

ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ  
И И МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

53

th EUROPEAN CONGRESS  
OF MEAT RESEARCH INSTITUTES

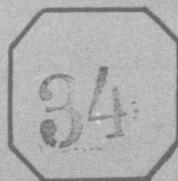
ter EUROPÄISCHER KONGRESS  
DER FLEISCHFORSCHUNGSINSTITUTE

ème CONGRES EUROPEEN  
DES INSTITUTS DE RECHERCHES  
SUR LES VIANDES

W.P. Bogorodizkaja,  
W.Sch. Moissejenko

DIE METHODEN ZUR BESTIMMUNG  
VON REST-CHLORTETRACYKLIN UND  
-NISTATIN IM MUSKELGEWEBE DES  
FLEISCHES

.N



МОСКВА 1962г.

332

DIE METHODEN ZUR BESTIMMUNG  
VON REST=CHLORTETRACYKLIN UND =NISTATIN IM MUSKEL-  
GEWEBE DES FLEISCHES

Kand. Med. Wis. W.P. Bogorodizkaja -  
- das Ernährungsinstitut der Akademie der medizinischen Wissenschaften, UdSSR,  
Ob. wis. Arb. W. Sch. Moissejenko -  
- das Allunions-Forschungsinstitut der Fleischwirtschaft UdSSR

Zur endgültigen Entscheidung der Antibiotika-Anwendbarkeit für die Praxis zur Verlängerung der Haltbarkeit von gekühltem Fleisch ist es erforderlich zu wissen, ob dieselben im Rohfleisch nach der Behandlung und Lagerung zurückbleiben.

Zum Nachweis der Restmengen von Antibiotika erschien es erforderlich, die Bestimmungsmethoden dazu zu entwickeln.

Die Restmengen von Chlortetracyclin im Fleisch wurden durch die Diffusion in Agar (I) bestimmt; diese Methode wurde gewöhnlich zur Bestimmung von Rest-Chlortetracyclin im Fleischgewebe und -haut angewendet (2,3). Die Empfindlichkeit der Methode ermöglichte es, bis zu 0,1% Chlortetracyclin je 1 g Fisch-Muskelgewebe nachzuweisen.

Es wurden unterschiedliche Verhältnisse geprüft, die die Empfindlichkeit dieser Methode, was das Fleisch-Muskelgewebe anbetrifft, beeinflussen könnten. Dabei bedienten wir uns des sogenannten Verfahrens "der Vertiefungen und Zylinder".

Antibiotikabindung stehengelassen. Anschließend wird jede Probe, wie oben angegeben, mit citratsalzsaurem Puffer extrahiert und im Filtrat nach den Zonendurchmesser-Werten, die auf das halblogarithmische Netz aufgetragen und verbunden eine Kurve ergeben, die Anwesenheit von Antibiotika bestimmt. So wird die Chlortetracyclin-Menge im Muskelgewebe des Fleisches (in  $\gamma/g$ ) bestimmt.

Die Empfindlichkeit der beschriebenen Methode liegt bei Chlortetracyclin-Bestimmung in "reinen" Lösungen (Pufferlösungen) unter  $0,03 \gamma/ml$ , während sie im Fleisch-Muskelgewebe  $0,1 \gamma/g$  ist.

Zur Bestimmung von Nistatin-Restmengen im Fleisch-Muskelgewebe wurde dieselbe Methode der Diffusion in Agar und das Verfahren "der Vertiefungen" angewendet. Da Nistatin ein spezifisches antikandidliches Präparat ist, wurden zur Auswahl einer besonders empfindlichen Test-Kultur 12 verschiedene Stammarten der Gattung Candida geprüft, darunter zeigten Candida parapsilosis (aus dem Mikrobiologischen Institut der Akademie der Wissenschaften UdSSR) und Saccharomyces cerevisiae ATCC Nr. 9763 (aus dem Museum der Lebendkulturen des Institutes für Seren und Vakzinen namens Tarassewitsch) die größte Empfindlichkeit.

Ferner wurde mit diesen zwei Stämmen auf dem vom Allunions-Forschungsinstitut der Antibiotika empfohlenen Hefenährboden gearbeitet.

