

Die Wirkung des Natriummetabisulfits in Verbindung mit Schwefel-, Salz -oder Ameisensäure auf Einige bakterien und Virusstämme

J. VRCHLABSKY

Forschungsinstitut für Fleischwirtschaft
Brno, ČSSR

Die konservierende Wirkung des Natriummetabisulfits — $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ — beruht auf der Abspaltung von Schwefeldioxyd — SO_2 . Nach GEHMAN und OSMAN (1) wirkt SO_2 in gasförmigem Zustand bakterizid und bakteriostatisch auf verschiedene Mikroorganismen, weniger auf Hefepilze, wogegen Schimmelpilze relativ resistent sind. Nach JOSLYN und BRAVERMAN (1) wirkt SO_2 konservierend bloss unter säureenthaltenden Bedingungen, wenn nach DAKIN und STOLK (2) und SCHELLHORN (9) der optimale pH — Wert 3,3 beträgt. Nach HIRSH (4) ist die 0,5 % Konzentration des SO_2 gleichzeitig optimal und maximal. In der Fleischindustrie verwendete man früher Sulfite- und Metabisulfitsalze zum Pökeln, in neuerer Zeit haben KIDNEY (5) und DYETT und SHELLEY (3) die Anwendung von Kaliummetabisulfid zum konservieren von Fleischerzeugnissen, wie z. B. von Mettwürsten u.a., empfohlen. Ausserdem verwendet man Metabisulfitsalze zum konservieren von Schlachtfleischabfällen (LIBERMAN — 6) und technischem Blut (NEHRING u. SCHRÖDER — 7, VRCHLABSKÝ — 10). RÖSSGER u. SCHRÖDER (8) haben bewiesen, dass die Kombination von 0,5 % $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ und 1,25 % H_2SO_4 auf die Mikroorganismen der Gruppe Salmonella, Erysipelothrix insidiosa und Mycobacterium tuberculosis bakterizid wirkt.

MATERIAL UND METHODIK

(1) 20 ml sterilen Rindblutserums aus Bioveta Ivanovice in der Haná haben wir mit 0,5 ml gut gewachsener, 24 bis 48 Stunden alter Bouillonkultur, und zwar

- | | |
|----------------------------|-----------|
| 1. Salmonella choleraesuis | SVÚ Brno |
| 2. Salmonella typhimurium | SVÚ Brno |
| 3. Pasteurella multocida | CAPM 5416 |
| 4. Brucella suis | CAPM 5432 |
| 5. Staphylococcus aureus | CAPM 5654 |

- | | |
|------------------------------------|-----------|
| 6. <i>Streptococcus agalactiae</i> | CAPM 5154 |
| 7. <i>Listeria monocytogenes</i> | CAPM 5576 |
| 8. <i>Erysipelothrix insidiosa</i> | CAPM 5404 |
| 9. <i>Bacillus subtilis</i> | CAPM 5517 |
| 10. <i>Bacillus cereus</i> | CAPM 5631 |
| 11. <i>Clostridium septicum</i> | CCM 2042 |

infiziert. Danach haben wir folgende Konservierungsmittel, d.h.

1. 1,0 % Natriummetabisulfit mit 1,25 % Schwefelsäure (0,25 N)
2. 1,0 % Natriummetabisulfit mit 0,88 % Salzsäure (0,25 N)
3. 1,0 % Natriummetabisulfit mit 1,15 % Ameisensäure (0,25 N)

zugefügt. Diese Säuren haben wir als 20 % Lösung benutzt, der pH-Wert des Blutserums erreichte dann nach Zugabe dieser Konservierungsmittel die Grenze von 3,3. Diese Konservierungsmittel liessen wir 48 und 96 Stunden wirken, nachher wurde jedes einzelne Probestück dieses infizierten und konservierten Blutserums mit 180 ml Fleischpeptonbouillon (oder regeneriertem Leberbouillon) übergossen. Den pH-Wert des Bouillons haben wir schon vorher so zubereitet, um einen End-pH-Wert von 7,2 im ganzen Medium zu erhalten. Die Reinkultivierung auf feste Nährböden haben wir erst nach 24 und 48-stündiger Inkubation bei 37° C durchgeführt.

(2) Auf ähnliche Weise experimentierten wir mit dem *Mycobacterium bovis* — Stamm Nr. 139/67 und *Mycobacterium avium* — Stamm Nr. LP 63/67 aus der Sammlung der Staats-Veterinäranstalt in Brünn. 20 ml sterilen Pferdeblutserums haben wir entweder mit 3,92 mg *Mycobacterium bovis* — Kultur oder 3,07 mg *Mycobacterium avium* — Kultur infiziert und abermals mit Natriummetabisulfit, Schwefel- oder Salz- oder Ameisensäure-konserviert. Wir liessen diese Konservierungsmittel 48 Stunden wirken, worauf wir die intrainquinale Infektion an Meerschweinchen durchgeführt haben. Ausserdem haben wir von jeder Probe und jeder Kontrollprobe eine Kultivierung auf 4 feste Nährböden nach PETRAGNANI und 2 flüssige Nährböden nach ŠULA vorgenommen. Die mit Kontrollproben infizierten Meerschweinchen wurden nach 6 Wochen, andere nach 8 Wochen, getötet und seziiert, die Nährböden wurden nach einer Inkubation von 8 Wochen bei 37° C bewertet.

