

УДК 579.62

БАКТЕРИОФАГ *VACILLUS COAGULANS* – МЕТОД БОРЬБЫ С ПЛОСКО-КИСЛОЙ ПОРЧЕЙ ПЛОДООВОЩНЫХ КОНСЕРВОВ

*Мартынова К.В., аспирант,
тел. 8-904-195-25-31, belova_ksenya@mail.ru,
Зонова Ю.В., магистрант, Феоктистова Н.А., к.б.н., доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, Ульяновск, Россия*

Ключевые слова: *Vacillus coagulans*, плоско-кислая порча, томатопродукты, селекция, биопрепарат.

Работа посвящена выделению из проб пищевого сырья и продуктов питания, содержащих томатопродукты, бактериофагов специфичных к бактериям *Vacillus coagulans* и подбору оптимальных параметров их культивирования. В ходе проведения исследований из 15 проб было выделено и селекционировано 3 бактериофага специфичные *V. coagulans*, которые в перспективе могут входить в состав биопрепарата.

Введение. Одной из популярных и распространенных овощных культур являются томаты, которые характеризуются высокой питательной ценностью и используются для приготовления различных кулинарных блюд, а также входят в рецептуру многих консервов. Наиболее часто фиксируемой причиной порчи плодоовощных консервов является плоско-кислая порча, возбудителем которой являются бактерии вида *Vacillus coagulans*. Характерная особенность плоско-кислой порчи – это отсутствие внешних признаков порчи со стороны тары до ее вскрытия [1, 2]. Для выявления возбудителя плоско-кислой порчи на этапе изготовления консервов и для снижения рисков выпуска дефектной продукции, можно использовать бактериофаговый биопрепарат *Vacillus coagulans*, который можно будет применять при производстве плодоовощных консервов для индикации бактерий и в качестве профилактики проводить обработку сырья, готовой продукции и тары, что значительно снизит риски предприятий при производстве длительно хранящейся консервной продукции [2-4].

Цель работы – выделить и селекционировать бактериофаги специфичные бактериям *Vacillus coagulans* для изготовления биопрепарата против плоско-кислой порчи плодоовощных консервов.

Материалы и методы исследований. Штаммы *V. coagulans* 566 *V. coagulans* 10468, *V. coagulans* 10473, *V. coagulans* 732 *V. coagulans* 948, *V. coagulans* 10268, *V. coagulans* 2770, *V. coagulans* 3042, *V. coagulans* 4521, *V. coagulans* 6668 полученные из музея НИИЦМБ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Объекты исследований – 15 наименований пищевого сырья и продуктов питания (свежие томаты, томаты в собственном соку, томатная паста, кетчуп, растительные консервы с добавлением томатной пасты). Выделение бактериофагов проводили с исполь-

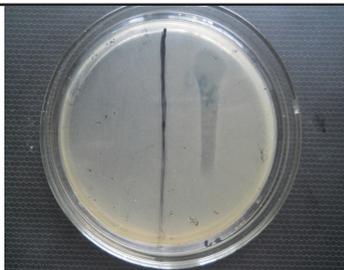


Рисунок 1 – Выявление бактериофага Phagum B.c. 8 УГСХА на газоне культуры *B. coagulans* 10468

Таблица 1 – Характеристика объектов исследований для выделения фагов

№\№	Название бактериофага	Индикаторная культура	Наименование объекта выделения
1	Phagum B.c. 8 УГСХА	<i>B. coagulans</i> 10468	Проба № 8 – Томатная паста
2	Phagum B.c. 12 УГСХА	<i>B. coagulans</i> 10268	Проба № 12 – Томат с признаками порчи
3	Phagum B.c. 13 УГСХА	<i>B. coagulans</i> 2770	Проба № 13 – Томат с признаками порчи
		<i>B. coagulans</i> 10268	

зованием методик, апробированных сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ [3-6].

Результаты исследований. Для выделения бактериофагов использовали 15 проб пищевого сырья и продуктов питания. Исследуемые фильтраты исследовали на наличие фага методом нанесения «дорожки» на газон культуры, посеvy инкубировали в условиях термостата в течение 18 ч. при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Положительным результатом эксперимента было наличие на газоне культуры зоны лизиса в виде «дорожки» (рис. 1).

