

УДК 579.64

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ BACILLUS COAGULANS ИЗ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

*К.В. Мартынова, аспирант,
тел. 8-904-195-25-31, belova_ksenya@mail.ru*
*Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8-937-274-58-76, feokna@yandex.ru*
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Bacillus coagulans*, продукты питания, схема Gordon, идентификация, фагоидентификация.

Работа посвящена выделению из проб пищевого сырья и продуктов питания бактерий *Bacillus coagulans* и сравнению двух методов дифференциации – метод изучения физиолого-биохимических свойств (216 часов) и фагоидентификации (22±2 часа). Выделено 5 культур, которые двумя методами идентифицированы, как *Bacillus coagulans*. Экспериментально доказано, что применение методов фагоидентификации бактерий является наиболее ускоренным и экономически выгодным методом обнаружения бактерий *Bacillus coagulans*, в отличие от метода изучения физиолого-биохимических свойств бактерий.

Введение. Бактерии рода *Bacillus* благодаря способности образовывать эндоспores и высоким адаптивным возможностям, широко распространены в окружающей среде и нередко рассматривались как возбудители разнообразных видов порчи пищевых продуктов. Споробразующие бактерии стали важным объектом исследований в связи с развитием консервной промышленности [1, 2].

Бактерии вида *Bacillus coagulans* редко выделяются из почвы, однако являются частыми контаминантами продуктов, отличающихся повышенной кислотностью среды (консервированный томатный сок, томатопродукты, консервы). Вышеназванные микроорганизмы контаминируют продукт без изменения его внешних характеристик, поэтому актуальным является санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов на наличие *Bacillus coagulans* [2-4].

Материалы и методы исследований. Штаммы *B. coagulans* 566, *B. coagulans* 10468, *B. coagulans* 10473, *B. coagulans* 732, *B. coagulans* 948 и

фаги Phagum В.с. 1-3 УГСХА полученные из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Объекты исследований – 18 наименований пищевого сырья и продуктов питания (томатный сок и маринованные помидоры домашнего приготовления, томатная паста, специи, морковь, свекла, мука пшеничная хлебопекарная). Для выделения и идентификации бактерий использовали схему дифференциации бактерий рода *Bacillus* (Gordon, 1973) [5].

Результаты исследований и их обсуждение. Выделение «чистой культуры» проводили методом Дригальского. Посевы культивировали в условиях термостата в течение 24 часов. При наличии однотипных колоний анализировали не менее трех колоний. Готовили мазки выросших культур, окрашивали их по Граму. Грамположительные споровые бактерии засеивали на МПБ. После 22 ± 2 часов при температуре 36 ± 1 °С производили высеив на среды, описанные (Gordon, 1973) [5].

В ходе проведенных исследований из 18 проб пищевого сырья и продуктов питания нами было выделено 5 культур, которые обладали следующими свойствами: бактерии были палочкообразной формы, спорообразующие. На мясо-пептонном агаре вырастают в виде сочных с морщинистой поверхностью слизистых матовых колоний серо-белого цвета с волнистым краем. Рост на мясо-пептонном бульоне характеризуется слабым помутнением среды и образованием на ее поверхности пленки. Оптимальный рост бактерии наблюдается при $35-50$ °С и рН в пределах от 5,5 до 6,2. Все выделенные штаммы *Bacillus coagulans* продуцируют каталазу, вызывают гидролиз крахмала. Не продуцируют летициназу, не разжижают желатин, гидролиз мочевины отсутствует. Не ферментируют лактозу. Положительная реакция на: сахарозу, дульцит, мальтозу, глюкозу, ксилозу. Отрицательная реакция на: маннит, инозит, сорбит. Экспериментальным путем было доказано, что музейные штаммы бактерий *Bacillus coagulans* и выделенные нами культуры бактерий обладают аналогичными биологическими свойствами.

Следующим этапом исследований был метод фагоидентификации бактерий *Bacillus coagulans* по методике Д.М. Гольдфарба в оригинальной модификации И.П. Ревенко [4]. Фаготипирование проводили следующим образом, чашку Петри делили на два сектора при помощи маркера. На поверхность засеянной среды наносили исследуемый на наличие бактериофага субстрат, на вторую половину наносили мясо-пептонный бульон (для контроля). Результат учитывали по лизису исследуемой культуры через 22 ± 2 часов культивирования при 36 ± 1 °С [4, 6].

При проведении фагоидентификации было подтверждено, что штаммы бактерий идентифицированные как *Bacillus coagulans*, были лигированы специфическими бактериофагами Phagum В.с. 1-3 УГСХА.

Заключение. Экспериментально нами доказано, что физиолого-биохимическая идентификация бактерий рода *Bacillus* – это материалоемкое и трудоемкое исследование, которое занимает 216 часов (9 суток). В отличие от этого, фагоидентификация бактерий представляет собой ускоренный метод обнаружения возбудителей порчи пищевого сырья и продуктов питания с помощью специфических фагов, данная методика исследования занимает всего 22 ± 2 часа. Из этого следует, что применение методов фагоидентификации бактерий является наиболее ускоренным и экономически выгодным методом обнаружения бактерий *Bacillus coagulans*.

Библиографический список

1. Феоктистова, Н.А. Методы идентификации *Bacillus coagulans*, включая фагоидентификацию / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, К.В. Белова и др. // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. - С. 89-90.
2. Белова, К.В. Выделение бактерий рода *Bacillus* из объектов санитарного надзора / К.В. Белова, Н.А. Феоктистова // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. Материалы VII-й Международной студенческой научной конференции. - том 1. - Ульяновск, 2015.
3. Юдина М.А. Перспективы применения бациллярных бактериофагов / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // «Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях»: материалы III Международной научно-практической конференции. - Москва, 2011. - С. 449-451.
4. Васильев, Д.А. Антология научно - методических материалов по изучению бактериофагов / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин. - Ульяновск, УГСХА, 2017. - с. 201.
5. Gordon, R. The genus *Bacillus* / R. Gordon // In Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio), 1973. - V.1. - P.71-88.
6. Феоктистова, Н.А. Методы выделения бактериофагов рода *Bacillus* / Н.А. Феоктистова, В.А. Макеев, М.А. Юдина, А.И. Калдыркаев // Вестник ветеринарии. - 2011.- № 4 (59). - С. 88-89.

ALLOCATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA BACILLUS COAGULANS FROM FOOD RAW MATERIAL AND FOODSTUFFS

Martynova K.V., Feoktistova N.A.

Key words: *Bacillus coagulans, food, Gordon scheme, identification, phagoindentification.*

The work is devoted to the isolation of Bacillus coagulans from samples of food raw materials and food products and comparison of the two methods of differentiation - the method of studying physiological and biochemical properties (216 hours) and phage identification (22 ± 2 hours). Five cultures were isolated, which were identified by two methods as Bacillus coagulans. It is experimentally proved that application of methods of a fagoindentifikation of bacteria is the most accelerated and economic method of detection of bacteria Bacillis coagulans, unlike a method of studying of fiziologo-biochemical properties of bacteria.