

УДК 579.67:664.8.035

И. А. ДЕМБИЦКАЯ, З. Е. ЕГОРОВА, Н. Д. КОЛОМИЕЦ

**МИКРОФЛОРА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ С КОНСЕРВАНТАМИ
И ПРОЦЕССЫ МИКРОБНОЙ ПОРЧИ ПРИ ХРАНЕНИИ***Белорусский государственный технологический университет**Поступила в редакцию 17.10.02*

Анализ структуры современного рынка продуктов питания показывает, что пищевые продукты с консервантами (бензоатом натрия и сорбиновой кислотой) составляют существенную долю в пищевой продукции, производимой в Республике Беларусь и за ее пределами. Тем не менее из литературных источников следует, что микрофлора консервированных химическим способом пищевых продуктов, изготовленных из ягодных культур семейства брусничных и черноплодной рябины, сока березового, соевых майонезов, кетчупов и приправ из пряно-ароматического сырья до сих пор не являлась объектом особого внимания исследователей. Имеющиеся сведения о влиянии консервантов на численность, видовой состав доминирующей микрофлоры и биохимические процессы микробной этиологии, протекающие в этих продуктах при хранении, весьма малочисленны и разрозненны [1–3]. Вместе с тем, согласно выводам международной комиссии «Codex Alimentarius», только в результате таких исследований может быть решена задача обеспечения безопасности продуктов питания и стабильности их свойств при хранении.

Ранее нами было изучено влияние консервантов на дрожжевую и грибную флору пищевых продуктов указанной группы [4, 5]. В настоящей работе приведены данные о численности и видовом разнообразии их бактериальной флоры, устойчивости бактериальных доминантов к действию бензоата натрия и сорбиновой кислоты (минимальные эффективные концентрации консервантов — МЭК) и о процессах бактериальной порчи, протекающих в пищевых продуктах с консервантами при хранении.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований служили микроорганизмы — контаминанты пищевых продуктов, консервированных химическим способом (опытные образцы) и изготовленных без консервантов (контрольные образцы), а также указанные пищевые продукты в процессе хранения (всего около 3,5 тыс. образцов).

Видовой состав и численность микрофлоры пищевых продуктов изучали общепринятыми методами, выражая микробную обсемененность в количестве колониеобразующих единиц, присутствующих в 1 г исследуемой пробы (КОЕ/г) [6–8]. МЭК бензоата натрия и сорбиновой кислоты в отношении микробных изолятов определяли методом «серийных разведений» на бульоне Хоттингера с pH 3,9 и 4,5 и содержанием консервантов 0,1–10 мг/г [9]. Инокулят — чистые культуры микроорганизмов рода *Bacillus* в вегетативной форме, вносили из расчета $1 \cdot 10^2$ – $1 \cdot 10^3$ КОЕ/г и инкубировали при температуре 30 °C в течение 21 сут. Рост микроорганизмов оценивали нефелометрическим методом ($\lambda = 570$ нм). В качестве МЭК консерванта принимали его концентрацию в пробирке с максимальным разведением, в которой рост культуры отсутствовал. Для оценки влияния консервантов на процессы, протекающие в пищевых продуктах при хранении (температура 20–22 °C), изучали изменение физико-химических свойств их опытных и контрольных образцов в зависимости от численности и видового состава развивающегося микробного сообщества [10, 11]. Для обработки экспериментальных данных применяли статистические методы, принятые в области биологических исследований [12].

