

УДК 579.63

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ДЕКОНТАМИНАЦИИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ФАГОВЫМ БИОПРЕПАРАТОМ *VACILLUS MEGATERIUM*

*Столетов В.В., магистрант 2 курса, stoletov.vlad@bk.ru,
Степочкина Я.А., магистрант 1 курса факультета
ветеринарной медицины и биотехнологии, ulgau1943@mail.ru
Научный руководитель – Феоктисова Н.А., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Vacillus megaterium*, бактериофаг, деконтаминация, сыр, эффективность.

В статье представлены результаты исследований по изучению эффективности применения бактериофага *Vmeg-16* УлГАУ в экспериментах по деконтаминации сыров Сулугуни и Моцарелла искусственно обсемененного бактериями *Vacillus megaterium*. Определено, что через 24 часа от начала эксперимента *titer* бактериофага достигал максимальных значений. Установлено, что через 72 часа с начала эксперимента на поверхности исследуемых сыров не фиксировалось присутствие фаговых частиц (через 48 часов после полной элиминации бактерий-мишеней).

Если в хранении растительного сырья уже активно используют биологические средства защиты, на основе активных штаммов антагонистов патогенной микрофлоры, то исследования по обработке пищевой продукции из сырья животного происхождения только начинаются. Применение фаговых биопрепаратов позволяет проводить обработку, не создается угрозы нарушения экологического равновесия в биосфере, и имеют высокую специфичность, то есть, разрушив клетку хозяина, бактериофаг перестает работать [1-3].

Цель работы – провести исследования по оценке эффективности применения бактериофага *Vmeg-16* УлГАУ, в эксперименте по деконтаминации сыров Сулугуни и Моцарелла, искусственно обсемененного бактериями *Vacillus megaterium*.

Головки сыра Сулугуни (18 образцов, средний вес 258 г, из расчета по 3 шт. на каждые сутки эксперимента) и шарики Моцареллы (18 образцов, средний вес 177 г, из расчета по 3 шт. на каждые сутки

эксперимента) искусственно контаминировали в суспензии, содержащей 18 часовые культуры бактерий *Bacillus megaterium* в титре $n \times 10^9$ КОЕ/мл методом погружения на 10 мин. Контаминированные головки (шарики) сыра подсушивали на стерильных лоточках в течение 1 ч для адаптации бактерий на поверхности мягкого сыра. Эксперимент проводился в бактериологическом боксе кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ при соблюдении правил техники безопасности по методикам, отработанным сотрудниками [4-15].

Методика фаг-опосредованного биопроцессинга: головки сыра погружали на 30 с в стерильный фильтрат фаголизата Vmeg-16 УлГАУ с титром не ниже $n \times 10^8$ БОЕ/мл (МОI = 1:10). Образцы складывали в пластиковые контейнеры для хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$. В исследованиях использовали гомогенизатор, шуттель-аппарат, термостат, холодильник, центрифугу, весы электронные. трихлорметан, МПА, МПБ, МҮР- агар, лабораторную посуду.

Результаты исследований и их обсуждение. Эффективность деконтаминации проверяли следующим образом: 10 граммовый кусочек сыра, отрезанный от каждого образца, гомогенизировали в 90 мл МПБ, после чего 0,1 мл полученной смеси наносили на чашки Петри с МПА. Учет количества перечисленных выше бактерий проводили после термостатирования в течение 24 ч, при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$ на МҮР- агаре.

Количество бактериофагов на поверхности образцов сыра определяли по следующей схеме: в суспензию с гомогенизированными кусочками сыра, полученными по методике описанной выше, добавляли трихлорметан (хлороформ) в соотношении 1:10. После этого пробы шуттелировали 30 мин, а затем центрифугировали со скоростью 5000 об/мин. Надосадочную жидкость отбирали в стерильную пробирку и высевали на чашки Петри по методу Грациа [11]. Посевы культивировали в условиях термостата при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Результаты исследований представлены в таблицах 1, 2. «I» – обозначен опыт, «II» – контроль.

В экспериментах нами было установлено, что деконтаминация образцов мягких сыров Сулугуни и Моцарелла (разрушение бактерий *Bacillus megaterium* на поверхности объекта исследований), была зафиксирована через 24 часа от начала эксперимента. Было определено, что в это время титр каждого из бактериофагов, достигал высоких значений. Сделанные нами смывы с поверхности сырных головок и

высеянные на мясо-пептонный агар, подтверждают, что через 72 часа от начала эксперимента произошло полное исчезновение фаговых частиц с поверхности сыра (через 48 часов после полной элиминации бактерий-мишеней – *Bacillus megaterium*).

**Таблица 1 – Показатели, характеризующие контаминацию
опытных и контрольных проб сыра Сулугуни**

Параметры		Название микроорганизма-контаминанта <i>Bacillus megaterium</i>	Органолептические показатели качества объекта исследований
I	До обработки, КОЕ/г	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
I	Через 24 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
I	Через 48 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, кисломолочный, определяются ноты затхлости
I	Через 72 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, кисломолочный, затхлый запах

**Таблица 2 – Показатели, характеризующие контаминацию
опытных и контрольных проб сыра Моцарелла**

Параметры		Название микро-организма-контаминанта <i>Bacillus megaterium</i>	Органолептические показатели качества объекта исследований
I	До обработки, КОЕ/г	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
I	Через 24 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
I	Через 48 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, кисломолочный, определяются ноты затхлости
I	Через 72 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, кисломолочный, затхлый запах

Выводы. Установлено, что бактериофаг Втег–16 УЛГАУ эффективно уничтожают бактерии *Bacillus megaterium* с поверхности сыра Сулугуни и Моцарелла в титре не ниже $n \times 10^8$ БОЕ/мл (МОИ = 1:10) через 24 часа. Через 48 часов после полной элиминации бактериомишеней фаги не выделялись с поверхности продукта.

