

УДК 65.09.05

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ *VACILLUS COAGULANS*

Белова К.В., студентка 5 курса, факультета ветеринарной медицины
Научный руководитель - Феоктистова Н.А., кандидат биологических наук, доцент

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А Столыпина»

Ключевые слова: пробы пищевых продуктов, *Vacillus coagulans*, плоско-кислая порча, бациллы, термофилы, биологические свойства

Аннотация. В статье представлен обзор литературных данных проблеме характеристики основных биологических свойств бактерий вида *Vacillus coagulans*, описаны признаки плоско-кислой порчи пищевых продуктов, вызываемые вышеуказанными бактериями.

По литературным данным термофильные микроорганизмы выделены в отдельную группу вследствие своей способности существовать при высоких температурах порядка (50-60)°С и выше. Эта обширная группа включает микроорганизмы, относящиеся к родам *Bacillus* и *Clostridium*. Они обладают высокой биохимической активностью. Обмен веществ в бактериальных клетках вышеуказанной микрофлоры происходит в 7-14 раз быстрее, чем у мезофильных микроорганизмов. Известно, что они обладают высокой сахаролитической активностью, могут разлагать большинство углеводов. Продукты метаболизма термофильных бацилл – это уксусная, муравьиная, масляная, молочная кислоты [1,2].

Термофильные клостридии разлагают углеводы с обильным газообразованием (H_2 , CO_2). Сульфатредуцирующие бациллы разлагают белки с образованием сероводорода. Процессы роста и размножения у термофильных микроорганизмов происходят в 2-3 раза быстрее, чем у мезофильных. Продолжительность лаг-фазы очень короткая, клетки начинают размножаться через 15 мин после внесения их в питательную среду (или продукт). Время генерации при 65°С составляет (15-16) мин, при 70°С - (13-14) мин. (Время генерации - это время, необходимое для одного цикла деления клеток). Вызывают «плоско-кислую» порчу, бомбаж и сероводородную порчу.

«Плоско-кислую» порчу вызывают термофильные бациллы. Наиболее часто выделяемым возбудителем этого порока плодоовощных консервов являются представители вида *Vacillus coagulans*. Бактерии, вызывающие плоско-кислую порчу, являются факультативными анаэробами почвенного происхождения.

Bacillus coagulans относят к термотолерантным микроорганизмам. Они могут расти как при 37°C, так и при 55°C. Это палочковидные бактерии. Морфологически клетки разных штаммов могут различаться. Грамположительные, подвижны, факультативные анаэробы, споры эллипсоидальные, центральные или терминальные. Диаметр спор незначительно превышает диаметр клеток. Сбраживают углеводы с образованием уксусной, молочной и масляной кислот. Менее термоустойчивы по сравнению с бациллами группы. *Bacillus stearothermophilus*, но более кислотоустойчивы. Могут развиваться в среде с pH 4,0. Споры некоторых штаммов в продуктах с pH 4,4...4,5 могут выдерживать нагревание при 120°C в течение (22-30) мин. Бациллы группы *Bacillus coagulans* вызывают прокисание неконцентрированных томатопродуктов, закусочных консервов и других продуктов с pH 4,0-5,0. Появляется посторонний лекарственный запах, на границе продукта и тары появляется пристенное кольцо, на дне банки - серовато - белый осадок.

В томатном соке они растут лучше всего при температуре 54,4-60,0° С. Термоустойчивость спор микроорганизма, вызывающего эту порчу, очень различается в зависимости от штамма бактерий. Изучение термоустойчивости, о которой сообщил Берри, при использовании концентрации спор 10 млн./мл при прогреве в томатном соке с pH 4,5 позволило установить значение Fo (время отмирания в минутах при 121°C), равное 0,33 мин. Эти результаты основаны на данных выращивания культуры после прогрева, но не на результатах инкубации. Вессел и Беньямин сообщили, что в опытах при использовании кратковременных (мгновенных) процессов со свежим томатным соком, инокулированным *Bacillus coagulans* (20000 спор на 1 мл), отмирание было почти полным в соке, подвергнутом кратковременному прогреву; при расчете стерилизующего эффекта время отмирания равнялось 0,73 мин при 121° С и было определено полным при 1,1 мин. Согнефест и Джексон указывают, что практически все штаммы гибнут при стерилизации в течение 0,7 мин при 121° С, и выбор стерилизации, соответствующей 0,7 мин при 121° С, видимо, является обоснованным для применения в промышленности метода кратковременной стерилизации [8].

