

УДК 579.63

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАГОВОГО БИОПРЕПАРАТА *VACILLUS MEGATERIUM* ДЛЯ ДЕКОНТАМИНАЦИИ МЯСНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

*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 – Феоктистова Н.А., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *Vacillus megaterium*, бактериофаг, деконтаминация, мясной полуфабрикат, свинина, эффективность.

В статье представлены результаты исследований по изучению эффективности применения бактериофага *Vmeg-16* УлГАУ в экспериментах по деконтаминации мясных полуфабрикатов (гуляш из свинины) искусственно обсемененных бактериями *Vacillus megaterium*. Экспериментально было установлено, что через 72 часа с начала эксперимента в 25 г исходного образца гуляша из свинины не фиксировалось присутствие бактерии вида *Vacillus megaterium*. Титр бактериофага снижался с $0,9 \times 10^9$ БОЕ/мл через 6 часов от начала эксперимента до $2,0 \times 10^4$ БОЕ/мл на 7 сутки опыта.

По литературным данным бактерии рода *Vacillus*, в том числе и *Vacillus megaterium* являются контаминантами мяса и мясопродуктов, вызывая их порчу и в некоторых случаях провоцируя пищевые отравления. Своевременная индикация вышеназванных микроорганизмов поможет предотвратить данные негативные процессы. Поэтому разработка методов детекции и деконтаминации бактерий рода *Vacillus*, в том числе и *Vacillus megaterium* в мясе и мясных продуктах является той практической задачей, которую необходимо решать перерабатывающей отрасли [1-3].

Цель работы – провести исследования по оценке эффективности применения бактериофага *Vmeg-16* УлГАУ, в эксперименте по деконтаминации мясного полуфабриката (свиного гуляша), искусственно обсемененного бактериями *Vacillus megaterium*.

Для обеззараживания мясных полуфабрикатов создан и прошел апробацию в лабораторных условиях на базе ФГБОУ ВО Ульяновский

ГАУ фаговый биопрепарат *Vmeg-16 УлГАУ*, который использовали для обработки искусственно контаминированного мелкокускового полуфабриката из мяса свинины бактериями *Bacillus megaterium* в массе 1,0 кг, что составляло половину приготовленной для лабораторных исследований партии. Вторая половина партии была контрольной и хранилась отдельно от опытной партии. 8,4 мл фагового коктейля вносилось в 1,02 л воды. Финальная концентрация фага *Vmeg-16 УлГАУ* в 1,02 л составляла $0,9 \times 10^9$ БОЕ/мл.

Эксперимент проводился в бактериологическом боксе кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ при соблюдении правил техники безопасности по методикам, отработанным сотрудниками [4-15].

Пробу мяса погружали в воду с бактериофагом, выдерживали в течение 10 минут. Далее воду сливали, давали ей стечь с мяса и фасовали на подложки из полимерного материала. В процессе производства нами были отобраны следующие образцы:

I – мясной полуфабрикат, не обработанный бактериофагом (из контрольной партии);

II – мясной полуфабрикат, обработанный бактериофагом (из опытной партии).

Все образцы анализировались по следующим параметрам:

- 1) наличие бактерий *Bacillus megaterium*,
- 2) общее микробное число (ОМЧ),
- 3) в образце II определяли в динамике титр бактериофага.

Первое исследование проводилось через 6 часов после изготовления гуляша и далее каждые сутки в течение 7 дней, образцы хранились в холодильнике при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

В таблице 1 приведены значения титра каждого из фагов, сохранившиеся в образце II.

Таблица 1 – Значения титра фага, содержавшегося в образце II

Фаги	6 часов	2 сутки	3 сутки	4 сутки	5 сутки	6 сутки	7 сутки
<i>Vmeg-16 УлГАУ</i>	$0,9 \times 10^9$	$1,1 \times 10^8$	$3,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$

В таблице 2 приведенной ниже представлены показатели, характеризующие контаминацию опытных и контрольных образцов мясного полуфабриката – гуляша из свинины.

