

ВЫЯВЛЕНИЕ БАЦИЛЛ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРЧУ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ (БВППП) БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Н.А. Феокистова, кандидат биологических наук, доцент¹

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор¹

Т.А. Юдина, доктор биологических наук, доцент²

С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор¹

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»¹

ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»²

Ключевые слова: какао-порошок, порча продуктов питания, бациллы, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus (pumilus)*, *Bacillus megaterium*, бактериофаги, методика, культура.

В статье представлены результаты исследований по подбору оптимальной методики для изучения качественного и количественного состава бацилл, вызывающих порчу продуктов питания на основе какао-порошка, как одного из основных компонентов рецептуры кондитерских изделий. Микробиологическая оценка качества какао-порошка, проведенная нами по 11 партиям, показала, что количество бактерий рода *Bacillus* в исследованных пробах какао-порошка изменяется в пределах от $5,1 \times 10^2$ КОЕ/г до $6,2 \times 10^5$ КОЕ/г. Изученные биологические свойства выделенных культур позволили отнести их к видам *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*. Показано, что срок бактериологического исследования по традиционной схеме выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы (Gordon, 1973), составляет 107 часов при значительных экономических затратах. Применение «Ключа для первичной дифференциации бактерий рода *Bacillus*» занимает 77 часов. Схема фагоидентификации составляет 29 часов. Эффективность применения трех методик аналогичная.

Считалось, что кондитерские изделия из-за большой концентрации сахара (осмотического давления), применяемого при производстве, могут не вызывать опасений на предмет бактериологической опасности. Однако, в последнее десятилетие экспертами Всемирной организации здравоохранения в рамках Комиссии Кодекс Алиментариус создана классификация пищевых продуктов – причин пищевых отравлений бактериальной этиологии, которая отнесла какао-порошок, шоколад, шоколадные изделия, какао-продукты и шоколадные конфеты ко второй категории, т.е. они являются оптимальной средой для культивирования возбудителей токсикоинфекций и токсикозов [5, 12].

Безопасность пищевых продуктов, в частности кондитерских изделий и полуфабрикатов, в настоящее время оценивается по 4 группам микроорганизмов, куда входят санитарно-показательные (КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов) и БГКП (бактерий группы кишечной

палочки)), патогенные (в том числе *Salmonella*), плесени и дрожжи и условно-патогенные (*Staph. aureus*, *Bacillus cereus* и др.) [9].

Из литературных данных известно, что спорообразующие аэробные бактерии, к которым относятся бактерии *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, являются активными продуцентами разнообразных гидролитических ферментов и используют в качестве питательных вещества белки, жиры, углеводы, глюкозиды, спирты и органические кислоты [4-7]. Повышенное содержание бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) является причиной изменения органолептических свойств сырья, полуфабрикатов и готовых кондитерских изделий, основным рецептурным компонентом которых является какао-порошок, что сказывается на сроках годности и доброкачественности готовой продукции.

Цель и задачи исследований. Цель наших исследований - изучение качественного (видовой

состав бактерий) и количественного состава БВППП какао-порошка различных партий.

Задачи:

- подобрать оптимальную методику (по временным и экономическим показателям) для изучения качественного и количественного состава БВППП какао-порошка;

- определить количество БВППП какао-порошка;

- изучить видовое разнообразие БВППП какао-порошка, включая патогенный для человека вид *Bacillus cereus*.

Материалы и методы исследований. В соответствии с рекомендациями Международной комиссии по микробиологическим спецификациям пищевых продуктов ICMSF оценка качества какао-порошка проводилась по 11 партиям, из средней пробы каждой партии брались 3 навески, которые высевались в двух повторностях. 1-7 партия – какао-порошок производства Россия; 8-11 – импортного производства.

Для выделения БВППП использовали две схемы дифференциации бактерий рода *Bacillus* (по методикам Gordon R. [14] и R.A. Slepecky, H.T. Hemphill [13]), которые включали обширный список биохимических свойств (табл. 3 и рис. 2).

Фагодентификацию бактерий рода *Bacillus* осуществляли по методикам, модифицированным Васильевым Д.А., Золотухиным С.Н. с соавт. [3-4, 8,10]. Статистическую обработку результатов опытов проводили с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0. (for Windows; «Stat Soft Ins.», США), Microsoft Excel 2003 (for Windows XP).