Проведенные в последнее время исследования причин плоско-кислой порчи томатного сока показали, что термоустойчивость вызывающего порчу микроорганизма в соке составляет от 5 до 37 мин при 94° С и от 1 до 10 мин при 100° С, что основано на результатах опытов. Максимальная термоустойчивость спор, содержащихся в количестве 10 000 в 1 мл, ниже 0,7 мин при 121,1° С. Из этих данных очевидно, что только прогревая томатный сок при 94-95° С, укрупняя его и выдерживая при этой температуре короткий период времени, нельзя уничтожить микроорганизмы с более высокой термоустойчивостью, вызывающие плоское скисание. Так, выдерживание сока 3 мин, достаточное для пастеризации

его после закатки и перед охлаждением, недостаточно для уничтожения термоустойчивых, вызывающих плоское скисание спор, если они присутствуют в соке [3].

Размеры клеток (0,3-0,5)х(0,7-1,0)мкм. Грамположительны, реже грамвариабельны. Споры эллипсоидальные терминальные. Диаметр спор превышает диаметр клетки. На жидких питательных средах колонии образуют плотный белый осадок, который при встряхивании поднимается в виде спирали. Иногда появляется нежная пленка, частично покрывающая поверхность питательной среды. На агаризованных средах образуют мелкие сероватые колонии с плотным центром. На среде с индикатором бромкрезоловый пурпурный вокруг колонии образуется желтый ореол в результате изменения цвета индикатора в среде, подкисленной продуктами метаболизма бацилл. Споры термофильных бацилл более термостойки, чем споры мезофильных бацилл. Штаммы этих бацилл используют в качестве тест-культур при разработке режимов стерилизации низкокислотных консервов с рН > 5,2.

Естественным местом обитания *Bacillus coagulans* является почва, откуда они попадают на консервируемое растительное сырье, вспомогательные материалы, технологическое оборудование. Поскольку при производстве консервов многие технологические операции проводят при повышенной температуре, в консервируемом продукте создаются благоприятные условия для развития термофильных микроорганизмов [5].

«Плоско-кислой» порчи особенно подвержены низкокислотные консервы, у которых рН превышает 5,2. Это консервы из зеленого горошка, сахарной кукурузы, фасоли, пюреобразные консервы для детского и диетического питания из кабачков, тыквы и др. Известны также случаи порчи термофильными бациллами мяса тушеного, икры баклажанной и кабачковой, гороха в томатной заливке [6].

Прокисший продукт может быть слегка разжижен, в дальнейшем идет его расслоение, в пюреобразных продуктах появляется крупитчатость. Жидкая часть продукта мутнеет. Величина рН продукта значительно понижается - это один из основных показателей, по которому можно судить о развитии в консервах кислотообразующих термофилов. Под влиянием продуктов метаболизма кислотообразующие бациллы гибнут и не всегда выявляются при посеве испорченных консервов. Томатный сок, подвергаясь такой порче, приобретает несвойственный ему запах и привкус. Этот привкус описан как «медицинский», слабо-кислый, прокисший, очень неприятный, зависящий от степени порчи [4].

Как указывает термин, при плоско-кислой порче банки не вздуваются и до их вскрытия нет признаков, по которым можно определить этот вид порчи. Установлено, что образование газа при росте этого микроорганизма не наблюдается или оно такое слабое, что вакуум изменяется незначительно (в тех случаях, которые были исследованы). Таким образом, отсутствует возможность отбраковать испорченные банки при определении вакуума или методами, основанными

ми на прогреве, что иногда достигается при определении плоско-кислой порчи некислотных овощных консервов. В качестве первого признака роста этого микроорганизма в большинстве случаев наблюдается выраженный привкус и запах, за которыми следуют нарастание кислотности и изменение в цвете как признаки прогрессирования порчи. Однажды отмеченные неприятный запах или очень резкая кислотность являются признаками порчи, что легко распознать. При росте этого микроорганизма в томатном соке рН падает с 4,5 до 3,5 [6].

В большинстве районов США и Канады, где выращиваются томаты, в продолжение нескольких последних лет наблюдается повышение рН не подвергшихся обработке томатов (сырья), в некоторых случаях превышающее 4,5. Это значение рН - хорошо установленный фактор, влияющий на термоустойчивость бактерий и их способность к прорастанию. Чем ниже рН, тем ниже их термоустойчивость. Педерсон и Беккер детально изучили критические значения рН для прорастания в томатном соке спор *V.coagulans* и показали, что для прорастания необходимо постепенное повышение рН, если длительность прогрева увеличена. Эти повышенные значения рН томатного сырья увеличивают опасность плоскокислой порчи и делают необходимым применение более жестких режимов. Плоскокислая порча наиболее характерная для томатного сока с рН 4,35 и выше, хотя споры некоторых штаммов, как сообщалось, прорастали и росли, вызывая порчу сока с рН 4,1. Нок и др. сообщили, что не подвергавшийся прогреву штамм *Bacillus coagulans* (из штаммов, выделенных в Южной Африке) прорастает в томатном соке с рН 4,28 [8].