Библиографический список:

1. Разработка биотехнологических параметров создания бактериофаговых биопрепаратов для деконтаминации микрофлоры, вызывающей порчу пищевого сырья животного происхождения и мясных, рыбных, молочных продуктов (биопроцессинг) / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алеш-

- кин, С.Н. Золотухин, А.В. Мاستиленко, И.А. Киселёва, Е.В. Сульдина, Д.В. Никитченко. Ульяновск, 2019. – 450с.
2. Бактериофаги зооантропонозных и фитопатогенных бактерий / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, И.Р. Насибуллин, Н.Г. Куклина, И.Г. Горшков, Н.А. Феоктистова и др. Ульяновск, 2017. – 176 с.
 3. Выявление бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) бактериологическими методами / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, Т.А. Юдина, С.Н. Золотухин // Материалы Международной научно-практической конференции Актуальные вопросы ветеринарной науки. – Ульяновск, 2015. - С. 103-110.
 4. Выделение бактерий вида *Bacillus mesentericus* из объектов санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, М.А. Юдина, Д.А. Васильев, И.Р. Хусаинов // Материалы III-й Международной научно-практической конференции молодых ученых: Молодежь и наука XXI века. – Ульяновск, 2010. - С. 82-84.
 5. Разработка экологически чистого инновационного фагового биопрепарата для снижения и/или предотвращения порчи плодоовощной продукции. Научная монография / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин, А.В. Мاستиленко, Е.В. Сульдина, К.В. Мартынова, И.А. Киселева. - Ульяновск, 2020. – 412 с.
 6. Разработка фагового биопрепарата, специфичного для *Bacillus subtilis*, и методов его применения для деконтаминации плодоовощной продукции/ Н.А. Феоктистова, И.М. Абдрахманов, Е.В. Сайгушева, С.В. Аннюк, Д.А. Васильев// Материалы X Международной научно-практической конференции: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. – Ульяновск, 2020. - С. 312-316.
 7. Основные технологические параметры изготовления биопрепарата для борьбы с возбудителем сосудистого бактериоза крестоцветных/ П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2020. - № 1 (49).- С. 60-64.
 8. Изучение некоторых свойств выделенных бактериофагов *Pseudomonas syringae*/ А.К. Беккалиева, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев// Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. - 2020. - № 3-2. - С. 11-13.
 9. Identifying the main technological parameters for bio-product exemplified by bacteriophage pv. k134–*utsav xanthomonas campestris campestris*/ P. Maiorov, N.A. Feoktistova, D.A. Vasilyev, E.N. Mallyamova, A.A. Nafeev, A.L. Toigildin, I.A. Toigildina, I.L. Obukhov, V.I. Shmorgun //Ambient Science.- 2020. - Т. 7. № 1. - С. 7-10.
 10. Конструирование бактериофагового препарата для биоконтроля *Pseudomonas syringae* в растениеводстве/ Д.А. Васильев, А.К. Беккалиева, Н.А. Феоктистова, Е.В. Сульдина // Вестник Ульяновской государственной

- сельскохозяйственной академии. - 2020. - № 2 (50). - С. 130-137.
11. Изучение биологических свойств бактериофагов *Bacillus coagulans*/ Н.А. Феоктистова, К.В. Мартынова, Д.А. Васильев, Д.Д. Хусаинова, Е.В. Сайгушева, Г.З. Балтаева, М.И. Сулейманова // Материалы Национальной научно-практической конференции: Актуальные проблемы аграрной науки: состояние и тенденции развития. - 2019. - С. 149-152.
 12. Феоктистова, Н.А. Выделение бациллярных бактериофагов и их селекция/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Биология – наука XXI века. Сборник тезисов 23-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых. - 2019. - С. 256.
 13. Конструирование экспериментального биопрепарата на основе бактериофага Ars 25-УГСХА для проведения биопроцессинга/ Д.А. Васильев, А.В. Алёшкин, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, Н.Г.Куклина [и др.] // Естественные и технические науки. - 2018. - № 2 (116).- С. 33-37.
 14. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической характеристики / Д.А. Васильев, А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин. - Ульяновск, 2013. – 98 с.
 15. Выделение фагов бактерий вида *Bacillus cereus* / Н.Т. Садеева, Е.В. Меркулова, Н.А. Феоктистова, М.А. Юдина // Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции: Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. – Ульяновск, 2012. - С. 14-17.

RESULTS OF EXPERIMENTS ON DECONTAMINATION OF DAIRY PRODUCTS WITH PHAGE BIOPREPARETE BACILLUS MEGATERIUM

Stoletov V.V., Stepochkina Y.A.

Key words: *Bacillus megaterium*, bacteriophage, decontamination, cheese, efficiency.

The article presents the results of research on the effectiveness of the use of bacteriophage Bmeg-16 UIGAU in experiments on the decontamination of cheeses Suluguni and Mozzarella artificially contaminated with bacteria Bacillus megaterium. It was determined that after 24 hours from the beginning of the experiment, the bacteriophage titer reached maximum values. It was found that after 72 hours from the beginning of the experiment, the presence of phage particles was not recorded on the surface of the studied cheeses (48 hours after the complete elimination of the target bacteria).