В исследовании применяли разработанные нами фаговые биопрепараты на основе Phagum *Bacillus megaterium* Bm – 10 УГСХА-Деп и Phagum *Bacillus megaterium* Bm – 1 УГСХА-Деп для идентификации *Bacillus megaterium*; Phagum *Bacillus subtilis* Bs – 13 УГСХА-Деп и Phagum *Bacillus subtilis* Bs – 16 УГСХА-Деп для идентификации *Bacillus subtilis*; Phagum *Bacillus mycoides* B. мус – 3 УГСХА-Деп и Phagum *Bacillus mycoides* B.мус–5 УГСХА-Деп *Bacillus mycoides* для идентификации *Bacillus mycoides*; Phagum *Bacillus mesentericus (pumilus)* Bm – 3 УГСХА-Деп и Phagum *Bacillus mesentericus (pumilus)* Bm – 8 УГСХА-Деп для идентификации *Bacillus mesentericus (pumilus)*, выделены и изучены нами.

При подготовке культур для исследования с помощью просвечивающей электронной микроскопии клетки и эндоспоры фиксировали 2 ч. в 0,1 М фосфатном буферном растворе, pH 7,2 с 2,5%-ным глутаровым альдегидом. Затем

образцы отмывали 2 раза в этом же буфере и помещали на 3 ч. в 1%-ный раствор OsO₄. После этого препараты отмывали 3 раза в 50%-ном этаноле (пока раствор не становился прозрачным). Образцы оставляли на ночь при 4°C в 2%-ном растворе уранилацетата в 70%-ном этаноле. Проводку в спиртах заканчивали: в 70%-ном – 2 раза по 30 мин.; в 96%-ном – 1 раз 1ч.; в абсолютном спирте (100%-ном) – 1 ч. Затем обезвоживание проводили в абсолютном (абс.) ацетоне – 2 раза по 30 мин. Заливку и пропитку препаратов в смолах Эпон проводили одним из общепринятых способов [6]. Срезы на формваровых пленках просматривали в ТЭМ «Geol 1011», (Япония) при ускоряющем напряжении 80 kV, после их контрастирования уранилацетатом и реактивом Рейнольса.

Результаты исследований. Известно, что технология производства какао-порошка требует охлаждения жмыха до 20°C и отделения крупных частиц в воздушно-инерционных классификаторах, что «заставляет» бактериальную клетку образовывать споры, с последующей длительной лаг-фазой для прорастания. Поэтому, первоначально каждая навеска была подвергнута термостатированию при 37°C в течение 10-18 часов для перехода споровой формы искомым бактериям в вегетативную (соотношение 1:10 в среде обогащения ((Claus, 1955)). В 100 см³ дистиллированной воды растворяли 10 г KNO₃, 5 г пептона, 3 г мясного экстракта. Устанавливали pH 7,0, разливали в пробирки по 9 мл. стерилизовали при 120°C 15 минут.

Далее из предварительно «подрощеного» материала делали ряд последовательных десятикратных разведений: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴. 1 мл разведения высевался на чашку Петри при добавлении 9 мл мясо-пептонного агара с глюкозой и дрожжевым экстрактом температурой 38-42°C и производили посев штрихом на среду Донована, которую готовили без добавления полимиксина. Посевы культивировали в условиях термостата в течение 18 часов. Результаты исследований представлены в таблице 1 и показывают, что количество БВППП в исследованных пробах какао-порошка изменяется в пределах от 5,1x10²КОЕ/г до 6,2x10⁵КОЕ/г.

С чашек Петри было взято для дальнейших исследований по 1-2 типичных для изучаемых бактерий колонии. Выделение «чистой культуры» проводили по методу Дригальского.