Zur Nistatinextrahierung aus Fleisch-Muskelgewebe wurde der Phosphatpuffer (pH von 6,8 bis 7,0) benutzt.

Die Art der Test-Kulturen-Inokulation, Keimgehalt, Temperatur und Dauer der Inkubation, Muskelgewebe-Präparie-

Die Untersuchungen ergaben, daß das Verfahren der Vertiefungen zu diesem Zweck am meisten geeignet ist. Dabei erwies sich das genannte Verfahren mit Fleischsaftagar als Nährboden, bei Oberflächen-Inokulation mit Testkulturen  $L_2$  (Typ B subtilis) und *Cereus* 7 (0,5 Mrd./ml (Suspension) und Inkubation bei  $28^{\circ}\text{C}$  während 16-18 Stunden am empfindlichsten.

Zur Extrahierung von Chlortetracyclin aus Fleischmuskulgewebe wurde der citratsalzsaure Puffer (pH von 4,6 bis 4,8) benutzt.

Zur Bestimmung der Restmengen von Chlortetracyclin werden die antibiotikabehandelten Fleischproben zunächst zerkleinert und danach werden die Einwagen zu je 40 g genommen. Die Fleischeinwagen werden in chemische Gläser übertragen, mit citratsalzsaurem Puffer im Verhältnis 1:3 übergossen und sorgfältig gemischt, dann wird der Glasinhalt in einen Homogenisator übertragen. Das so erhaltene homogene Gemisch wird durch das Filterpapier filtriert.

Je 0,1 ml des Filtrats werden in die Vertiefung einpipetiert, die in dem mit der Test-Kultur inokulierten Fleischsaftagar (in der Petri-Schale) ausgeschnitten wird.

Nach der Inkubation werden die Zonendurchmesser, wo das Keimwachstum gehemmt wird, gemessen und mit Hilfe der Eichkurve die Restmenge von Chlortetracyclin in der Probe bestimmt.

Die Eichkurve zur Chlortetracyclin-Bestimmung wird folgenderweise aufgestellt.

Zu einigen Proben (je 40 g) von zerkleinertem Fleischmuskulgewebe (antibiotikaunbehandelt) setzt man Antibiotikawasserlösung hinzu so, daß 1 g Fleisch 5; 2,5; 1; 0,5; 0,25; 0,125 Chlortetracyclin enthält. Danach wird sorgfältig gemischt und die Proben werden auf 24 Stunden bei  $3 - 4^{\circ}\text{C}$  zur

Antibiotikabindung stehengelassen. Anschließend wird jede Probe, wie oben angegeben, mit citratsalzsaurem Puffer extrahiert und im Filtrat nach den Zonendurchmesser-Werten, die auf das halblogarithmische Netz aufgetragen und verbunden eine Kurve ergeben, die Anwesenheit von Antibiotika bestimmt. So wird die Chlortetracyclin-Menge im Muskelgewebe des Fleisches (in  $\gamma/g$ ) bestimmt.

Die Empfindlichkeit der beschriebenen Methode liegt bei Chlortetracyclin-Bestimmung in "reinen" Lösungen (Pufferlösungen) unter  $0,03 \gamma/ml$ , während sie im Fleisch-Muskelgewebe  $0,1 \gamma/g$  ist.

Zur Bestimmung von Nistatin-Restmengen im Fleisch-Muskelgewebe wurde dieselbe Methode der Diffusion in Agar und das Verfahren "der Vertiefungen" angewendet. Da Nistatin ein spezifisches antikandidliches Präparat ist, wurden zur Auswahl einer besonders empfindlichen Test-Kultur 12 verschiedene Stammarten der Gattung Candida geprüft, darunter zeigten Candida parapsilosis (aus dem Mikrobiologischen Institut der Akademie der Wissenschaften UdSSR) und Saccharomyces cerevisiae ATCC Nr. 9763 (aus dem Museum der Lebendkulturen des Institutes für Seren und Vakzinen namens Tarassewitsch) die größte Empfindlichkeit.

Ferner wurde mit diesen zwei Stämmen auf dem vom Allunions-Forschungsinstitut der Antibiotika empfohlenen Hefenährboden gearbeitet.