(3) Den Morbus Aujeszky — Virus CAPM V — 95 haben wir auf einem Kaninchen vermehrt. Aus seinem Gehirn und Lunge haben wir eine 20 %-ige Suspension in sterilem Pferdeblutserum zubereitet. Nach kurzem Zentrifugieren haben wir 20 ml des Supernatants mit Natriummetabisulfit und den genannten Säuren konserviert und nach 24 — stündiger Auswirkung infiziert haben wir damit Kaninchen.

(4) 50 ml Blutes, welches wir mittels einer Herzpunktion des künstlich mit Schweinepestvirus infizierten Schweines gewonnen haben, konservierten wir mit 1,0 % Natriummetabisulfit und 0,88 % Salzsäure. LD des Blu-

tes war ungefähr $10^{-5.7}$ ml. Die beiden Konservierungsmittel liessen wir 24 Stunden wirken, wonach wir ein 36 Kilo schweres Schwein damit tief subcutan infiziert haben. Dieses Schwein beobachteten wir 14 Tage lang. Die Kontrolle der Infektiosität der gleichen Blutprobe verfolgten wir dann bei demselben Tier.

ERGEBNISSE

(1) Die Ergebnisse 1 t. Tabelle Nr. 1 bezeugen, dass 1,0 % des Natriummetabisulfits kombiniert mit 0,25 N Schwefel- oder Salz oder Ameisensäure markant bakterizid auf nichtsporenbildende Mikroorganismen wirkt, wogegen die Sporenbildner diese Konservierung überlebt haben. Natürlich wurde auch bei diesen Sporenbildnern im Vergleich zu den Kontrollen ein Wachstumsrückgang, d.h. die bakteriostatische Wirkung der Konservierungsmittel beobachtet.

Tabelle 1. Die 48- und 96- stündige Wirkung des $Na_2S_2O_5$ und H_2SO_4 oder HCl oder $HCOOH$ auf einige Mikroorganismenstämme

Stämme	$Na_2S_2O_5 + H_2SO_4$		$Na_2S_2O_5 + HCl$		$Na_2S_2O_5 + HCOOH$	
	48 St.	96 St.	48 St.	96 St.	48 St.	96 St.
Salmonella choleraesuis	—	—	—	—	—	—
Salmonella typhimurium	—	—	—	—	—	—
Pasteurella multocida	—	—	—	—	—	—
Brucella suis	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus aureus	—	—	—	—	—	—
Streptococcus agalactiae	—	—	—	—	—	—
Listeria monocytogenes	—	—	—	—	—	—
Erysipelothrix insidiosa	—	—	—	—	—	—
Bacillus subtilis	+++	+++	+++	+++	++	+++
Bacillus cereus	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Clostridium septicum	+++	+++	+++	+++	+	+++

Kontrolle der Reinigkeit: alle Kulturen rein.

Kontrolle des Wachstums: bei allen Kulturen typisch

Kontrolle der Sterilität der Nährböden und des Serums: steril

Kontrolle der Sterilität von Konservierungsmitteln: steril

Komm.:

— = kein Wachstum

+ = nicht mehr als 10 Kolonien

++ = nicht mehr als 50 Kolonien

+++ = nicht mehr als 100 Kolonien

++++ = mehr als 100 Kolonien

Tabelle 2. Die Wirkung der Konservierungsmittel auf *Mycobacterium tuberculosis*

	<i>Myco bovis</i>		<i>Myco avium</i>	
	Kultivation	Meerschw.	Kultivation	Meerschw.
Kontrollen	+	+	+	+
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 + \text{H}_2\text{SO}_4$	-	-	-	-
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 + \text{HCl}$	-	-	-	-
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 + \text{HCOOH}$...	-	-	-	-

Komm: + = positiv
- = negativ

(2) Laut Tabelle Nr. 2 wurde bewiesen, dass die genannten Konservierungsmittel markant bakterizid nach 48 Stunden auf den *Mycobacterium bovis*- und *Mycobacterium avium*- Stamm in sterilem Pferdeblutserums wirken, wobei die Kontrollen wie in biologischen, als auch in Kultivationsversuchen positiv waren.

(3) Auch bei diesem Versuch, d. h. mit Morbus-Aujeszký-Virus Stamm, war die Wirkung der Konservierungsmittel vollständig eindeutig. Nachdem das mit dem infizierten Serum geimpfte Kaninchen nach 72 Stunden typischer Krankheitssymptomen eingegangen ist, überlebten die mit infiziertem aber auch konserviertem Blutserum geimpfte Kaninchen die 14 Tage ohne Gesundheitsbeschwerden.

