanych próbek glukozy beztlenowymi laseczkami przetrwalni-

Tab. 1. Stan zanieczyszczenia glukozy mikroflorą tlenową i beztlenową

Liczba prób	Laseczki rodzaju Clostridium		Ogólna liczba bakt. tlen. mezofilnych cfu/g	Liczba bakterii tlenowych przetrwal. cfu/g
	miano	cfu/g		
1	0,01	150	<50	<50
2	0,1	od <50 do 50	<50	<50
7	1	<50	od <50 do 100	od <50 do 100

Tab. 2. Właściwości hodowlane i biochemiczne *Cl. pasteurianum* oraz szczepów beztlenowych laseczek przetrwalnikujących wyizolowanych z glukozy

Rodzaj testu	Clostridium pasteurianum wg klasyf. Bergeya (1)	Laseczki rodz. Clostridium – 10 szczepów
Wzrost na podłożach:		
Wilson-Blaira, Willis-Hobbs	brak danych	—
Agar odżywczy (Difco) z krwią (10%)		—
Agar Brucella z krwią (10%)		+
Rozkład:		
Arabinoza	+	—
Eskulina	—	—
Fruktoza, galaktoza, glukoza, glicerol	+	+
Laktoza	—	—
Maltoza, mannitol, rafinoza	+	+
Sorbitol, sacharoza, trehaloza	+	+
Skrobia	—	—
Ksyloza	—	—
Hydroliza:		
Kazeiny	—	—
Żelatyny	—	—
Wytwarzanie:		
Indolu, ureazy, H_2S	—	—
Redukcja azotanów	d	—
Hemoliza na agarze z krwią	—	—
Określenie gatunku		Cl. pasteurianum

Objaśnienia: (—) wynik ujemny, (+) wynik dodatni, (d) wyniki są zmienne.

kującymi wyrażony wartością miana wahał się od 1 do 0,01. Metodą posiewu powierzchniowego na podłoże agarowe Brucella z krwią określano, że 1 g glukozy w zależności od badanej próbki zawierał od poniżej 50 do 150 laseczek rodzaju *Clostridium*. Wyosobnione szczepy beztlenowych laseczek przetrwalnikujących rosły na pożywce Wrzoska w postaci jednolitego zmętnienia z wytwarzaniem umiarkowanej ilości gazu. Te oznaki wzrostu stawały się z reguły widoczne dopiero po około 40—48 h inkubacji w temp. 37°C. W preparacie bakterioskopowym barwionym metodą Grama komórki wybarwiały się gram-dodatnio, w starszych hodowlach również gram-ujemnie. Miały one kształt prostych lub lekko zakrzywionych laseczek z zaokrąglonymi końcami. Bardzo nieliczne komórki posiadały zarodniki kształtu owalnego położone subterminalnie.

Zgodnie z danymi przedstawionymi w tab. 2 spośród 4 użytych do posiewu podłoży stałych laseczki te dawały wzrost tylko na agarze Brucella z krwią. Wyizolowane szczepy tworzyły na tym podłożu po 48 h inkubacji nieregularne, nieznacznie wzniesione, szare o połyskującej powierzchni kolonie o średnicy 1—6 mm.

W preparacie bakterioskopowym z tych kolonii laseczki wybarwiały się gram-dodatnio. W przeciwieństwie do hodowli na pożywce Wrzoska, znaczna część komórek bakteryjnych posiadała położone subterminalnie owalnego kształtu przetrwalniki. Umiejscowienie spor oraz stwierdzony brak zdolności hydrolizy żelatyny pozwoliło zaliczyć wyosobnione *Clostridia* do I grupy beztlenowców przetrwalnikujących wg klasyfikacji Bergeya (1).

Brak zdolności wzrostu wyizolowanych szczepów beztlenowców na pozostałych podłożach tj. Willis-Hobbs, Wilson-Blaira oraz agarze odżywczym z krwią wskazuje, że pożywki te nie są odpowiednie do izolowania laseczek *Clostridium* grupy sacharolitycznej (grupa I).

Z przedstawionych w dalszej części tab. 2 właściwości biochemicznych wyosobnionych szczepów wynika, że reprezentowały one gatunek *Clostridium pasteurianum* wg klasyfikacji Bergeya (1). Stwierdzone niezgodności w zakresie badanych cech biochemicznych dotyczyły tylko rozkładu arabinozy i redukcji azotanów. Podobne spostrzeżenie, w odniesieniu do szczepów *Cl. pasteurianum* wyizolowanych z szynki pasteryzowanej, poczyniono również w badaniach wcześniejszych (4).

Zdolność wzrostu wyizolowanych szczepów *Cl. pasteurianum* w podłożu Wrzoska w zależności od zawartości w nim glukozy i czasu inkubacji przedstawiono w tab. 3. Dane tej tabeli wskazują, że koncentracja glukozy w pożywce wyższa niż 2,5% oddziaływała hamująco na wzrost badanych szczepów. Liczba i odsetek szczepów nie wykazujących wzrostu po 48 h inkubacji w temp. 37°C miała tendencję zwyżkową wraz ze wzrostem koncentracji tej substancji w pożywce. Przedłużenie do 72 h czasu inkubacji pożywek, na których nie zaobserwowano wzrostu po 48 h przetrzymywania w cieplarce, powodowało spadek liczby szczepów nie

Tab. 3. Wzrost szczepów *Cl. pasteurianum* w podłożu Wrzoska w zależności od zawartości w nim glukozy i czasu inkubacji

Liczba szczepów	Stężenie glukozy (%) w podłożu Wrzoska					
	7,5		5		2,5	
	Czas inkubacji (h)					
	48	72	48	72	48	72
2	+	+	+	+	+	+
4	−	+	+	+	+	+
2	−	−	+	+	+	+
1	−	−	−	+	+	+
1	−	−	−	−	+	+
Liczba/odsetek szczepów nie wykazujących wzrostu	8/80	4/40	2/80	1/10	0/0	0/0

wykazujących zdolności namnażania się w tych warunkach. Fakt ten wynikał, jak się wydaje, z przedłużenia się faz kiełkowania i wzrostu logarytmicznego badanych szczepów w niekorzystnych warunkach. Całkowite zahamowanie wzrostu badanych szczepów laseczek *Clostridium* niezależnie od okresu trwania inkubacji, obserwowano w pożywce Wrzoska zawierającej 10% lub wyższy dodatek glukozy.