У выделенных культур были изучены тинкториальные свойства. Установлено, что все выделенные бактерии – это крупные грамположительные

Таблица 1 – Количество бактерий, выделенных из проб какао-порошка

Номер пробы	Количество БВП, КОЕ/г	Номер пробы	Количество БВП, КОЕ/г
1	$3,6 \times 10^4 \pm 0,6 \times 10^4$	7	$1,6 \times 10^4 \pm 0,4 \times 10^4$
2	$6,2 \times 10^5 \pm 1,1 \times 10^5$	8	$7,4 \times 10^2 \pm 1,6 \times 10^2$
3	$0,8 \times 10^5 \pm 0,1 \times 10^5$	9	$4,0 \times 10^3 \pm 0,8 \times 10^3$
4	$1,9 \times 10^4 \pm 0,5 \times 10^4$	10	$5,1 \times 10^2 \pm 1,3 \times 10^2$
5	$4,9 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^3$	11	$6,4 \times 10^2 \pm 1,5 \times 10^2$
6	$6,7 \times 10^3 \pm 0,9 \times 10^3$		

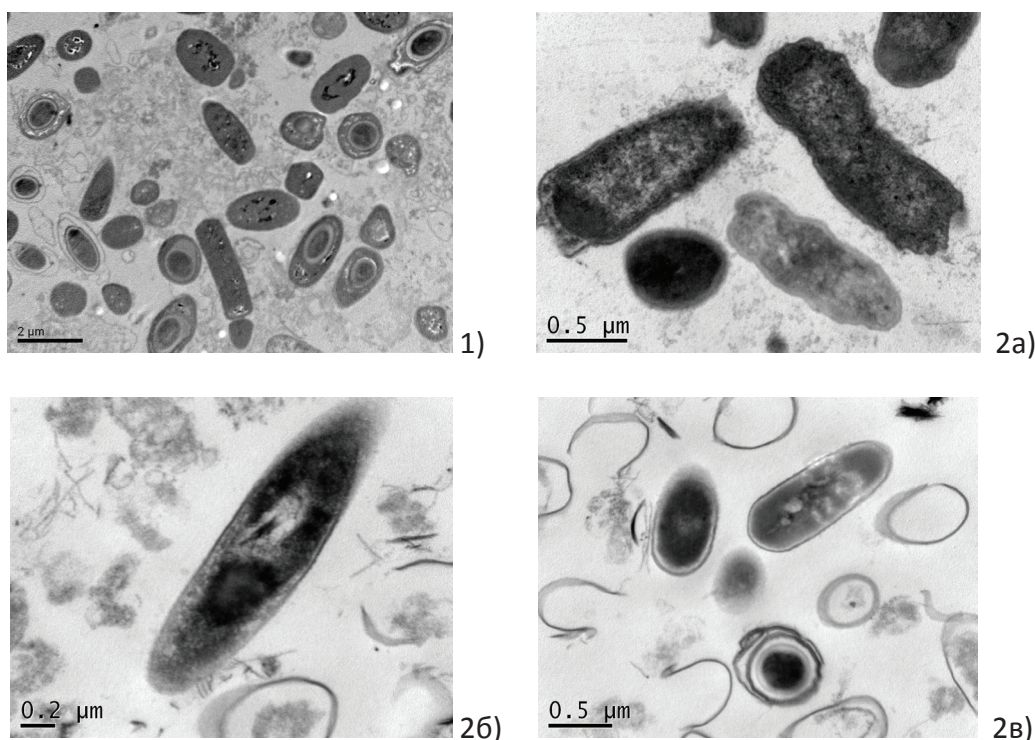


Рисунок 1 - Вид срезов клеток и эндоспор *Bacillus cereus* (1) и *Bacillus mycoides* (2 а, б, в) в просвечивающем электронном микроскопе (ТЭМ):

– общая картина спорующей культуры *B. cereus*; видны клетки начала стационарной фазы роста, клетки с образующимися внутри эндоспорами, а также свободные эндоспоры;

а) – клетки *B. mycoides* конца экспоненциальной – начала стационарной фазы роста; б) - клетка *B. mycoides* с образующейся проспорой, остатки лизировавшихся клеток; в) – срез эндоспоры, клеток и остатков лизировавшихся клеток *B. mycoides*.

палочки, расположенные цепочками или попарно, кислотоустойчивые. Изучение срезов клеток и эндоспор двух видов выделенных культур с помощью трансмиссионного электронного микроскопа (ТЭМ) подтвердило, что морфология и размеры их клеток и эндоспор типичны для этих видов (рис. 1).

На рис. 1 приведен вид в просвечивающем электронном микроскопе (ТЭМ) срезов клеток и эндоспор *Bacillus cereus* (1) и *Bacillus mycoides* (2 а, б, в). Культуры фиксированы в начале стационарной фазы роста, на стадии спорообразования.