Раис и Педерсон исследовали влияние концентрации спор *Bacillus coagulans* при инфицировании томатного сока и сообщили, что минимальное значение рН, при котором возможен рост, зависит от концентрации спор (табл. 1). Эти данные показывают, что при высоком уровне загрязнения для задержки прорастания спор требуется значительно более низкий уровень рН, и наоборот, если загрязнение небольшое, но рН сока высокий, то возможна порча. Некоторые исследователи считают, что при определенных условиях к порче может привести и низкая концентрация спор бактерий - возбудителей плоского скисания.

Уайт [8] сообщил о плоскокислой порче сока с исходными рН 4,40 при содержании 1-3 споры в 1 мл (табл.1).

Плоско-кислая порча такого типа наблюдается почти ежегодно, существенно снижая экономическую эффективность консервного производства [7].

На базе кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ в течение семи лет занимаются изучением биологических свойств бактерий рода *Bacillus* и специфических им бактериофагов с целью создания биопрепаратов для индикации и идентификации в объектах окружающей среды, в том числе и продуктах питания [9-16].

Таблица 1 - Соотношение между концентрацией спор и самым низки значением pH, при котором возможен рост

Номер культуры	Концентрация спор в 1 мл	Минимальное значение pH, при котором возможен рост
710	65 000000	4,24
	650 000	4,31
	6 500	4,37
	650	4,41
43P	22 000 000	4,19
	22 000	4,24
	220	4,31
	22	4,37

Библиографический список:

1. Затула, Д.Г. Влияние метаболитов споровых сапрофитных бактерий на организм человека и животных / Д.Г. Затула, С.Р. Резник. – Киев: Изд. «Наукова Думка», 1973. – С.75-98.
2. Клевакин, В. М. Санитарная микробиология пищевых продуктов / В.М. Клевакин, В.В. Карцев. – Л.: Медицина, 1986. – С. 34-45.
3. Сидоров, М.А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов: справочник / М.А. Сидоров. – М.: Колос, 1995. – С.104–112.
4. Смирнов, В.В. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных / В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.Б. Сорокулова. – Киев: Наукова думка, 1983. – С. 51.
5. Мюллер, Г.М. Микробиология пищевых продуктов растительного происхождения. Пер с нем. / Г.М. Мюллер, П. Литц, Г. Мюнх – М.: Пищевая промышленность, 2977. - 300 с.
6. Вербина, Н.М. Микробиология пищевых производств / Н.М. Вербина, Ю.В. Каптерева. – М.: Агропромиздат, 1988.- 256 с.
7. Анализ и оценка качества консервов по микробиологическим показателям/ под ред. Мазохиной-Поршняковой Н.Н. – М.: Пищ.пром-ть, 1977. – 471 с.
8. Помидоры – URL: <http://pomidorpro.ru> – дата обращения 23.02.2015 г.
9. Райчинец, Ю.А. Методика выделения *Paenibacillus larvae* / Ю.А. Райчинец, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 5. - С. 599.
10. Райчинец, Ю.А. Перспективы применения бактериофагов для биоиндикации возбудителя американского гнильца пчел / Ю.А. Райчинец, Е.И. Климушкин,

- Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина [и др.] // «Экология родного края: проблемы и пути их решения»: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров, 2014. - С. 344-345.
11. Романова, Н.А. Сравнительная эффективность методов выделения фагов бактерий *Bacillus megaterium* / Н.А. Романова, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин [и др.] // Вестник ветеринарии. - 2013. - № 1 (64). - С. 26-27.
 12. Феоктистова, Н.А. Перспективы применения бактериофагов рода *Bacillus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Юдина [и др.] // В сборнике: Настоящее и будущее биотехнологии в решении проблем экологии, медицины, сельского, лесного хозяйства и промышленности Научно-практический семинар с международным участием. – Ульяновск: УлГУ, 2011. - С. 136-139.
 13. Феоктистова, Н.А. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - № 1 (25). - С. 68-76.
 14. Феоктистова, Н.А. Диагностика картофельной болезни хлеба, вызываемой бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* / Н.А. Феоктистова, А.И. Мустафин, Д.А. Васильев [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 3 (15). – С.61-68.
 15. Феоктистова, Н.А. Разработка схемы исследования материала с целью выделения и ускоренной идентификации бактерий видов *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis* / Н.А. Феоктистова, А.И. Мустафин, А.И. Калдыркаев // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. - № 4(32). - С. 288-291.
 16. Феоктистова, Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения / автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Саратов, 2006. – С. 6.

CHARACTERISTIC OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIA OF *BACILLUS COAGULANS*

Belova K.V., Feoktistova N.A.

Keywords: tests of foodstuff, *Bacillus coagulans*, flat and sour damage, bacilli, thermophiles, biological properties

Summary. The review of literary data is presented to a problem of the characteristic of the main biological properties of bacteria of a type of *Bacillus coagulans* in article, the signs of flat and sour damage of foodstuff caused by the above-named bacteria are described.