Otrzymane dane jednoznacznie wskazują, że przy oznaczaniu obecności beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 1 g odważkach glukozy niezbędne jest zwiększenie objętości pożywki Wrzoska do 40 ml na jedną próbkę (zwykle do tego rodzaju badań używa się probówek o zawartości 10—20 ml pożywki, co daje 5—10% stężenie glukozy). Postępując w ten sposób zapewniamy w podłożu 2,5% stężenie badanej glukozy, a więc takie, które nie będzie oddziaływało hamująco na wzrost ewentualnie obecnych tam beztlenowych laseczek przetrwalnikujących *(Cl. pasteurianum)*.

Wnioski

1. Glukoza krystalicza używana do sporządzania solanek peklujących w zakładach mięsnych może być w znacznym stopniu zanieczyszczona laseczkami *Clostridium pasteurianum* i powodować następnie wtórne zanieczyszczenie mięsnych produktów peklowanych.

2. Metoda oznaczania beztlenowych laseczek przetrwalnikujących zgodnie z PN-83/A-82054 „Mięso i przetwory mięsne. Badania bakteriologiczne" nie pozwala na wyosobnienie *Cl. pasteurianum*, ponieważ zalecane tą normą podłoża stałe nie zapewniają odpowiednich warunków do wzrostu drobnoustrojów.

3. Stężenie glukozy w pożywce Wrzoska wyższe niż 2,5% oddziaływuje hamująco na wzrost szczepów *Cl. pasteurianum*.

4. Spośród testowanych podłoży stałych do izolowania *Cl. pasteurianum* z glukozy Agar Brucella (Oxoid) wzbogacony 10% dodatkiem krwi końskiej zapewnia optymalne warunki wzrostu tego drobnoustroju.

Piśmiennictwo

1. Burgey's Manual of Dterminative Bacteriology. The Williams and Wilkins, Baltimore/London 1974.
2. *Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.*: Mikrobiologia żywności. PZWL, Warszawa 1983.
3. *Kwiatek K., Wojtoń B.*: Życie wet. 59, 56, 1984.
4. *Kwiatek K., Kojtoń B.*: Medycyna Wet. 44, 629, 1988.
5. PN-74/A-74771 Przetwory skrobiowe. Glukoza krystaliczna.
6. PN-84/A-82054 Mięso i przewory mięsne. Badania bakteriologiczne.
7. *Zaleski S.*: Mikrobiologia żywności pochodzenia zwierzęcego. PWN, Warszawa 1985.

Adres autora: dr Krzysztof Kwiatek, ul. Kołłątaja 3/15 24-100 Puławy

Квятек К. — **Оценка бактериологического состояния глюкозы, применяемой в засолке мяса**

Цель исследований состояла в определении уровня загрязнения глюкозы, употребляемой для засолки мяса, бактериальной аэробной и анаэробной микрофлорой. Кроме того, исследовалось влияние разных концентраций глюкозы в питательной среде Вжосека на рост изолированных из иследуемого материала штаммов анаэробов из рода Clostridium. В общем исследовано 20 проб глюкозы из разных производственных партий. Показано, что полное число мезофильных бактерий и число аэробных спорулирующих бактерий в исследуемых пробах не превышали 100 cfu/г. Анаэробные спорулирующие палочки отмечено в 100% исследуемых проб в титре 1—0,01. Культурные и биохимические тесты проведенные с изолированными штаммами анаэробов, позволили классифицировать их к виду Cl. pasteurianum. Установлено, что концентрация глюкозы в среде Вжосека выше 2,5% тормозила рост изолированных штаммов Cl. pasteurianum. Среди разных агаровых сред, употребяемых для изолирования Cl. pasteurianum, наиболее соответствующей оказалась среда Brucella Agar с добавкой 10% лошадной крови.

Kwiatek K. — **Bacteriological evalution of glucose used for meat curing**

The purpose of the study was to determine the bacteriological state of glucose contamination, used for meat curing, by aerobic and anaerobic bacteria. Moreover, the influence of different glucose concentrations in Wrzosk's broth on the growth of Clostridium strains isolated from glucose was investigated. Overall 10 samples of glucose originated from various production lots was examined. It has been shown that total plate count of mesophilic bacteria and plate count of sporulated aerobic bacteria in the examined samples did not exceed 100 cfu/g. The prevalence of anaerobic spore-forming bacteria was confirmed in 100% samples in the titre ranging from 1 to 0.01. Cultural and biochemical tests allowed to classify all the isolated strains to the species Cl. pasteurianum. It has been proved that glucose concentrations higher than 2.5% have had inhibitory effect on the growth of isolated strains of Cl. pasteurianum in Wrzosk's broth. Among different agar media used for isolation of Cl. pasteurianum the most suitable was Brucella Agar supplemented with 10% horse blood.