Затем изучаемые культуры были сгруппированы по культуральным свойствам (рост на жидкой и плотной питательных средах) в условные группы, описанные в таблице 2.

Следующий этап исследований был посвящен изучению биохимических свойств выделенных культур. Для типирования мы применяли ключ R.A. Slepescu, H.T. Hemphill [14], разработанный для первичной дифференциации бактерий родов *Bacillus* и *Paenibacillus* (табл.3).

Таблица 2 – Культуральные свойства выделенных бактерий рода *Bacillus*

тип колоний	Характерные культуральные свойства		Количество выделенных культур одного типа
	особенности роста на мясо-пептонном агаре с глюкозой и дрожжевым экстрактом	особенности роста на мясо-пептонном бульоне	
тип 1 (условная группа <i>B. cereus</i>)	Колонии плотной консистенции, белые, восковидные, круглые	Среда мутная, осадок трудноразбиваемый, крошковатый, прочные пленка и пристеночное кольцо. При образовании пленки среда просветляется/	2
тип 2 (условная группа <i>B. megaterium</i>)	Колонии слизистые, желтовато-белые	Растет в виде осадка на дне пробирки с помутнением среды	2
тип 3 (условная группа <i>B. pumilus</i>)	Толстые матово-белые морщинистые колонии	Бульон остается почти прозрачным, на поверхности среды морщинистая пленка	1
тип 4 (условная группа <i>B. mycoides</i>)	Войлоковидные наложения, ползущие по поверхности среды	Помутнения среды нет, на дне ватобразный осадок, пленки не образует	2
тип 5 (условная группа <i>B. subtilis</i>)	Колонии белые или сероватые, морщинистые	Бульон мутный, при образовании пленки среда просветляется	1

Алгоритм применения ключа: при положительном или результате определения какого-либо биохимического свойства следующий этап, рекомендованный авторами, обозначен арабской цифрой по горизонтали и отражен буквенным обозначением по вертикали. Заключительным этапом дифференциации по ключу служит название вида микроорганизма.

Параллельно мы проводили исследования по дифференциации выделенных бактерий по схеме выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы (рис. 2) по классической методике, составляющей основу идентификационных тестов для бактерий рода *Bacillus* в «Определителе бактерий Берджи».

На основе изученных нами биологических свойств выделенные культуры отнесли к видам *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*. Время исследования с применением «Ключа для первичной дифференциации бактерий рода *Bacillus*» составило 77 часов. Исследования по схеме выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы [13] составляет 107 часов. Значительные временные и материальные затраты не позволяют применять данные методики в производственных лабораториях, в виду невозможности остано-

вливать технологический процесс производства кондитерских изделий до получения результата бактериологического исследования с ККТ (критической контрольной точки) системы обеспечения безопасности пищевой продукции НАССР.

С целью оптимизации процесса идентификации бацилл, вызывающих порчу продуктов питания, мы использовали специфические бактериофаги, выделенные и селекционированные нами ранее по отработанной методике фагоидентификации [1-2, 7, 11].

На поверхность подсушенного мясопептонного агара в чашках Петри пастеровской пипеткой наносили 3-4 капли бульонной 10 часовой культуры исследуемых микроорганизмов. Нанесённую культуру равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки ставили в термостат для подсушивания газона культуры на 20-30 минут при 37 °С.

Чашку делили бактериологическим карандашом на шесть секторов. На поверхность засеянной среды, в зоне первого-пятого секторов, пастеровской пипеткой легким прикосновением капли наносили фаги, на шестой сектор в качестве контроля наносили стерильный мясопептонный. Наклоняли чашку, чтобы капли стекли в виде дорожки. Чашки оставляли для подсушивания в боксе на 20-30 минут и помещали в термостат на 18 часов при 37 °С.

