



Рис. 1. Динамика роста *V. casegarps* и изменения физико-химических свойств пищевого продукта в процессе хранения при температуре $20\pm 2^{\circ}\text{C}$

1- численность *V. casegarps*; 2- массовая доля титруемых кислот; 3- массовая доля общих сахаров; 4- массовая доля бутирата; 5- массовая доля этанола

ЛИТЕРАТУРА

1. Доклад Исследовательской группы ВОЗ. Болезни, передаваемые через пищу: методы выборки и исследования в программах медико-санитарного надзора / Серия технических докладов ВОЗ №543, Женева, 1985г. – М.: Медицина. - 1985. - 55с.
2. Роуз Э. Химическая микробиология. - М.: Мир, 1971. - 290с.
3. Руководство по методам анализа пищевых продуктов / Под общ. ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. – М.: «Брандес», «Медицина», 1998. – 342с.
4. Дембицкая И.А., Егорова З.Е., Голубева С.Н. Национальная политика здорового питания в Республике Беларусь: Материалы международной конференции. Минск. 26- 27 апреля, 2001.- Минск, 2001.- с.279-282.

УДК 579.664.8

БАКТЕРИИ ВИДА *V. cereus*, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, КОНСЕРВИРОВАННЫХ БЕНЗОАТОМ НАТРИЯ

Дембицкая И.А., Егорова З.Е.*

Концерн «Белгоспищепром» (Научно-исследовательское государственное предприятие «Стандартплодоовощ»),
*Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

Первое описание пищевых интоксикаций, при которых с несомненностью была доказана этиологическая роль бактерий вида *V. cereus*, было сделано Хейгем в 1950г. Начиная с этого времени отравления, вызванные *V. cereus*, описаны во многих странах Европы, в Канаде, США и Японии. Установлено, что штаммы *V. cereus* могут поражать широкий спектр продуктов питания [1-3]. Вместе с тем до сих пор не дана оценка риска, связанного с контаминацией бактериями этого вида пищевых продуктов, консервированных химическим способом.

Цель настоящей работы заключалась в изучении распространённости *V. cereus* в пищевых продуктах с бензоатом натрия, изучении физиолого-биохимических особенностей изолятов этого вида, их токсигенного потенциала и влияния пищевых консервантов на рост и лецитиназную активность *V. cereus*.

Источником выделения *V. cereus* служили пищевые продукты, произведенные из растительного сырья с рН=3,9-4,5 и содержанием бензоата натрия 0,6-1,0 г/кг: томатные и томатно-овощные кетчупы, приправы, изготовленные на основе горчицы и хрена, и соевые майонезы.

Выделение и идентификацию изолятов *V. cereus* выполняли согласно методам, описанным в последних изданиях известных руководств [4,5]. Токсинообразующую способность изолятов *V. cereus* оценивали по результатам биологической пробы на энтеротоксины и тестов на внеклеточную лецитиназу и гемолизин [6,7]. Влияние бензоата натрия и сорбиновой кислоты на рост и лецитиназную активность *V. cereus* изучали на питательной среде с ферментативным гидролизатом молока в условиях, характерных для развития бактерий в пищевых продуктах. Для этого в питательную среду с рН=4,0-5,0 вносили стерилизованные фильтрацией ($d=0,45\mu$) растворы консервантов в количестве 0,6-1,0 г консерванта на 1кг среды и инокулировали суспензией вегетативных клеток *V. cereus* из расчёта их конечного содержания 1×10^3 - 1×10^4 КОЕ/см³. Кроме того, изучали влияние бензоата натрия на рост *V. cereus* в указанных выше пищевых продуктах. Культивирование осуществляли стационарным способом при $20\pm 2^{\circ}\text{C}$.

В результате проведенных исследований бактерии вида *V. cereus* были обнаружены нами в 81 из 300 подвергнутых анализу проб свежизготовленных пищевых продуктов с бензоатом натрия. Все изоляты *V. cereus* проявляли характерные для данного вида таксономические признаки. Внутривидовые различия касались культуральных свойств (устойчивое формирование колоний S- и R- типа), чувствительности к NaCl, продукции лецитиназы, а также температурных пределов роста.