(4) Aus Tabelle Nr. 3 ist zu ersehen, dass die Konservierung des infizierten Blutes vom mit Schweinepest angesteckten Schwein wirksam war, die Konservierungsmittel wirkten virocid bereits nach 24 Stunden. Durch einen Kontrollversuch wurde festgestellt, dass das Versuchsschwein für die Schweinepest empfindlich war und dass das zum Versuch benützte Blut höchst infizierend war. Nachdem das Schwein nach der Applikation von konserviertem Blut im Laufe der 14-tägigen Beobachtungsdauer keine Veränderung seines Gesundheitszustandes aufwies und seine rektale Temperatur sich in normalen Grenzen bewegte, wurde bei demselben Schwein nach Applikation des infizierten Blutes ohne Konservierungsmittel unter typischen klinischen Symptomen und Temperaturanstieg nach der Schlachtung im subletalen Stadium am 6 Tag nach der Infizierung pathologisch-anatomisch die Schweinepest bestätigt.

DISKUSSION

Übereinstimmend mit den Ermittlungen von RÖSSGER und SCHRÖDER⁽⁸⁾ haben wir die bakterizide Wirkung des Natriummetabisulfits in Verbindung

Tabelle 3. Die Wirkung der Konservierungsmittel auf Schweinepestvirus — Temperaturmessungen

Tage post Infektion	Konserviertes Blut	Nichtkonserviertes Blut
Infektion	39,4	39,5
1	39,4	40,8
2	39,3	42,0
3	38,5	41,4
4	38,0	41,3
5	39,0	42,0
6	39,4	41,5 X
7	39,0	
8	38,7	
9	38,0	
10	38,6	
11	37,6	
12	37,8	
13	39,2	
14	39,4	

Komm.: X = Notschlachtung des Schweines

mit Säuren nicht nur an den Mikroorganismen der Gruppe Salmonella, Erysipelothrix insidiosa und Mycobacterium tuberculosis, sondern auch an einer ganzen Reihe von weiteren Mikroorganismen, d.h. Pasteurella multocida, Brucella suis, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae und Listeria monocytogenes, ermittelt. Soeben wie bei den genannten Autoren, bewährte sich auch bei uns die Schwefelsäure in der Konzentration von 1,25 %, d.i. 0,25 N. Ausserdem benützten wir bei unseren Versuchen mit sehr gutem Erfolg Salz- und Ameisensäure, wiederum in einer Konzentration von 0,25 N. Bezüglich des Natriummetabisulfits wäre unserer Meinung nach vorteilhafter die Konzentration von 1,0 %.

Wir haben jedoch festgestellt, dass die Konservierungsmittel auf die äroben — Bacillus subtilis und cereus —, als auch die anäroben — Clostridium septicum — Sporenbildner bakterizid nicht einwirken. Bei diesen Sporenbildnern war doch eine unbedeutung bakteriostatische Wirkung festzustellen.

Zuletzt haben wir unsere Versuche auch auf einige Viren übertragen und zwar auf den Virus Aujeszky Krankheit und den Virus der Schweinepest, wo wir eine bedeutende Virozidität der Konservierungsmittel schon nach 24 Stunden nach der Applikation feststellen konnten.

LITERATUR

- 1) Advances in food research. Vol. V, Academic Press Inc., Publisher New York, Nr. 4, 1954.
- 2) Dakin, J. C.: Monielle acetoabutans: Some further characteristics and industrial significance. J. Food. Technol., 3, 1968, 1, 49.
- 3) Dyett, E. J.: The effects of sulphite preservative in british fresh sausages. J. appl. Bact., 29, 1966 3 439.
- 4) Hirsch, P.: Chemische Konservierung von Lebensmitteln. Verlag Th. Steinkopff, Dresden, Leipzig 1952.
- 5) Kidney, A. J.: The role of sulphite in the preservation of meat products. 13th European Meeting of Meat Res. Workers, Rotterdam 1967.
- 6) Liberman, S.: Konservirovanije tehničeskovo syrja. Mjas. Ind. SSSR, 36, 1965, 2, 9.
- 7) Nehring, K. Schröder, I.: Untersuchung zur Konservierung von tierischen Abfallstoffen. Mnhft. Vet. Med., 15, 1960, 10, 324.
- 8) Rössger, M.: Untersuchungen über die Abtötung von bakteriellen Tierseuchenerregern im Schlachtierblut durch Zusatz von chemischen Konservierungsmitteln- insbesondere Kaliummetabisulfit und Schwefelsäure. Mnhft. Vet. Med., 15, 1960, 23, 835.
- 9) Schellhorn, M.: Untersuchungen über Konservierungsmittel. Ref.: Chem. Zentralblatt, 127,1956,3196.
- 10) Vrchlabsky, J.: Konzervace krve pyrosiřičitanem sodným, Prum. potr., 19, 1968, 11, 539.