Результаты и их обсуждение. Изучение микробной обсемененности свежизготовленных пищевых продуктов с консервантами показало, что бензоат натрия в концентрации 0,8–1,0 мг/г не оказывал влияния на численность бактериальной флоры продуктов питания, технология

изготовления которых не предусматривает тепловой обработки (соевый майонез и приправы из горчицы и хрена с pH 3,9—4,5). Содержание мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ) в 1 г их опытных и контрольных образцов достигало $1 \cdot 10^3$ — $1 \cdot 10^6$ КОЕ, из них 50—54% — в споровой форме. Обнаруживаемая микрофлора санитарно-показательной группы была представлена колиформными бактериями ($1 - 1 \cdot 10^2$ КОЕ/г) — 27% исследованных образцов, мезофильными клостридиями ($1 - 1 \cdot 10^1$ КОЕ/г) — 17% образцов, кокковой флорой и бактериями вида *Bacillus cereus* с частотой встречаемости 38 и 27% соответственно.

Применение консервантов (0,15—1,0 мг/г) в сочетании с кратковременной термообработкой (70—93 °С, 1—3 мин) кетчупов, сока березового и плодово-ягодных продуктов с pH 3,7—3,9 обусловило снижение их обсемененности бактериальной флорой группы МАФАНМ ($1 - 1 \cdot 10^3$ КОЕ/г) на 1—2 порядка, причем последняя на 90% была представлена споровыми формами. Однако бактерицидное действие консервантов обнаруживалось только на фоне относительно низкого (не более $1 \cdot 10^3$ — $1 \cdot 10^4$ КОЕ/г) уровня обсемененности сырьевых ингредиентов.

Таким образом, полученные результаты доказывают, что необходимым условием обеспечения доброкачественности пищевых продуктов, консервированных химическим способом, является разработка и внедрение научно-обоснованных микробиологических нормативов на сырье, используемое для их изготовления.

В результате таксономических исследований нами было идентифицировано более 200 микробных изолятов. Установлено, что микрофлора пищевых продуктов с консервантами на 90% и более представлена бактериями рода *Bacillus* при доминировании видов *B. subtilis* (Ehrenberg, 1835), Cohn, 1872, *B. brevis* (Migula, 1900), *B. coagulans* (Hammer, 1915), *B. mace-rans* (Schardiner, 1905), *B. cereus* (Frankland, 1887), *B. megaterium* (de Bary, 1884), *B. laterosporus* (Laubach, 1916), *B. mycoides* (Fliigge, 1886), *B. licheniformis* (Weigmann, 1898), Chestei, 1901, *B. sphaericus* (Meyer, Neide, 1904), *B. pumilus* (Meyer, Cottheil, 1901), *B. polymyxa* (Prazmowski, 1880). Причем способность к росту в условиях, характерных для пищевых продуктов, консервируемых химическим способом (pH 3,8 и температура 5—10 °С), была обнаружена соответственно у 17,4 и 32% изолятов, отнесенных к роду *Bacillus*. Клостридиальная флора изученных нами пищевых продуктов с консервантами была представлена бактериями сахаролитической и протеолитической групп при доминировании видов *Clostridium putrificum* (Sjolander) Descroraillies, 1974, *Cl. rubrum* (Sjolander) Cummins, Jonson, 1971 и *Cl. tyrobutyricum* (Goudkov, Sharp, 1966). В составе аспорогенной бактериальной флоры чаще всего обнаруживались колиформные бактерии видов *Escherichia coli* (Migula) Castellani, Chalmers, 1919, *Citrobacter freundii* (Braak) Werkman, Gillen, 1932, *Enterobacter dissolvens* (Burill, 1920) Brenner, 1986, кокки — *Micrococcus luteus* (Schroeter) Cohn, 1872, *Staphylococcus saprophyticus* (Shawet) Schleifer, Kloos, 1975 и *Pediococcus* sp (Mundt) Back, 1978 и бактерии молочнокислой группы, отнесенные к одному виду *Lactobacillus xylosus* (Kneist, 1988).

С целью изучения устойчивости доминирующей бактериальной флоры к действию консервантов были определены МЭК бензоата натрия и сорбиновой кислоты в отношении 21 штамма рода *Bacillus* (таблица) и исследовано влияние консервантов на выживаемость (развитие) бактериальных культур в процессе хранения пищевых продуктов (рис. 1 и 2).

