

УДК 602.3:579.8

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ОБНАРУЖЕНИЯ КОНТАМИНАНТОВ МОЛОКА-СЫРЬЯ, БАКТЕРИЙ BACILLUS MEGATERIUM, В СЫРОДЕЛИИ

*Голякевич О., Гранкина Н., Симурзина О., Палаткина Н.,
Панина Н. - студентки 2 курса факультета ветеринарной
медицины
Научные руководители – Феоктистова Н.А., к.б.н., доцент,
Лыдина М.А., к.б.н., старший преподаватель
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*

Ключевые слова: *молоко, сыр, производство, контаминация, порча, Bacillus megaterium, метод*

Результаты проведенных исследований по детекции бактерий Bacillus megaterium в искусственно контаминированных пробах молока (концентрация бактерий Bacillus megaterium 10³ КОЕ/мл) свидетельствуют о более высокой чувствительности РНФ (26 часов) при обнаружении данных бактерий в сравнении с бактериологическим методом исследования, чувствительность которого не позволила обнаружить бактерии Bacillus megaterium в двух пробах из трех (концентрация бактерий – 10³ КОЕ/мл).

Для молока и молочных продуктов споровые аэробные микроорганизмы являются микрофлорой порчи. Сильные протеолитические и липолитические системы микроорганизмов приводят к порокам вкуса (горький, прогорклый, неспецифический) и снижению доброкачественности молочных продуктов при хранении [1,3-4, 7, 9, 10-12].

Анализ нормативно-технической документации свидетельствует, что для молочных продуктов споровые аэробные микроорганизмы не являются санитарно-показательными, поэтому не нормируются и не подлежат обязательному контролю в условиях производственных лабораторий. Однако при появлении ряда характерных пороков вкуса и внешнего вида молочных продуктов и снижении хранимоспособности рекомендуется в порядке усиленного контроля делать посевы 2–4 разведения продукта (после прогрева при 70–80°C в течение 20–10 мин для уничтожения вегетативных клеток) для анализа неспецифической микрофлоры через 72 часа культивирования при 30 °C [10-12].

Целью настоящей исследовательской работы стало совершенствование метода обнаружения контаминантов молока-сырья, бактерий *Bacillus megaterium*, в сыроделии.

Первоначально, для конструирования биопрепаратов для биосенсорной детекции бактерий *Bacillus megaterium* было отобрано два фага V.meg – 2 и V.meg – 11 серии УГСХА, которые характеризовались высокими показателями литической активности и максимально широким совместным спектром литического действия. В качестве индикаторных культур использовали *Bacillus megaterium* 3 для фага V.meg – 11 серии УГСХА и *Bacillus megaterium* 18 для фага V.meg – 2 серии УГСХА [2]. Методика была отработана Феоктистовой Н.А. [8].

Второй этап исследований: были проведены эксперименты постановки реакции нарастания титра фага на мясо-пептонном бульоне (МПБ), контаминированном 18 часовой индикаторной культурой (*Bacillus megaterium* 3, *Bacillus megaterium* 18) в концентрации 10^3 КОЕ/мл. В качестве контроля применяли стерильный МПБ. Для каждого опыта использовали по три комплекта из 3 пробирок.

Учет результатов проводили согласно оценке, предложенной В.Я. Ганюшкиным (1988) и модифицированной Калдыркаевым А.И. [5-6]. Если увеличение количества корпускул бактериофага *Bacillus megaterium* в опытной пробе по отношению к количеству корпускул бактериофага в контроле составляло менее 5 раз, то реакция считалась положительной, если менее, то сомнительной. Экспериментальным путем нами установлено, что количество бляшкообразующих единиц в опыте, более чем в 5 раз превышает количество бляшкообразующих единиц в контроле.

Результаты эксперимента свидетельствуют, что 26 часов – это оптимальный временной параметр постановки (РНФ): 0,5 часа – подготовка реакции + 7 часов – время экспозиции субстрата с фагом + 0,5 часа – время, затрачиваемое на постановку эксперимента + 18 часов – время термостатирования посевов).

Третьим этапом наших исследований была отработка схемы постановки РНФ для биосенсорной детекции бактерий *Bacillus megaterium* с использованием фагового биопрепарата в молоке-сырье. Для постановки эксперимента было использовано 4 пробы молока.

Первая проба молока была использована для отработки параметров постановки РНФ на бактериофаге V.meg – 11 серии УГСХА. Пробу молока в объеме 10 мл вносили в колбу со МПБ (соотношение 1:10) и искусственно контаминировали 18-ти часовым штаммом *Bacillus*

megaterium 3 в концентрации 10^3 КОЕ/мл. Статистически обработанные результаты исследований представлены в таблице 1.

Были проведены исследования проб молока, искусственно контаминированных бактериями *Bacillus megaterium* в концентрации 10^3 КОЕ/мл, бактериологическим методом и РНФ с помощью сконструированного биопрепарата на основе бактериофагов *B.meg* – 11 и *B.meg* – 2 серии УГСХА серии УГСХА.

