

Adatok a grape-fruit (toronja, *Citrus paradisi* v. *Citrus decumanus*) mikroflórájáról

NIKODEMUSZ ISTVÁN, MARIA CARIDAD BRAVE Y
ALMAGUER DE ARGÜELLES ÉS MAGALIS FERNANDEZ
Y IBARGUREN

Kubai Tudományos Akadémia Élelmiszerkémiai Intézete és a Magyar Tudományos Akadémia
Kutató Csoportja, Havanna, Kuba

Érkezett: 1971. december 5.

Az utóbbi években Magyarországra rendszeresen importálnak déligyümölcsöket, ezek közül jelentős mennyiségben a Citrus család tagjait, pl. narancs, citrom, grape-fruit (toronja) stb. E tény egészségügyi szempontból fontos, mert ezen gyümölcsök behozatalával el lehet érni, hogy a lakosság télen is könnyen és olcsón gyümölcshöz jusson, másrésről viszont káros is lehet, mert a) lehetővé teszi egyes emberre kórokozó baktériumok behozatalát és b) lehetőséget teremt egyes növényi kórokozók elterjedésére az országon belül. Bár e két káros következmény valószínűsége nem nagy, mégis célszerű a behozott gyümölcsöket időnként mikrobiológiai vizsgálat alá vetni. Mivel a Citrus félék mikroflórájával foglalkozó hazai vizsgálatokról nem tudunk, célszerűnek tartjuk a grape-fruit mikrobiológiai vizsgálati adataink rövid ismertetését. A gyümölcsök mikroflórája [Ketter (1), *Ienistea* (2) nagyjából 3 csoportra osztható fel:

1. Természetes flóra. E csoportba azon mikrobák tartoznak, amelyek bizonyos növényeken állandóan jelenvannak s jelenlétük káros következménnyel nem jár.

2. Járulékos flóra. Ide azon mikrobák sorolhatók, amelyek nem fordulnak elő állandóan bizonyos növényeken, de jelenlétük általában nem jár káros következményekkel.

3. Idegen flóra. E fogalom alatt azon mikroorganizmusok értendők, amelyek a növényekre vagy csak ritkán, vagy mesterségesen kerülnek és okozhatnak káros elváltozásokat magán a növényen, valamint felelősek lehetnek a fogyasztók megbetegedéséért. (Növényi kórokozók, vagy emberi kórokozók.)

A Citrus félék belseje általában az erősen savi vegyhatás és illó olajok jelenléte miatt általában steril, azonban a héjuk erősen szennyezett. Mint általában a gyümölcsökön a mikroflóra jelentős részét élesztő- és penészgombák (Müller 3) alkotják.

Az elmúlt években alkalmunk nyílt Citrus gyümölcsök bakteriológiai vizsgálatára. Ezek jelentős részét a kubai fennhatóság alatt levő Isla de Pinos-on (a Fenyők Szigete) levő *André Voisin*-ről elnevezett gyümölcsösömböly üzemben végeztük. A vizsgálatok grape-fruit romlás miatt bekövetkező gazdasági kár megelőzése, ill. megakadályozása céljából voltak szükségesek.

Vizsgálati anyagok és módszerek: Vizsgálataink első részében a grape-fruit felületén található mikroorganizmusokat tanulmányoztuk. Erre a célra a gyümölcsök héjáról (általában 10 cm²-nek megfelelő felületről) steril, nedves vattapamponnal mintát vettünk s ezt a következő táptalajokra oltottuk le:

1. Sabouraud lemez (élesztő- és penészgombák részére)
2. Mc. Conkey táptalaj (bélbaktériumok és festékképzők részére)
3. 7,5% NaCl-tartalmú agarlemez (Spórások és Mikroococcusok számára)
4. Közönséges agarlemez (egyéb mikrobak részére)

A táptalajokat az esetek többségében 30–32 °C-nak megfelelő „szobahőmérsékleten” keltettük, néhány alkalommal sikerült Havannába való visszatázásunk után a bélbaktériumok és a Mikroococcusok tenyésztésére szolgáló táptalajokat pár órás előkeltetés után 37°-os termosztátba fenni. A kitenyészített baktériumok és gombák azonosítása már laboratóriumban történt morfológiai és biológiai sajátóságok alapján.