Как видно из рис. 1, сорбиновая кислота (0,5 мг/г) и бензоат натрия (0,15 мг/г) в концентрации, предельно допустимой для плодово-ягодных продуктов и сока березового, не оказывали влияния на выживаемость в указанных продуктах с pH 3,7—3,9

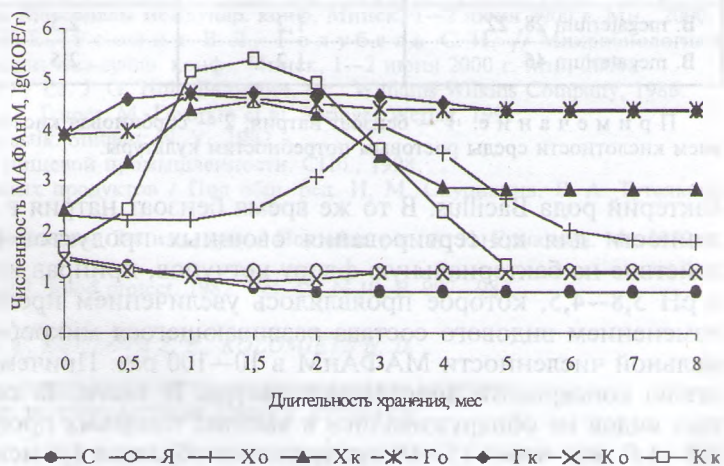


Рис. 1. Изменение численности микрофлоры пищевых продуктов в процессе хранения при температуре 20—22 °С: С — сок березовый (опыт и контроль), Я — пюре рябиново-яблочное (опыт и контроль), Хо — приправы из хрена (опыт), Хк — приправы из хрена (контроль), Го — соус горчичный (опыт), Гк — соус горчичный (контроль), Ко — кетчуп томатный (опыт), Кк — кетчуп томатный (контроль)

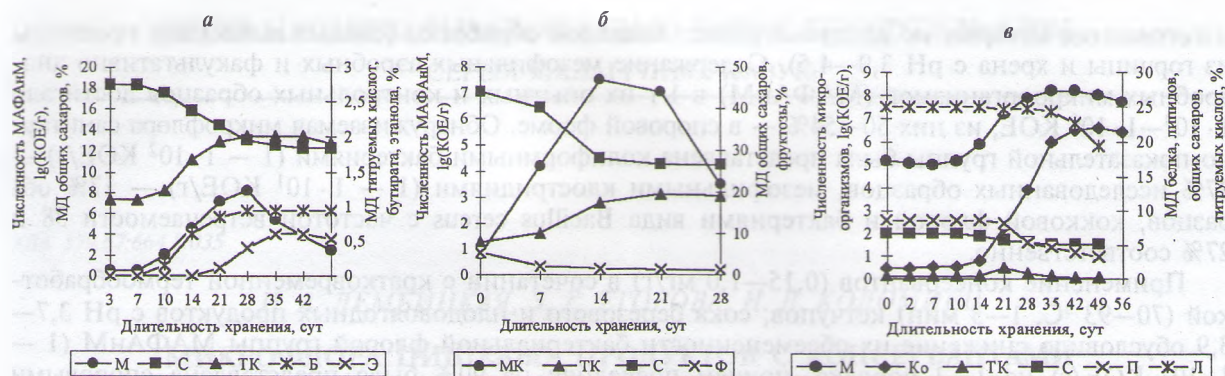


Рис. 2. Изменение численности микрофлоры и физико-химических свойств пищевых продуктов с консервантами в процессе хранения при температуре 20–22 °С: а — кетчуп с бензоатом натрия 1,0 мг/г, загрязненный бактериями вида *B. macerans*, б — клубника дробленая с сорбиновой кислотой 0,5 мг/г, загрязненная бактериями вида *L. xylosus*, в — соевый майонез с бензоатом натрия 1,0 мг/г, загрязненный бактериальной флорой, М — микроорганизмы группы МАФАНМ, МК — молочнокислые бактерии (вид *L. xylosus*), Ко — кокковая флора (доминирующий род *Micrococcus*), ТК — титруемые кислоты, С — общие сахара, Ф — фруктоза, Э — этанол, Б — бутират, П — протеины, Л — липиды, МД — массовая доля