Zur Nistatinextrahierung aus Fleisch-Muskelgewebe wurde der Phosphatpuffer (pH von 6,8 bis 7,0) benutzt.

Die Art der Test-Kulturen-Inokulation, Keimgehalt, Temperatur und Dauer der Inkubation, Muskelgewebe-Präparie-

ren und Filtrat-Gewinnung bleiben dieselben (wie auch bei Chlortetracyclin-Bestimmung).

Die Empfindlichkeit der Methode liegt bei 40 - 60  $\gamma$ /g für Muskelgewebe und - 0,5 - 1,0  $\gamma$ /ml für reine Lösungen.

Nach der Überprüfung der Methoden gingen wir zur Bestimmung der Antibiotika-Restmengen im Fleisch über.

Das Fleisch wurde mit Antibiotika unter Betriebsverhältnissen behandelt. Dabei wurde die vom Allunions-Forschungsinstitut der Fleischwirtschaft entwickelte Methodik angewendet (4,5), Die Hälftenoberflächen wurden mit einer Lösung, die 100 mg Chlortetracyclin und 200 mg Nistatin pro 1 l Wasser enthält, bespritzt.

Die Antibiotika-Bestimmung wurde an der Oberfläche, in der von der Oberfläche auf 0,5 cm abstehenden Schicht und in den beim Fleischkochen gewonnenen Brühen vorgenommen.

Die Chlortetracyclin-Reste wurden nur an der Oberfläche des rohen Fleisches nachgewiesen. In der Tiefe von 0,5 cm im Rohfleisch sowie im gekochten Fleisch und in den Brühen wurde kein Chlortetracyclin nachgewiesen.

Der Chlortetracyclingehalt an der Oberfläche des Rohfleisches schwankte von 0,32 bis 10  $\gamma$ /g, je nach der Bestimmungszeit und dem Hälfteteil.

Nistatin wurde weder in der Oberflächenschicht des rohen und gekochten Fleisches noch im Fleischinneren (0,5 cm) nachgewiesen.

Um den Einfluß von einigen Faktoren (die Dauer des Kontakts zwischen Antibiotika und Fleisch, die Dauer der Fleischlagerung nach der Behandlung, Lichteinwirkung) auf die Nistatininaktivierung in dem unter den Betriebsverhältnissen bearbeiteten Fleisch auszuschließen, wurde das im Laboratorium behandelte Fleisch

auf die Antibiotika untersucht.

Kleine Fleischstücke wurden auf eine Minute in die Chlor-tetracyclin- und Nistatinlösung eingetaucht. Die Lösungskonzentration war bei der Betriebs- und Laborbehandlung gleich. Der Nistatingehalt wurde nach zwei-drei Stunden nach der Behandlung bestimmt. In der Oberflächenschicht wurde von 48,0 bis 82,0% Nistatin mit der Test-Kultur *C. parapsilosis* und von 40,0 bis 52,0% Nistatin mit der Test-Kultur *Saccharomyces cerevisiae* pro 1 g Rohfleisch nachgewiesen.

Die Untersuchungen ergaben, das die Dauer des Antibiotika-kontaktes mit dem Fleisch-Muskelgewebe im Rahmen des Versuchs (24 Stunden) den Antibiotikagehalt nicht beeinflusst, falls das Fleisch im Dunkeln aufbewahrt wurde; dabei wurden in allen Fällen die Restmengen in der Oberflächenschicht des Rohfleisches festgestellt. In dem bei Licht gelagerten Fleisch wurde kein Nistatin festgestellt, da es vom Licht zerstört wird.

Da aber nicht nur das Oberflächenfleisch gegessen wird, wurde die Chlortetracyclin-Bestimmung in der sogenannten Mittelprobe, die aus zerkleinertem Oberflächen- und Innerenfleisch besteht, durchgeführt. Von der unter Betriebsverhältnissen behandelten Hälften wurden 3,5 - 4 cm dicke Stücke zu je 500 g ausgeschnitten. Jedes Stück wurde in zwei geteilt: ein Teil diente zur Vorbereitung der "Mittelprobe", während der andere zur Chlortetracyclin-Bestimmung auf der Oberfläche und im Kern (appart) ausgenützt wurde.