Таблица 3 – Ключ для первичной дифференциации бактерий родов *Bacillus* и *Paenibacillus*

1. Каталаза: положительный	2
отрицательный	17
2. Voges-Proskauer: положительный	3
отрицательный	10
3. Рост в анаэробном агаре: положительный	4
отрицательный.	9
4. Рост при 50°C: положительный	5
отрицательный	6
5. Рост в 7% NaCl: положительный	<i>B.licheniformis</i>
отрицательный	<i>B.coagulans</i>
6. Кислота и газ из глюкозы (неорганический N): положительный	<i>B.polymyxa</i>
отрицательный	7
7. Редукция NO ₂ до NO ₃ : положительный	8
отрицательный	<i>Paenibacillus alvei</i>
8. Параспоральное тело в спорангии: положительный	<i>B.thuringiensis</i>
отрицательный	<i>B.cereus</i>
9. Гидролиз крахмала: положительный	<i>B.subtilis</i>
отрицательный	<i>B.pumilus</i>
10. Рост при 65°C: положительный	<i>B.stearothermophilus</i>
отрицательный	11
11. Гидролиз крахмала: положительный	12
отрицательный	15
12. Кислота и газ из глюкозы (неорганический N): положительный	<i>B.macerans</i>
отрицательный	13
13. Ширина палочки 1.0µm или больше: положительный	<i>B.megaterium</i>
отрицательный	14
14. Рост при pH < 6.0: положительный	<i>B.circulans</i>
отрицательный	<i>B.firmus</i>
15. Рост в анаэробных условиях: положительный	<i>B.laterosporus</i>
отрицательный	16
16. Образование кислоты из глюкозы (неорганический азот)	<i>B.brevis</i>
отрицательный	<i>B.sphaericus</i>
17. Рост при 65°C: положительный:	<i>B.stearothermophilus</i>
отрицательный	18
18. Разложение казеина: положительный	<i>P.larvae</i>
отрицательный	19
19. Параспоральное тело в спорангии: положительный	<i>P.popilliae</i>
отрицательный	<i>B.lentimorbus</i>

Таблица 4 – Эффективность методов идентификации бактерий рода *Bacillus*

Методы идентификации бактерий	Время исследования, час	Вид бактерий				
		<i>B.cereus</i>	<i>B.megaterium</i>	<i>B.pumilus</i>	<i>B.mycooides</i>	<i>B.subtilis</i>
Фагоидентификация	29	2	2	1	2	1
«Ключ для первичной дифференциации бактерий рода <i>Bacillus</i> »	77	2	2	1	2	1
Схема выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы	107	2	2	1	2	1