Чувствительность микроорганизмов к действию консервантов

Культура	рН 3,9		рН 4,5	
	МЭК консервантов, мг/г			
	1	2	1	2
Bacillus brevis 6, 64	н/о	н/о	0,6	0,6
B. cereus 10	н/о	н/о	0,6	0,6
B. cereus 54, 24	0,3	н/о	1,2	1,2
B. coagulans 52	0,6	0,6	0,6	0,6
B. coagulans 43, 47	0,6	0,6	1,2	0,6
B. mycoides 34, 40	1,2	1,2	2,5	1,2
B. macerans 3, 4	1,2	1,2	2,5	1,2
B. polymyxa 58, 59	1,2	1,2	2,5	1,2
B. licheniformis35,38	н/о	н/о	5,0	5,0
B. pumilus 41, 66	н/о	н/о	5,0	2,5
B. megaterium 28, 22	1,2	2,5	5,0	5,0
B. megaterium 46	1,2	2,5	5,0	5,0

Примечание: 1 — бензоат натрия, 2 — сорбиновая кислота, н/о — не определяли в связи с несоответствием кислотности среды ростовым потребностям культуры.

бактерий рода *Bacillus*. В то же время бензоат натрия в количестве, используемом в промышленности для консервирования овощных продуктов (0,8–1,0 мг/г), оказывал угнетающее действие на бактериальную флору кетчупов, приправ из горчицы и хрена и соевых майонезов с рН 3,8–4,5, которое проявлялось увеличением продолжительности lag-фазы на 7–45 сут, изменением видового состава развивающегося микробного сообщества и снижением максимальной численности МАФАНМ в 10–100 раз. Причем наибольшую чувствительность к действию консерванта проявляли культуры *B. brevis*, *B. cereus* и *B. coagulans*. Бактерии указанных видов не обнаруживались в посевах пищевых продуктов с содержанием бензоата натрия 0,8–1,0 мг/г через 15–60 сут хранения образцов (за исключением штамма *B. coagulans* 43).

Данные, полученные в процессе исследований пищевых продуктов, подтверждаются результатами экспериментов на питательных средах. Как видно из таблицы, на бульоне Хоттингера с рН 3,9 и 4,5 МЭК консервантов в отношении вышеуказанных бактериальных культур не превышали 0,6–1,2 мг/г и достигали 1,2–5,0 мг/г для штаммов *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. pumilus*, *B. mycoides* и *L. xylosus*, доминировавших в составе микрофлоры кетчупов, соевого майонеза и плодово-ягодных продуктов с признаками порчи (рис. 2).

В частности, из графических данных, представленных на рис. 2, а, видно, что применение бензоата натрия в концентрации 1,0 мг/г не позволило предотвратить порчу кетчупов, загрязненных факультативно-анаэробными бактериями рода *Bacillus*, ферментирующими углеводы с образованием газа (*B. pasteurianus*, *B. polymyxa*). Развитие возбудителей порчи сопровождалось снижением массовой доли сахаров на 21,3—28,9%, увеличением титруемой кислотности в 1,7—1,9 раз, накоплением микробных метаболитов (бутирата и этанола) и характерными органолептическими признаками порчи, проявившимися к 14—21-м суткам хранения вспениванием и повышением вязкости пищевого продукта.

Как видно из рис. 2, б, контаминация молочнокислыми бактериями явилась причиной «плоскокислой» порчи клюквы дробленной, консервированной сорбиновой кислотой. Рост микробной популяции (доминирующий вид *L. xylosus*) обусловил снижение массовой доли общих сахаров на 18—20% при утилизации фруктозы на 75—80%. Полученные результаты дают основание предположить, что активная ферментация фруктозы является метаболической особенностью штаммов молочнокислых бактерий, развивающихся в плодово-ягодных продуктах, что согласуется с данными R. B. Smittle относительно *L. fructivorans* [13].