Результаты проведенных исследований по детекции бактерий *Bacillus megaterium* в искусственно контаминированных пробах молока (концентрация бактерий *Bacillus megaterium* 10^3 КОЕ/мл) свидетельствуют о более высокой чувствительности РНФ (26 часов) при обнаружении данных бактерий в сравнении с бактериологическим методом исследования, чувствительность которого не позволила обнаружить бактерии *Bacillus megaterium* в двух пробах из трех (концентрация бактерий – 10^3 КОЕ/мл).

Однако, до настоящего времени влияние спорных аэробных микроорганизмов на качество и хранимоспособность молочных продуктов, в частности сыра, масла и плавящихся сыров, считалось незначительным в связи с отсутствием в данных продуктах свободного кислорода и использования низкотемпературных режимов хранения. НИР, проводимые в отделе микробиологии ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии в последние годы, позволили установить, что споровые аэробные микроорганизмы (*Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium*) являются значимыми микроорганизмами порчи для молочных продуктов. Основным источником их попадания в молоко - первичное обсеменение с объектов окружающей среды, кормов, из почвы. Пастеризация не снижает уровень исходного обсеменения, а анаэробные условия и низкие температуры хранения задерживают, но не предотвращают развитие данной группы микроорганизмов [12].

Исходя из выше изложенного, разработанный нами метод детекции *Bacillus megaterium*, может быть с успехом использован на этапе приемочного контроля качества молока-сырья.

Библиографический список:

1. Петрукова, Н.А. Биоиндикация содержания бактерий *Bacillus megaterium* в молоке и молочных продуктах / Н.А. Петрукова, Н.А. Фектистова, М.А. Лыдина [и др.] // Экология родного края: проблемы и пути их решения: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - 2014. - с. 375-377.

2. 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.

3. Васильев, Д.А. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis* в объектах санитарного надзора / Феоктистова Н.А., Калдыркаев А.И., Васильев Д.А. [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - № 1 (25). - С. 68-76.

4. Васильев, Д.А. Фагоидентификация бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus* / Феоктистова Н.А., Калдыркаев А.И., Васильев Д.А. [и др.] // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. - С. 126-131.

5. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров *Bacillus cereus* / Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А., Васильев Д.А. [и др.] // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения Материалы V Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. - С. 178-185.

6. Калдыркаев, А.И. Биохимические свойства бактерий *Bacillus cereus* / Калдыркаев А.И., Алешкин А.В., Феоктистова Н.А. [и др.] // Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве/ - Саратов, 2013. - С. 186-188.

7. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров бактерий *Bacillus cereus* для идентификации и мониторинга данного микроорганизма / Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А., Алешкин А.В. // Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. Коллектив авторов под ред. Васильев Д.А., Золотухин С.Н. - Ульяновск, 2013. - С. 211-225.

8. Феоктистова, Н.А. Выделение фагов бактерий вида *Bacillus cereus* / Меркулова Е.В., Феоктистова Н.А., Юдина М.А. [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. – Ульяновск, 2012. - С. 14-17.

9. Феоктистова, Н.А. Заболевания, вызываемые бактериями вида *Bacillus cereus* / Садеева Н.Т., Меркулова Е.В., Феоктистова Н.А. [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. – Ульяновск, 2012. С. 25-30.

10. Феоктистова, Н.А. Перспективы применения бактериофагов рода *Bacillus* / Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Меркулов А.В. [и др.] // Настоящее и будущее биотехнологии в решении проблем экологии, медицины, сельского, лесного хозяйства и промышленности Научно-практический семинар с международным участием. – Ульяновск, 2011. – С. 136-139.

11. Феоктистова, Н.А. Перспективы применения бактериофагов для индикации и идентификации бактерий вида *Bacillus cereus* в речной воде и рыбе / Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Юдина М.А. [и др.] // Задачи ветеринарной науки в реализации доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации. – Ульяновск, 2011. – С. 175-180.

12. Феоктистова Н.А. Теоретические основы товароведения и экспертизы. Учебно-методический комплекс // Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, О.М. Ягфаров. Том 1. – Ульяновск: УГСХА, 2008. – С. 144.

IMPROVEMENT OF THE METHOD OF DETECTION OF CONTAMINANTS OF MILK RAW MATERIALS, BACILLUS MEGATERIUM BACTERIA, IN CHEESE MAKING

*Golyakevich O., Grankina N., Simurzina O., Palatkina N., Panina N. - students 2 courses of faculty of veterinary medicine
Research supervisors – Feoktistova N. A., Lydina M. A.
FGBOU VPO “The Ulyanovsk GSHA of P. A. Stolypin”*

Keywords: *milk, cheese, production, kontamination, damage, Bacillus megaterium, method*

Results of the conducted researches on detection of bacteria of Bacillus megaterium in artificially kontaminirovannykh milk tests (concentration of bacteria of Bacillus megaterium 10^3) testify to higher sensitivity of RNF (26 hours) at detection of these bacteria in comparison with a bacteriological method of research which sensitivity didn't allow to find Bacillus megaterium bacterium in two tests from three (concentration of bacteria – 10^3).