Vizsgálatokat végeztünk a gyümölcsök romlásáért felelős *Diplodia natalensis* gomba előfordulására vonatkozóan. Romlott és ép gyümölcsök, valamint esz-közökről készítettünk kenetet, ill. leoltottunk szintetikus táptalajra (4, 5, 6). Ez alkalommal elegendőnek tartottuk a *Diplodia* jelenlétének megállapítását, nem törekedtünk tiszta tenyészetek előállítására.

Tanulmányoztuk a grape-fruit felületén saválló baktériumok előfordulását Ziehl–Neelsen festéssel, ha szükséges volt, elvégeztük a minták vizsgálatát Gram-festéssel.

Eredmények: 200 gyümölcshéjminta minőségi vizsgálati adatait az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat

A grape-fruit (*Citrus paradisi*) héján előforduló mikroorganizmusok
(200 vizsgálat eredménye.)

Különböző mikrobak	Pozitív minták	%-os arány
Gombák (penészek stb.)	138	69
Élesztőgombák	83	41,5
Aerob spórás baktériumok	122	61
Festékképző baktériumok	44	22
Microococcusok	42	21
Bélbaktériumok	29	14,5
Clostridiumok	10	5
Más mikrobak (<i>Corynebakt.</i>)	4	2

A táblázatból látható, hogy a grape-fruit külső héján a leggyakrabban penészgombák voltak találhatóak, 138 mintából (69%) e gombák kinőttek, nemcsak Sabouraud, de más táptalajokon is; több táptalajon elnyomták, ill. túlnőtték a többi mikrobakat. E gombák azonosítása elsősorban telepek alapján történt; *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Bothritis* és pontosan nem azonosítható a *Fungi imperfecti* rendhez tartozó fajokat találtunk. Viszonylag gyakran észleltük *Penicillium glaucum* és *Aspergillus niger* jelenlétét, ezek nem fajlagosak a *Citrus* gyümölcsökre, sőt egyéb növényekre sem, mert mindenütt előfordulnak. Ugyancsak gyakori volt a *Rhizopus nigricans* species, amely különböző gyümölcsök romlását okozhatja a mérsékelt égövön, feltehetőleg hasonló a jelentősége a trópuson is [1].

Gyakoriság szempontjából a második helyen kell megemlíteni az aerob spórás baktériumokat, ezek 122 mintából (61%) voltak kimutathatók. Ezek közül a leginkább *B. megaterium*ot azonosítottunk, amelyek Kubában végzett vizsgálataink alapján (7) az élelmiszerekből leginkább kitenyészíthetők. Ezenkívül gyakori volt a *B. subtilis*, amely Magyarországon a spórások közül a leg-többször megtalálható (8). Találtunk ezenkívül *B. cereus*t, *B. pumilus*t, *B. mycoi*-dest, valamint átmeneti – biztosan egyik specieshez sem sorolható – fajokat.

A *Bacillus* genus tagjai, mint talajbaktériumok, bármilyen módon könnyen a gyümölcsök héjára kerülhettek, ottlétüknek káros jelentősége nem volt.

83 mintából élesztőgombákat tenyésztettünk ki (41,5%), ezek között *Candidákat*, *Torulákat*, *Rodotorulákat* és néhányszor *Saccharomyceseke*t azonosítottunk. Az élesztők a növénypatológia szempontjából fontosabbak, mint a spórások, mert több fajról, különösen a *Candidákról* tudott, hogy bizonyos gyümölcsök romlását előidézhetik. Mi az élesztőknek nem tulajdonítottunk fontosságot s véleményünk szerint ezek könnyebben leküzdhetők, mint a penészgombás fertőzések.