Из данных, представленных на рис. 2, в, следует, что развитие смешанной бактериальной флоры (МАФАНМ) в соевом майонезе с бензоатом натрия протекало со сменой микробных доминантов от бактерий рода *Bacillus* (при доминировании *B. pumilus* и *B. megaterium* в образцах, хранившихся в течение 28 сут) к бактериям рода *Micrococcus* (превалирующий вид *M. luteus* в образцах со сроком хранения более 35 сут) и сопровождалось, соответственно, деструкцией протеинов и липидов. Так, массовая доля белка к 23—25-м суткам хранения майонеза снизилась на 11%, а содержание липидов уменьшилось на 8,5% через 38—42 сут хранения пищевого продукта при 20—22°C и проявилось соответствующими изменениями его органолептических свойств: гнилостным запахом и нарушением однородной структуры до расслоения.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что численность и видовой состав микробного сообщества, развивающегося в пищевых продуктах с консервантами при хранении, определяется взаимодействием биологического компонента и абиотических факторов (физиолого-биохимическими особенностями исходной микрофлоры, концентрацией консервантов, составом пищевых продуктов и др.) и влияет на их физико-химические и органолептические свойства.

Литература

1. Dooley J. S. C. // Brit. Med. Bull. 2000. Vol. 56, N 1. P. 142—157.
2. Stobinska H., Kregeil D. // Pizem. Spoz. 2000. Vol. 54, N 2. P. 43—44.
3. Smith D. P. // Food Res. 1994. Vol. 10, N 6. P. 64—68.
4. Дембицкая И. А., Егорова З. Е., Голубева С. Н., Зарейчук И. Н. // Микробиология и биотехнология на рубеже XXI столетия: Материалы междунар. конф. Минск, 1—2 июня 2000 г. Мн., 2000.
5. Дембицкая И. А., Егорова З. Е., Рослик В. Л., Голубева С. Н. // Микробиология и биотехнология на рубеже XXI столетия: Материалы междунар. конф., Минск, 1—2 июня 2000 г. Мн., 2000.
6. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Ed. J. G. Holt. Baltimore, etc.: Williams Wilkins Company, 1986.
7. The Prokaryotes, 2nd ed. / A. Balows, H. G. Truper, M. Dworkin et al. Springer Verlag, 1991.
8. Burkhardt F. Mikrobiologische Diagnostik. Stuttgart; N. Y., 1992.
9. Люк Э., Ягер М. Консерванты в пищевой промышленности. СПб., 1998.
10. Руководство по методам анализа пищевых продуктов / Под общ. ред. И. М. Скурихина, В. А. Тутельяна. М., 1998.
11. Методы биохимического исследования растений. 2-е изд., доп. / Под общ. ред. А. И. Ермакова. М., 1972.
12. Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1990.
13. Smittle R. D., Flowers R. S. // J. Food protect. 1982. Vol. 45, N 10. P. 997—983.

DEMBITSKAYA I. A., EGOROVA Z. E., KOLOMIETS N. D.

MICROFLORA OF FOOD PRODUCTS WITH PRESERVATIVE AGENTS AND MICROBIAL PUTREFACTION UNDER STORAGE

Summary

The authors examined bacterial microflora of ketchups, flavourings and mayonnaises produced from vegetables. In this context, birch juice and fruit preserves were also tested. Their microflora varied from singular cells to a few hundred thousand CFU per 1g sample. The general domination of *Bacillus* genus was observed. It was found that the probability and focus of rotting process were determined by several factors. These factors include physiological and metabolic peculiarities of microbial contaminants as well as physicochemical properties of food products, including preservative concentration, ingredients, etc.