Nach sorgfältigem Durchmischen wurden 3 Proben zu je 40 g zur Chlortetracyclin-Bestimmung in der Mittelprobe des rohen, gekochten und gebratenen Fleisches (die Koteletts wurden 15 Min. gebraten und die Frikadellen - 15 Min im kochenden Wasser gegart) genommen.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefaßt. Aus diesen Angaben ist es ersichtlich, daß an der Oberfläche in allen Fällen von 0,45 bis 7,10  $\gamma$ /g Chlortetracyclin je 1 g Rohfleisch nachgewiesen wird. Im Fleischinneren wurde kein Chlortetracyclin nachgewiesen.

In der "Mittelprobe" betrug die Antibiotikmenge von 0,0 bis 1,10  $\gamma$ /g. Im gebratenen und gekochten Fleisch sowie in Brühen wurde in keinem Fall Chlortetracyclin gefunden.

#### SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Die vorgeschlagenen Methoden zur Chlortetracyclin- und Nistatinbestimmung ermöglichen es, im Muskelgewebe bis 0,1  $\gamma$  Chlortetracyclin und bis 40 - 60  $\gamma$  Nistatin pro 1 g Fleisch nachzuweisen.

2. Chlortetracyclin wird nur an der Rohfleisch-Oberfläche gefunden, wobei dessen Menge von 0,32 bis 10,0  $\gamma$ /g betrug. In der Mittelprobe betrug die Chlortetracyclin Menge von 0,0 bis 1,10  $\gamma$ /g. Nach der Wärmebehandlung wurde im Fleisch kein Chlortetracyclin gefunden.

3. In dem unter den Betriebsverhältnissen behandelten Fleisch wird Nistatin weder an der Oberfläche noch im Inneren des röhren und gekochten Fleisches festgestellt.

4. Das für den Handel bestimmte Fleisch soll kein Nistatin enthalten. Die Chlortetracyclin-Menge soll in der Mittelprobe nicht über 0,5  $\gamma$ /g sein.

5. Die zubereiteten Speisen sollen kein Chlortetracyclin und Nistatin enthalten.

Die Chlorotetracyclin-Menge im Rohfleisch und nach dessen  
Wärmebehandlung (in  $\gamma/g$ )

335

Probe- nummer	Rohfleisch				Wärmebehandeltes Fleisch ("Mittelprobe")									
	Ober- fläche	Fleisch- kern	"Mittel- probe"	gekochtes	Brühe	gebrate- nes	L <sub>2</sub>	Cere- us 7						
1	7,10	3,0	0	0	0,55	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1,55	0,91	0	0	0,46	0,55	0	0	0	0	0	0	0	0
3	6,75	6,10	0	0	0,35	0,20	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,65	0,45	0	0	0,65	0,55	0	0	0	0	0	0	0	0
5	4,70	1,55	0	0	1,10	0,40	0	0	0	0	0	0	0	0
6	1,40	0,78	0	0	0,60	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0
7	1,20	1,00	0	0	0,23	0,12	0	0	0	0	0	0	0	0
8	2,60	2,20	0	0	0,30	0,56	0	0	0	0	0	0	0	0
9	3,00	4,00	0	0	0,22	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0,91	1,85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anmerkung:

Die Proben I-5 wurden 24Stunden nach der  
Antibiotikabehandlung, die Proben 6-5 - 48  
Stunden nach der Antibiotikabehandlung unter-  
sucht.

Literatur

1. Grove, D.u. Rendall, В. Руководство по лабораторным методам исследования антибиотиков, Медгиз, 1958  
/Übersetzung aus dem Englischen./
2. Дуброва Г.Б. Применение антибиотиков для сохранения пищевых продуктов, Госторгиздат, 1961.
3. дуброва Г.Б. Применение антибиотиков для сохранения пищевых продуктов, Госторг издат, 1961.
4. Дыклоп В.К. Использование антибиотиков для удлинения сроков хранения мяса, БТИ ВНИИМП, 1959.
5. Красикова В.И. и др. Тезисы докладов на УП научной сессии Института питания АМН СССР, 1960.