A fentemlített gyakrabban előforduló mikroorganizmusokon kívül, 44 mintában (22%) festékképző baktériumokat találtunk, ezek közül pontosan azonosítottunk *Pseudomonas herbigicola-t*, *Ps.fluorescens-t*, *Ps.aeruginosa-t* (*Ps.pyocyanea*) és *Serratia marcescens-t* (ez utóbbi ugyan festéket termel, de újabb taxonómiai adatok szerint a bélbaktériumok csoportjához van sorolva). E baktériumok vegyes eredetűek lehettek. A *Ps.aeruginosa* és a *Serratia marcescens* (*B.prodigiosus*) az emberi szaprofitákhoz tartoznak s jelenlétük élelmiszerekben, mint a fekális szennyeződés indikátora fogadható el, ettől függetlenül a külvilágban is életképesek, a *Ps.fluorescens* elsősorban vízbaktérium, de a *Ps.herbigicola* a növények saját flórájához tartozik (régebbi vizsgálataink során nagy számban találtuk e fajt fűszereken). A festékképzők jelenléte többféleképpen magyarázható, kóros elváltozásokért adott esetben nem lehetett azokat felelőssé tenni.

Micrococcusok 42 mintából (21%) voltak kimutathatók, ezek néhány kivételtől eltekintve a közömbös baktériumok közé tartoznak, már ami a patológiai jelentőségüket illeti, jelenlétüknek semmi fontosságot nem tulajdonítunk.

29 mintában (14,5%) találtunk bélbaktériumokat, ezek az *Escherichia*, *Enterobacter* (*Klebsiella*) és *Proteus* genusokhoz tartoztak, kórokozó bélbaktériumok a grape-fruit héján nem voltak. A bélbaktériumok nem tartoznak a gyümölcsök flórájához, feltehetőleg leszedés és szállítás közben következett be a gyümölcsök szennyeződése. Jelenlétük azonban felhívja a figyelmet arra, hogy a gyümölcsöket fogyasztani csak alapos mosás után szabad és főleg a gyümölcs héjak felhasználása előtt kell azokat megtisztítani [9].

Itt említjük meg *Újváry* adatait, aki Magyarországon 100 különféle gyümölcs héj mikroflóráját tanulmányozta. E 100 mintából 85 alkalommal tenyésztett ki *E.coli-t*, 48-szor *E.aerogenes-t* (*Klebsiella*), 4-szer *Proteus vulgaris-t*, 5-ször *Pseudomonas aeruginosa-t*, 2-szer *Serratia marcescens-t*, 7-szer *Streptococcus faecalis-t*, 10-szer *Staphylococcus aureus-t*, ill. *Streptococcus haemolyticus-t* és 6-szor *Saccharomyces-t*. Egyetlen mintából volt B-csoportba tartozó *Salmonella* kimutatható. Szerző feltételezi, hogy a mosatlan gyümölcsnek komoly jelentősége van egyes kórokozó bélbaktériumok, sőt egyes bélfertőzések terjesztésében (10).

Újváry adatai egyébként meglehetősen eltérnek a mi eredményeinktől. Ennek az oka nemcsak a minták különbözőségében, hanem inkább a módszerek közti különbségekben rejlik, ő emberi kórokozó baktériumokat keresett a megfelelő módszerekkel, mi a gyümölcs héjak specifikus flóráját tanulmányoztuk, más és más táptalajok segítségével. Egyébként mi magunk sem törekedtünk teljességre. Nem szándékoztunk tejsav- és ecetsavbaktériumokat kitenyészteni, amelyek feltehetőleg ugyancsak jelen voltak a grape-fruit felületén és meg sem kíséreltük az *Erwinia* genus kimutatását, amely pedig szintén hozzátartozik a zöldségek és gyümölcsök mikroflórájához (11).