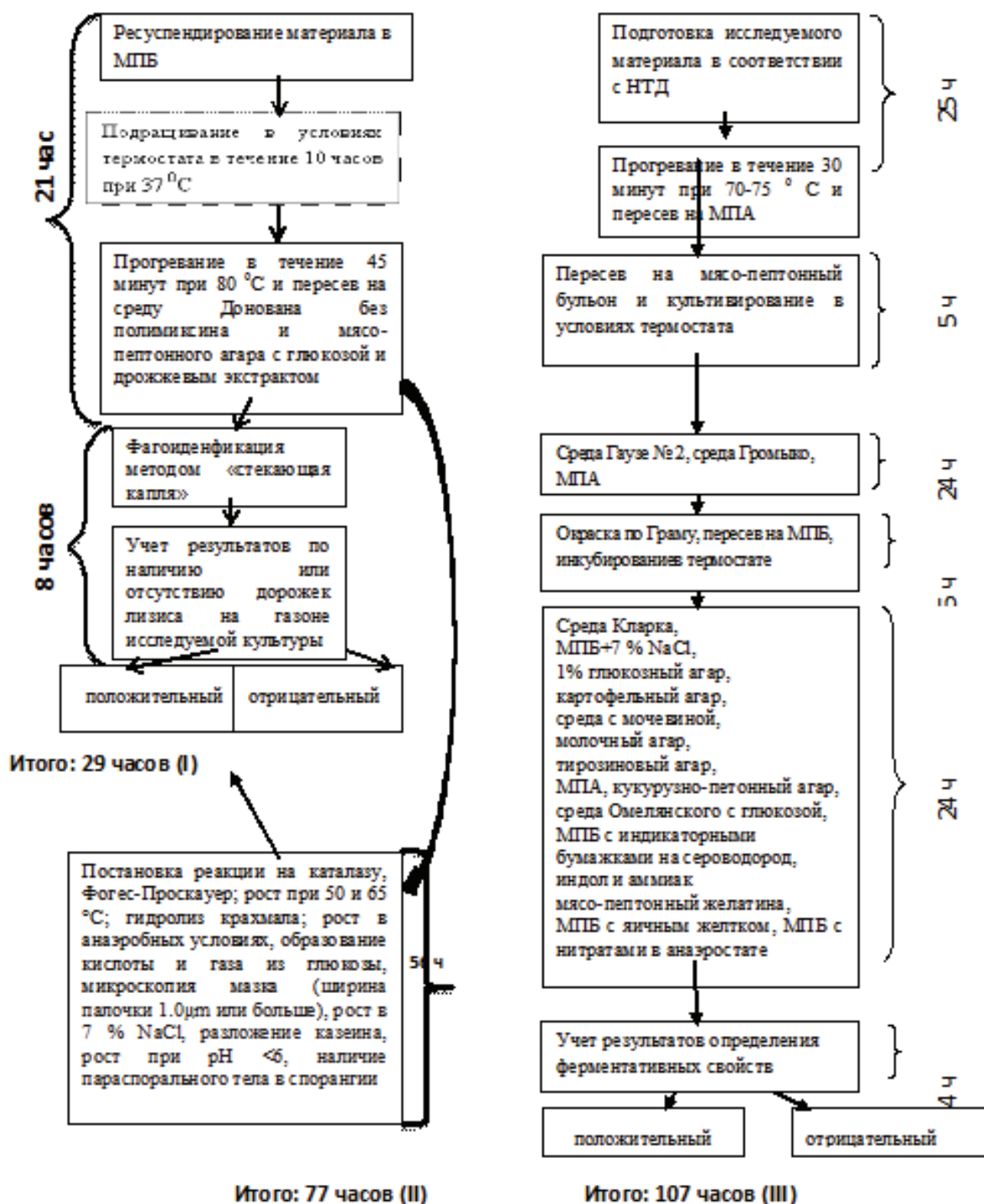


Рисунок 2 - Схема ускоренной идентификации БВП

с помощью селекционированных нами бактериофагов (I) в сравнении со схемой выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы (II) и «Ключом для первичной дифференциации бактерий рода *Bacillus*» (III)

Результат исследований считали положительным, если на месте нанесения фагов на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса с возможно вторичным ростом фагорезистентных микроорганизмов или без него, а также рост негативных колоний фага. Отрицательным считали результат – отсутствие лизиса на газоне роста исследуемой культуры микроорганизмов и отсутствие лизиса в контроле. При положительном результате культуру относили к тому виду бактерий, для которого специфичен «сработавший» бактериофаг.

В таблице 4 представлены результаты фагоидентификации выделенных нами бактерий в сравнении с двумя ранее применяемыми нами методиками. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения специфических бактериофаговых препаратов с целью типирования бактерий рода *Bacillus*, так как сокращение время исследования и снижение трудозатрат на фоне экономии дорогостоящих питательных сред и реактивов, не снижает качества исследования, что было продемонстрировано нами в данном эксперименте.

Заключение. Оценка микробиологических показателей качества какао-порошка проведенная нами по образцам 11 партий, показала, что количество БВППП в исследованных пробах какао-порошка изменяется в пределах от $5,1 \times 10^2$ КОЕ/г до $6,2 \times 10^5$ КОЕ/г. Повышенная контаминация отечественного какао-порошка в сравнении с импортным может, на наш взгляд, объясняться рядом причин.

Во-первых, такие технологические операции, как обжарка и последующее отделение

какаоовеллы – это неотъемлемая часть производства какао-порошка вне зависимости от географического положения, температурные параметры которых недостаточны для инактивации выделенных нами бактерий видов *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, как следствие, речь может идти о наличии в объектах исследований дебактеризаторов.

Во-вторых, контаминация оборудования при дроблении и размоле и сложность санитарной обработки технологической линии приводит к экзогенному загрязнению сырья, полуфабриката и готового продукта БВППП.

Нами доказано, что срок бактериологического исследования по традиционной схеме выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы (Gordon, 1973), составляет 107 часов при значительных экономических затратах. Модифицированная схема ускоренной идентификации БВППП с применением «Ключа для первичной дифференциации бактерий рода *Bacillus*» составляет 77 часов. Схема предлагаемой нами фагоидентификации составляет 29 часов.