В результате проведенных исследований нами было выделено 3 бактериофага специфичных для штаммов *B. coagulans*, которые представлены в таблице 1.

Дальнейшая работа была посвящена подбору оптимальных параметров культивирования выделенных бактериофагов. Для этого чашку с негативными колониями заливали стерильным мясопептонным бульоном, делали смыв с помощью стеклянного шпателя, затем полученную смесь очищали от бактери-

альных клеток методом фильтрации с использованием мембранных фильтров фирмы «Millipore». Селекцию бактериофагов проводили десятикратным пассивированием, засеянные пробирки помещали в термостат и инкубировали их при $35 \pm 2^\circ\text{C}$ до образования в контрольной пробирке пленки на поверхности среды. Экспериментально было установлено, что это 6 часов инкубирования в термостате [4, 5].

Оптимальное соотношение бактериофага и индикаторного штамма *B. coagulans* определяли в соотношениях: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 и 1:5, установлено, что это 1:1, т.е. 0,2 мл фага на 0,2 мл индикаторной культуры *B. coagulans*.

Для очистки фагов от бактериальных клеток применяли три метода: обработка хлороформом (трихлорметаном), прогревание на водяной бане и фильтрация с применением мембранных фильтров фирмы «Millipore» (filter type: 0,1 и 0,22 μm GV). Установлено, что выделенные и селекционированные бактериофаги и референс-штаммы *B. coagulans* устойчивы к воздействию температуры, так же устойчивы к воздействию хлороформа (трихлорметана), поэтому данные способы очистки фагов применять нецелесообразно. Эмпирическим путем установлено, что применение фильтров фирмы «Millipore» с диаметром 0,1 μm GV наиболее предпочтительно.

Наиболее важной характеристикой выделенных и селекционированных бактериофагов является специфичность по отношению к штаммам *B. coagulans* и отсутствие способности лизировать культуры *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. mesentericus* (*pumilus*), которые в ассоциации друг с другом вызывают плоско-кислую порчу консервов [5, 6]. Исследования проводили методом нанесения исследуемых фагов на газоны вышеназванных бактериальных культур методом «дорожки», в результате чего было установлено, что на чашках Петри, засеянных данными культурами зон лизиса, при нанесении выделенных и селекционированных нами бактериофагов при визуальном осмотре обнаружено не было.

Заключение. В результате проведенных исследований из 15 наименований пищевого сырья и продуктов питания (свежие томаты, томаты в собственном соку, томатная паста, кетчуп, растительные консервы с добавлением томатной пасты) было выделено 3 бактериофага специфичных для штаммов *B. coagulans*. Установлено, что оптимальное соотношение бактериофага и индикаторного штамма составляет 1:1, т.е. 0,2 мл фага на 0,2 мл индикаторной культуры *B. coagulans*; время пассажа составляет 6 часов инкубирования в термостате при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Полученные результаты свидетельствуют, что выделенные и селекционированные бактериофаги строго специфичны в пределах вида *B. coagulans* и в перспективе могут входить в состав биопрепарата, который можно будет использовать для устранения плоско-кислой порчи плодово-овощных консервов.

Библиографический список:

1. 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.
2. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерий *Bacillus subtilis* / Н.А. Феоктистова // В книге: «Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека». - Ульяновск, 2013. - с. 186-197.
3. Золотухин, С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий / Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - Ульяновск, 2007.
4. 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.
5. Васильев, Д.А. Антология научно-методических материалов по изучению бактериофагов / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин. - Ульяновск, УГСХА, 2017. - с. 201.
6. Каттер, Э. Бактериофаги. Биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе. - М.: Научный мир, 2012.

BACTERIOPHAG BACILLUS COAGULANS – THE METHOD OF STRUGGLE AGAINST THE PLANTER-ACID DEFLECTION OF FRUIT AND VEGETABLE CANNEDS

Martynova K.V., Zonova Ju.V., Feoktistova N.A.

Key words: *Bacillus coagulans*, flat-sour spoilage, tomatoproducta, selection, biological product.

Work is devoted to allocation from the tests of food raw materials and food containing tomatoproducta, bacteriophages specific to bacteria of Bacillus coagulans and selection of optimum parameters of their cultivation. During researches from 15 tests 3 bacteriophages specific B. coagulans have been allocated and selected, which ultimately can be part of a biological product.