Vizsgálatainknak további, illetve pontosabb célja az volt, hogy meggyőződjünk a romlást előidéző *Diplodia natalensis* jelenlétéről. A *Diplodia natalensis* *Pole Evans* rendszertanilag az *Ascomycetákhöz* tartozik s jellemző rá, hogy mint parazita erősen bekapaszkodik a növényi szövetekbe, a *Konidi-*

ophorái feketék, egyesével találhatók, 150–180 mikron átmérőjűek, konidiumai sötétek, tojásdad formájúak, kettősek és 24×15 mikron nagyságúak. A Citrus-féléken jelentős kárt okoz a gomba, a kóros elváltozást gummózisnak hívják, ami megtámadja a fát is. A fiatal hajtásokat elpusztítja s az érett gyümölcsök barna rothadását idézi elő (12). E gomba jelenlétét részben a sérült szövetekben közvetlenül mikroszkóposan vizsgáltuk, részben Sabouraud táptalajra leoltva, részben pedig szintetikus táptalajra leoltva ugyancsak mikroszkópos vizsgálatot igyekeztünk kimutatni. A *Diplodia* kimutatására összesen 614 mintát vizsgáltunk meg, eredményeinket a 2. táblázat mutatja.

2. táblázat

Diplodia natalensis Evens Pole előfordulása grape-fruit (*Citrus paradisi*) felületén, más gyümölcsökön és használati tárgyakon. (614 vizsgálat eredménye)

A minta neve	A minták száma	Pozitívok száma	%-os arány
Ép grape-fruit	294	9	3,0
Romlott grape-fruit	47	14	29,8
Használati tárgyak, eszközök	85	4	4,8
Banán (ép)	188	2	1,1
A vizsgált minták összesen	614	29	4,7

Előrebocsájtjuk, hogy a kórokozót tiszta tenyészetben sohasem találtuk meg, még a szintetikus közegben is *Candida* élesztők kísérletében fordult elő, feltehetőleg azért, mert a *Candidák* táptalajigényét a szintetikus közeg teljes mértékben fedezte.

A 614 mintából összesen 29-ben találtunk *Diplodiát*, ami 4,7%-os pozitív aránynak felel meg. Az egyes minták megoszlása, ahogy a táblázatból látható, a következő volt:

47 romlott grape-fruit gyümölcs héjáról 14 esetben mutattuk ki a *Diplodia* jelenlétét (29,8%), ami arra mutat, hogy még a kóros elváltozásokból sem minden esetben mutatható ki a kórokozó. Ennek az is oka lehet, hogy az igénytelenbb és gyorsabban szaporodó gombafajták, részben *Candida*, részben *Aspergillus*, *Penicillium* és *Fusarium* a *Diplodiát* „in vitro” elnyomták.

294 elváltozást nem mutató gyümölcshéjről 9 esetben mutattuk ki a *Diplodiát*, nyilvánvaló, hogy a kórokozó pusztja jelenléte nem azonos a kóros elváltozás fogalmával.

188 banánhéjat is megvizsgáltunk a *Diplodia* jelenlétére, ezek közül 2-ben (kb. 1%) találtuk meg. E lelet megfelel Shear és Stevens, másrészt Poe és Evans adatainak, akik leírták, hogy a *Diplodia* más gyümölcsökön is előfordul, kóros elváltozásokat okozva, vagy anélkül (13, 14).

85 eszköz (zsák, kefe, láda) felületéről 4 esetben volt a kórokozó kimutatható. Ezen adataink alapján hívtuk fel a figyelmet a csomagolóüzem dolgozóinak arra, hogy az eszközöket minél gyakrabban fertőtlenítsék, mert az eszközök is továbbíthatják a fertőzést az üzemen belül.