На рисунке 2 показана сравнительная характеристика трех методов исследований по идентификации бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП), к которым относятся виды *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*. Также мы предлагаем использовать «Ключ...» в симбиозе с методом фагоидентификации при отрицательном результате фаготипирования выделенной культуры без приостановления исследований.

Библиографический список:

1. Васильев, Д.А. Разработка параметров постановки реакции нарастания титра фага для индикации бактерий *Bacillus mesentericus* в объектах санитарного надзора / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2012. - № 3. - С. 69-73.
2. Васильев, Д.А. Биосенсорная детекция бактерий рода *Bacillus* в молоке и молочных продуктах для предупреждения их порчи / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 4 (24). - С. 36-43.
3. Васильев, Д.А. Характеристика биологических свойств бактериофагов вида *Bacillus subtilis* / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - № 1. - С. 79-83.
4. Калдыркаев, А.И. Разработка системы фаговаров бактерий *Bacillus cereus* для идентификации и мониторинга данного микроорганизма / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин // В книге: «Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека». - Ульяновск, 2013. - С. 211-225.
5. Леонова И.Б. Характеристика качества шоколада и какао-порошка по микробиологическим критериям / автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Россий-

- ская экономическая академия им. Г. В. Плеханова. - Москва, 1993. – С. 3-5.
6. Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии. Учебн. пособие для студ. Вузов / А.И. Нетрусов. - М.: Издат. центр «Академия», 2005. - С. 83 – 93.
 7. Петрукова, Н.А. Биоиндикация содержания бактерий *Bacillus megaterium* в молоке и молочных продуктах / Н.А. Петрукова, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // «Экология родного края: проблемы и пути их решения»: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров, 2014. - С. 375-377.
 8. 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.
 9. Скокан, Л.Г. Технологические аспекты обеспечения качества кондитерских изделий / автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора технических наук /Московский государственный институт пищевых производств. - Москва, 2004. – С. 4-8.
 10. Феоктистова, Н.А. Методы выделения бактериофагов рода *Bacillus* / Н.А. Феоктистова, В.А. Макеев, М.А. Юдина [и др.] // Вестник ветеринарии. - 2011. - Т. 59. - № 4. - С. 88-89.
 11. Феоктистова, Н.А. Разработка схемы исследования материала с целью выделения и ускоренной идентификации бактерий видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus* / Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, А.Х. Мустафин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2011. - Т. 4. - № 32-1. - С. 288-290.
 12. Codex alimentarius. Мед, сахара, какао-продукты и шоколад. – М.: «Весь мир», 2007. – с. 31-37.
 13. Gordon, R. The genus *Bacillus* / R. Gordon // In: Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio), 1973. V.1. P.71–88.
 14. Slepecky, R.A. The Genus *Bacillus*-Nonmedical / R.A. Slepecky, H.T. Hemphill // Prokaryotes. – 2006. - № 4. – P. 530–562.

IDENTIFICATION OF THE BACILLI CAUSING DAMAGE OF FOOD (BVPPP) BY BACTERIOLOGICAL METHODS

N. A. Feoktistova, D. A. Vasilyev, T.A. Yudina, S. N. Zolotukhin

Keywords: *cocoa powder, damage of food, bacilli, Bacillus cereus, Bacillus mycoides, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus (pumilus), Bacillus megaterium, bacteriophages, technique, culture.*

Results of researches on selection of an optimum technique for studying of qualitative and quantitative structure of the bacilli causing damage of food on the basis of cocoa powder as one of the main components of a compounding of confectionery are presented in article. The microbiological assessment of quality of cocoa powder which is carried out by us on 11 parties showed that the quantity of bacteria of the sort Bacillus in the studied tests of cocoa powder changes ranging from 5,1x10²KOE/g to 6,2x10⁵KOE/g. The studied biological properties of the allocated cultures allowed to carry them to types of Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacillus pumilus (mesentericus), Bacillus mycoides, Bacillus megaterium. It is shown that the term of bacteriological research on the traditional scheme of allocation and differentiation of bacilli of the first morphological group (Gordon, 1973), makes 107 hours at considerable economic expenses. Application of “A key for primary differentiation of bacteria of the sort Bacillus” takes 77 hours. The scheme of a fagoidentifikation makes 29 hours. Efficiency of application of three techniques the similar.