Таблица 2 - Показатели, характеризующие контаминацию опытных и контрольных проб мясного полуфабриката – гуляша из свинины

Органолептические свойства	ОМЧ, КОЕ/г	<i>Vacillus megaterium</i>	Параметр	
			До обработки	
Свежее мясо	≈10 ⁷	1·10 ²	1 сутки	I
	≈10 ⁷	1·10 ²		II
Свежее мясо	≈10 ⁷	1·10 ²	2 сутки	I
	≈10 ⁷	1·10 ²		II
Свежее мясо	≈10 ⁷	1·10 ²	3 сутки	I
	≈10 ⁷	Роста не обнаружено		II
Свежее мясо	≈10 ⁷	1·10 ²	4 сутки	I
	≈10 ⁷	Роста не обнаружено		II
Свежее мясо	≈10 ⁸	1·10 ²	5 сутки	I
	≈10 ⁷	Роста не обнаружено		II
Запах протухшего мяса	≈10 ¹⁰	1·10 ²	6 сутки	I
	≈10 ⁷	Роста не обнаружено		II
Запах протухшего мяса	≈10 ¹⁰	1·10 ²	7 сутки	I
	≈10 ⁷	Роста не обнаружено		II
Запах протухшего мяса, зеленоватый оттенок	≈10 ¹²	1·10 ²		I
	≈10 ⁷	Роста не обнаружено		II

В результате проведенных исследований было установлено, что общее микробное число в начальных образцах было порядка 10^7 КОЕ/г. (согласно СанПин 2.3.2.1078-01 (и ТР ТС 021/2011) ОМЧ (КМАФАНМ) не должно превышать в 1 г мелкокусковых полуфабрикатов («Гуляша свиного») 10^6 КОЕ/г). По мере нахождения образцов в холодильнике количество ОМЧ увеличивалось. На 7 сутки хранения их количество достигло 1×10^{12} КОЕ/г, однако во II образце, который обрабатывали бактериофагами, ОМЧ было меньше в 5 раз, чем в I образце (контроль без фагов). Начиная с 5 суток в мелкокусковых полуфабрикатах («Гуляше свином») без фагов появился характерный запах протухшего мяса и зеленоватое потемнение кусочков, в то время как в обработанном образце присутствия подобного запаха не было выявлено и органолептически кусочки мяса выглядели более свежими даже после 7 суток хранения в холодильнике.

Экспериментально было установлено, что через 72 часа с начала эксперимента в 25 г исходного образца гуляша из свинины не фиксировалось присутствие бактерии вида *Bacillus megaterium*. Титр бактериофага снижался с $0,9 \times 10^9$ БОЕ/мл через 6 часов от начала эксперимента до $2,0 \times 10^4$ БОЕ/мл на 7 сутки опыта.

Библиографический список:

4. 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. Алешкин, С.Н. Золотухин, А.В. Мاستиленко, И.А. Киселёва, Е.В. Сульдина, Д.В. Никитченко. Ульяновск, 2019. – 450с.
5. 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.
6. Выявление бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВП) 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.
7. 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 мо-

лодых ученых: Молодежь и наука XXI века. – Ульяновск, 2010. - С. 82-84.

8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Identifying the main technological parameters for bio-product exemplified by bacteriophage pv. kl34–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, B.I. Shmorgun //Ambient Science.- 2020. - Т. 7. № 1. - С. 7-10.
13. 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.
14. 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.
15. Феоктистова, Н.А. Выделение бациллярных бактериофагов и их селекция/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Биология – наука XXI века. Сборник тезисов 23-ой Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых. - 2019. - С. 256.

16. 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.
17. 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.
18. 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.

EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF PHAGE BIOLOGIC PREPARATION *BACILLUS MEGATERIUM* FOR DECONTAMINATION OF MEAT SEMI-PRODUCTS

Stoletov V.V., Stepochkina Y.A.

Key words: *Bacillus megaterium*, bacteriophage, decontamination, meat semi-product, pork, 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 meat semi-products (goulash from pork) artificially encapsulated by the bacteria Bacillus megaterium. Experimentally, it was found that after 72 hours from the beginning of the experiment in 25 g of the original pork goulash sample, the presence of a bacterium of the species Bacillus megaterium was not recorded. The bacteriophage titer decreased from 0, 9x10⁹ BOE/ml after 6 hours from the start of the experiment to 2, 0x10⁴ BOE/ml on the 7 day of the experiment.