A saválló baktériumok kimutatására végzett vizsgálatainkat csak röviden ismertetjük. 85 héjat vizsgáltunk meg közvetlenül, ezek közül 4-ben (kb. 4,8%) találtunk saválló baktériumokat. Amennyire a kenet alapján meg lehet állapítani, ezek tömött, egyneműen festődő sejtek voltak; e kép alapján bármelyik szaprofita törzshöz tartozhattak. Ugyancsak e kenetek közül 60-ban találtunk élesztőket, 52-ben egyéb gombákat, 47-ben *Micrococcus*-okat, 12-ben nagyobb pálcikákat (*Corynebaktériumok*), 29-ben spórás baktériumokat és 11-ben Gram-negatív pálcikákat (bélbaktériumok vagy festékképzők).

- (1) Ketter L.: Élelmezési mikrobiológia. Közgazd. és Jogi Könyvkiadó, Budapest 1959.
- (2) Ienistea C.: Microbiologia alimentelor. Editura medicala Bucuresti. 1958.
- (3) Müller G.: Előadás az NDK Orvostovábbképző Akadémiájának tanfolyamán. Berlin – Lichtenberg 1965.
- (4) Nikodemusz I., Dózsán G., Kroell-Dulay I.: Katoraorv. Szle. 7, 173, 1955.
- (5) Nikodemusz I.: Zbl. Bakter. I. Orig. 171, 504, 1958.
- (6) Nikodemusz I.: Arch. Inst. Pasteur Tunis, 38, 65, 1961.
- (7) Nikodemusz I., Koncz I.: Egészségtudomány, 13, 301, 1969.
- (8) Nikodemusz I.: Kandidátusi értekezés, Budapest 1964.
- (9) Tarján R.: A diétásnövény kézikönyve. Medicina Könyvkiadó, Budapest 1959.
- (10) Ujváry Gy., id. Becsey D.: Népegészségügy, 39, 128, 1958.
- (11) Mossel D. A. A., Lambion R., Béchet J.: La prévention des intoxications et des toxifinfections alimentaires. Coopérative Edition C. E. R. I. A. Bruxelles, 1962.
- (12) Fraziers W. C.: Microbiología de los alimentos. Edición Revolucionaria La Habana, 1969.
- (13) Amos A. J. et. al.: Manual de Industrias de los Alimentos. Edición Revolucionaria. La Habana, 1970.
- (14) Prescott S. C., Dunn C. G.: Microbiologia industrial. Edición Revolucionaria. La Habana. 1970.

ДАННЫЕ О МИКРОФЛОРЕ ГРЕЙПФРУИТ (TORONJA, CITRUS PARADISI. CITRUS DECUMANUS)

И. Никодемус, Др. Мария Каридад Браво Алмагуер Аргюеллес и Магалис Фернандес Ибаргурен

С целью успешной борьбы против хозяйственного вреда авторы изучали пиричины порчи грейпфруит (*Citrus paradisi*). Во-первых испытали, что имеющими методами из поверхности вышеупомянутого фрукта какие микробы могут быть изолированы, то есть какую микрофлору грейпфруит возможно установить на основании данной методики.

Установили, что из поверхности фрукта систематически могут быть выведены плесневые и дрожжевые грибы, аэробные споровые бактерии, кишечные бактерии, бактерии образующие красящие вещества, микрококкусы, а может быть тоже и микробы (напр.: *Corynebacterium, Clostridium*).

Авторами разыскиваемые патогенные микроорганизмы *Diplodia natalensis* были вычлены приблизительно в одной третьей части порченных фруктов, но были найдены и на здоровых фруктах, а также и на средствах употребления. Несомненно, что необходимо улучшать и усовершенствовать методы выявления.

В борьбе против грибов, самую роль играет обеззаражив внутри упаковочного цеха.

