

WANDA SZCZEPUŁA

ZASTOSOWANIE PODŁOŻA Z CHLORKIEM TRÓJFENYLOTETRAZOLU DO OZNACZANIA MIANA COLI W LODACH PASTERYZOWANYCH

Z Katedry Botaniki Politechniki Gdańskiej

W pracy niniejszej autorka przedstawiła metody oznaczania miana coli w lodach pasteryzowanych „Calypso” przy zastosowaniu trzech podłoży wybiórczych, uzasadniając szczególną przydatność podłoża z chlorkiem trójfenylotetrazolu (TTC) do tego celu.

Pasteryzowane artykuły żywnościowe powinny cechować się, poza niezmiennymi wartościami odżywczymi i smakowymi, nieobecnością bakterii chorobotwórczych, niewysoką ogólną ilością drobnoustrojów i ściśle oznaczonym dla danego artykułu mianem coli.

Wielkości te zostały dla większości artykułów żywnościowych ujęte w formie norm, które są podstawą do przeprowadzenia badań kontrolnych przed dopuszczeniem danego produktu do obrotu handlowego lub do spożycia.

Podstawowym miernikiem higieniczno-sanitarnym produktów pasteryzowanych jest ilościowe oznaczenie bakterii z grupy pałeczek, okrężnicy, tj. miana coli. Obecność bakterii z grupy *Escherichia coli* w ilościach ponadnormatywnych jest dowodem niewłaściwie przeprowadzonej pasteryzacji lub reinfekcji podczas obróbki technologicznej produktu. Stąd też odpowiednio dobrane i czułe metody oznaczania drobnoustrojów posiadają doniosłe znaczenie zarówno ze względów sanitarnych, jak i ekonomicznych.

W przedstawionej pracy podjęto próbę oznaczania miana coli w lodach „Calypso” przy zastosowaniu trzech podłoży wybiórczych, tj. podłoża wg *Kesslera-Swenartona*, podłoża z trypaflawiną i bulionu z chlorkiem trójfenylotetrazolu (TTC). Brak danych w piśmiennictwie w odniesieniu do zastosowania pożywki TTC do lodów, a wprowadzenie jej do Polskiej Normy też przyczyniły się do decyzji podjęcia tego tematu.

Monograficzne opracowanie zagadnienia stosowania chlorku trójfenylotetrazolu podane przez *Anczykowskiego* (1) wskazuje na przydatność tego podłoża w diagnostyce bakteriologicznej. Przebieg reakcji w pożywce z TTC można schematycznie przedstawić następująco: chlorek trójfenylotetrazolu w stanie utlenionym jest bezbarwny, a dodany do podłoża ulega redukcji przy udziale żywych komórek bakteryjnych lub enzymatycznych układów redukcyjnych i przechodzi w nierozpuszczalny czerwonowiśniowy formazen. Zjawisku towarzyszy czerwone zabarwienie podłoża o różnym stopniu intensywności.

Prace Schönberga (2) w zakresie praktycznego stosowania chlorku trójfenylotetrazolu (TTC) przy oznaczaniu miana coli w mleku wydają się wskazywać na celowość stosowania go także w badaniach innych środków żywności.

Gałuszka (3), porównując pożywkę TTC z podłożem według Kesslera — Swenartona w badaniach mleka potwierdza wyniki otrzymane przez Schönberga.

MATERIAŁY I METODY

Do badań użyto lody „Calypso” produkowane w chłodni składowej w Gdańsku. Lody te nie zawierają w swym składzie dodatku jaj. Nowoczesne urządzenia wytwórni dają produkt o nieznacznym zakażeniu (w 90% przebadanych próbek ogólna liczba drobnoustrojów nie przekraczała 1000 w 1 ml).

Mieszanka lodowa poddawana jest pasteryzacji w pasteryzatorach mieszadłowych w temperaturze 79 — 80° przez 1 minutę, a czas osiągnięcia tej temperatury wynosi 45 — 50 minut.

Do naturalnie kwaśnego, wyjałowionego bulionu dodać na każde 100 ml 11 ml 2% -roztworu chlorku trójfenylotetrazolu i rozlać jałowo po 5 ml do próbek. Przechowywać w lodówce, gdyż jest wrażliwy na światło i temperaturę. Temperatura inkubacji 37°.

Stosowane podłoża.

1. Pożywka z trypaflawiną

Pepton tryptose	5 g
NaCl	5 g
Laktoza	10 g
2% roztwór wodny trypaflawiny	0,5 ml
Woda destylowana	1000 ml
pH =	7,2
Sterylizować w 117° przez 20 minut.	

2. Podłoże Kesslera — Swenartona

Pepton	10 g
Laktoza	2,5 g
Żółt wołowa	50 g
4% wodny roztwór gencjany	1 ml
Woda wodociągowa	1000 ml
pH =	7,2
Sterylizować w 117° przez 20 minut.	