ANGABEN ZUR MIKROFLORA DER GRAPE FRUIT (POMPELMUSE, CITRUS PARADISI ODER CITRUS DECUMANUS)

I. Nikodemusz, Maria Caridad Bravo y Almaguer de Argüelles und Magalis Fernandez y Ibarguren

Die Verfasser studierten die Ursache des Verderbs von Grape fruit (*Citrus paradisi*) um wirtschaftlichen Schaden abwehren zu können. Vor allem untersuchten sie, was für Mikroben an der Oberfläche der erwähnten Frucht mit den zur Verfügung stehenden Methoden nachgewiesen werden können, das heisst, wie sich die Mikroflora der Grape fruit – mit der gegebenen Methodik bestimmt – gestaltet. Sie stellten fest, dass in – von der Oberfläche genommenen Proben Schimmelpilze und Hefen, aerobe Sporen bildende Bazillen, Darmbakterien, farbstoffbildende Bakterien und Mikrokokken wachsen, mehr oder weniger die gleichen, gelegentlich können auch andere Mikroben (z.B. *Corynebakterien, Clostridien*) gefunden werden.

Der von ihnen gesuchte pathogene Mikroorganismus *Diplodia natalensis* war etwa in einem Drittel der verdorbenen Früchte nachweisbar, er konnte aber auch auf intakten Früchten und Bedarfsgegenständen gefunden werden. Unbestreitbar müssen die Nachweismethoden verbessert, bzw. vervollkommen werden. In der Pilzabwehr spielt – innerhalb des Betriebes, wo ihre Versuche durchgeführt wurden – die Desinfizierung die wichtigste Rolle.

CONTRIBUTIONS TO THE MICROFLORA OF GRAPE-FRUIT (TORONJA, CITRUS PARADISI OR CITRUS DECUMANUS)

I. Nikodémusz, Maria Caridad Bravo y Almaguer de Argüelles, Magalis Fernandez y Iburguren

The factors responsible for the decay of grape-fruit (*Citrus paradisi*) were studied in order to eliminate the economical losses caused by them. As a first step, the microbes detectable on the surface of this fruit by the methods available at the present were investigated, i. e. the microflora of grape-fruit by a given methodology was established.

It was found that more or less systematically moulds and yeasts, aerobic spiciferous bacilli, intestinal bacteria, pigment-forming bacteria and various micrococci can be isolated from the surface of the fruits, and occasionally also other microbes (e.g. *Corynebacteria*, *Clostridium* varieties) occur.

The microorganism *Diplodia natalensis* for which a search has been made by the authors, could be found in about one third of the tested decayed fruits. Besides, it was also observed on intact fruits and on various horticultural instruments. The methods of detection must be doubtlessly improved and completed, respectively.

In the packaging shop of a plant where the present investigations have been carried out, disinfection plays the leading role in the antifungal campaign.

QUELQUES DONNÉES PAR RAPPORT À LA FLORE MICROBIENNE DES PAMPLEMOUSSES (TORONJA, CITRUS PARADISI OU CITRUS DECUMANUS)

I. Nikodémusz, M. C. Bravo y Almaguer de Argüelles, et M. Fernandez y Iburguren

On a étudié les causes de la détérioration de la pamplemousse (*Citrus paradisi*), afin de pouvoir prévenir les pertes économiques. En première étape on a examiné les microbes qui se faisaient déceler à la surface du fruit à l'aide des méthodes qui étaient à la disposition des auteurs. En d'autres termes, ils ont établi la microflore de la pamplemousse à partir d'une taxonomie donnée.

On a trouvé que des moisissures et des levures, des bacilles aérobies sporogènes, des bactéries intestinales et chromogènes, ainsi que des micrococci se font isoler de la surface du fruit plus ou moins régulièrement. Occasionnellement, on y trouve aussi d'autres microbes, comme p.e. des *Corynebactéries* et des *Clostridium*s.

Le pathogène recherché par les auteurs, la *Diplodia natalensis*, se faisait déceler dans environs un tiers des fruits détériorés, mais on pouvait l'isoler aussi des fruits intacts et de la surface des objets utiles. Il faut, sans doute, perfectionner les méthodes de détection.

Dans l'usine d'emballage, où l'on a exécuté les expériences, c'est la désinfection qui pourra jouer le rôle le plus important dans la protection contre les fungus.