3. Podłoże z chlorkiem trójfenylotetrazolu

Woda	1000 ml
Pepton	10 g
NaCl	5 g
2% roztworu TTC	110 ml

Czas inkubacji dla podłoża Kesslera-Swenartona oraz podłoża z trypaflawiną wynosił 48 godzin, a dla podłoża TTC — 18 godzin.

Wykonano 216 porównawczych oznaczeń na trzech wyżej podanych podłożach. Posiewy wykonano z mieszanki lodowej bezpośrednio po pasteryzacji oraz z lodów po ich zamrożeniu. Ponieważ lody „Calypso”

cechuje bardzo niskie zakażenie, do części prób wprowadzono kultury *E. coli* przed wysiewem na pożywki.

Wyniki
oznaczeń miana *E. coli* w próbkach lodów „Calypso”

Lp.	Rodzaj próbek	Ilość próbek	Miano coli		
			Pożywka TTC	Pożywka wg Kesslera-Swenartona	Pożywka z trypaflawiną
1	Mieszanka lodowa po pasteryzacji	30	1	1	1
2	Lody	120	0,1	0,1	0,1
3	Lody	11	0,01	0,01	0,01
4	Lody zakażone kulturą <i>E. coli</i>	54	od 0,01 do 0,0001	od 0,01 do 0,0001	od 0,01 do 0,0001
5	Lody zakażone kulturą <i>E. coli</i>	1	0,0001	0,001	0,001

W każdym rozcieńczeniu stosowano wysiew do 5 próbówek.

Ad. Lp. 3

11 próbek o mianie coli 0,01 pochodziło z jednej partii lodów.

Ad. Lp. 5

W jednym przypadku stwierdzono wyższy stopień zakażenia w podłożu TTC, aniżeli w podłożach porównawczych. Przesiew na pożywkę Endo z rozcieńczenia 0,0001 podłoża TTC nie potwierdził obecności *E. coli*. Nie brano pod uwagę wyników, które mieszczą się w granicach błędu metody (np. 1 próbówka na 5 wysiewanych powtórzeń).

WNIOSKI

Pożywka TTC może skutecznie być stosowana do określania miana coli w lodach pasteryzowanych, bezjajowych, w których ogólna ilość drobnoustrojów jest bardzo niska, więc wpływ flory towarzyszącej na wynik dodatni w TTC jest znikomy. Nie było przypadku, aby dodatni wynik miana coli na pożywce Kesslera-Swenartona, czy pożywce z trypaflawiną nie pokrywał się z wynikiem na TTC.

Wyższość stosowania tej pożywki leży w krótszym czasie inkubacji, tj. 18 godzin od chwili wysiewu. Rzadki przypadek (1 na 216 próbek) określenia dodatniego miana coli w 0,01 ml na pożywce TTC nie przedłużył w końcowym efekcie czasu badania w odniesieniu do badań porównawczych, ponieważ przesiew na Endo po 24 godzinach dał wynik ujemny.

Dodatnią cechą ułatwiającą odczyty wyników na pożywce z chlorkiem trójfenylotetrazolu jest zróżnicowanie intensywności zabarwienia. Im mniejsze zakażenie, tym słabsza intensywność barwy pożywki.

В. Щ е п у л а

ПРИМЕНЕНИЕ СРЕДЫ С ХЛОРИСТЫМ ТРИФЕНИЛТЕТРАЗОЛОМ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ COLI В ПАСТЕРИЗОВАННОМ МОРОЖЕННОМ

Содержание

Автор рекомендует при исследовании мороженого применять среду Т.Т.С. (Т.Ц.Ц.) для определения coli при условии, что продукты взятые для приготовления мороженого были пастеризованы и не содержали яиц.

В случае большого количества микроорганизмов определение coli будет почти невозможным.

Достоинством рекомендованной среды является короткий срок инкубации.

W. Szczepuła

THE USE OF TTC MEDIUM FOR COLI INDEX ESTIMATION IN ICE CREAM

Summary

TTC medium was applied for coli index estimation in ice cream. The medium is advised for ice cream prepared from pasteurized raw materials and without eggs, otherwise great total number of bacteria interferes with estimation. Shorter time of incubation (18 hours) is the main advantage of advised medium.

PIŚMIENNICTWO

1. *Anczykowski F.*: Medycyna weterynaryjna, 9, 588, 1959. — 2. *Gałuszka J.*: Medycyna weterynaryjna, 9, 573, 1959. — 3. *Schönenberg F.*: Archiv. für Hygiene und Bacteriologie, 138, 583, 1954.

Errata

W artykule W. Bartnickiej: „Aktualne poglądy na rolę fluoru w etiopatogenezie próchnicy oraz przypuszczalny jego wpływ na inne schorzenia ustroju” na str. 503 wiersz 13 od dołu jest „etiogenezy” — powinno być: „etiopatogenezy”, na str. 506, wiersz 8 od góry jest: „wapnionymi” — powinno być: „wapniowymi”, na str. 506, wiersz 21 od góry po słowie: „magnezowego” opuszczono słowo: „zależy”, na str. 507 wiersz 24 od góry po słowie: „w przypadkach” — opuszczono słowo: „poważnego”.