Так, способность к росту на питательном агаре при $5-6^{\circ}\text{C}$ проявляли 12% выделенных нами изолятов *V. cereus*. Подавляющее количество изолятов (более 90%) по результатам биохимического тестирования обнаруживали положительную реакцию на лецитиназу и гемолизин, причём наиболее активным продуцентом являлся психрофиль-

ный изолят №54, выделенный из соевого майонеза. Через 2 часа инкубирования культурального фильтрата *V. cereus* 54 с желточно-буферной смесью её оптическая плотность снижалась более чем на 75%. Полное разрушение эритроцитов наблюдалось в течение 24-часовой экспозиции крови кролика с фильтратом культуральной жидкости *V. cereus* 54, разведенной в 1024 раз. Вместе с тем, пероральное и парентеральное однократное введение культуральных фильтратов *V. cereus* (0,5-5,0 см³) подопытным животным не сопровождалось гибелью мышей и крыс или какими-либо побочными эффектами. Полученные результаты свидетельствуют о низкой токсичности экзогенных метаболитов изученных нами изолятов *V. cereus*, подтверждая, тем самым, выводы Флуера Ф.С. и Езепчук Ю.В. о неидентичности энтеротоксинов *V. cereus* бактериальной лецитиназе /6,8/.

Вместе с тем из литературных источников известно, что под воздействием лецитиназы *V. cereus* в пищевых продуктах могут накапливаться токсичные для человека метаболиты (фосфохолин и др.) - продукты расщепления содержащегося в них лецитина /1/. В связи с этим представляло интерес изучение влияния консервантов на рост и лецитиназную активность *V. cereus* в зависимости от состава и кислотности субстрата.

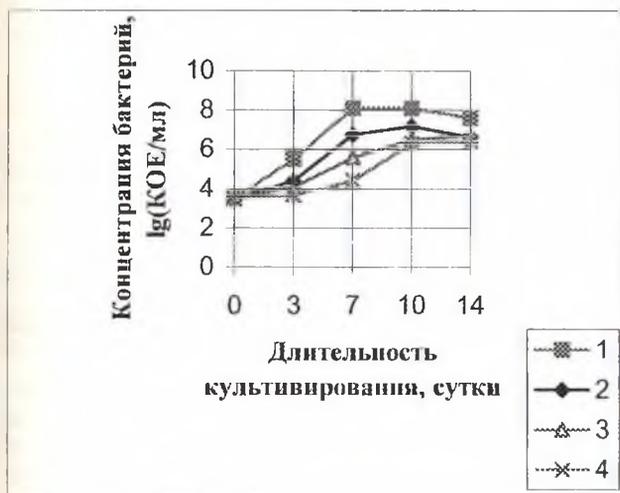


Рис.1. Влияние консервантов на рост *V. cereus*, $T=20\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5,0$
 контроль, бензоат натрия 0,8г/кг или сорбиновая кислота 0,6г/кг;
 бензоат натрия 1,0г/кг;
 сорбиновая кислота 0,8г/кг;
 сорбиновая кислота 1,0г/кг

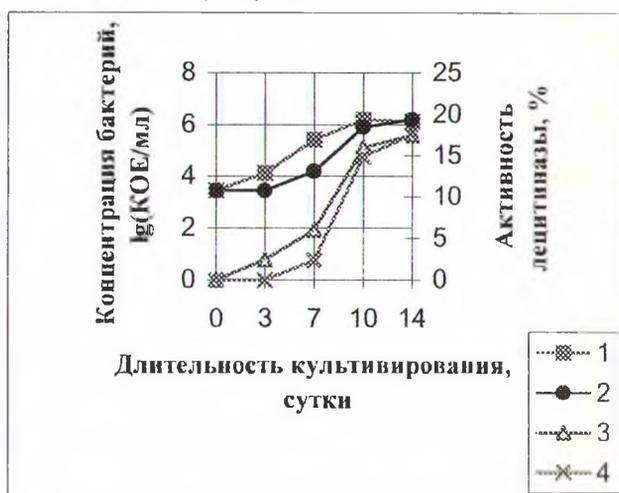


Рис.2. Влияние консервантов на рост *V. cereus* и продукцию лецитиназы, $T=20\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=4,5$
 Концентрация бактерий:
 1- контроль; 2- бензоат натрия или сорбиновая кислота 0,8г/кг.
 Лецитиназа: 3- контроль; 4- бензоат натрия или сорбиновая кислота 0,8г/кг

Из рисунка 1. видно, что при $\text{pH}=5,0$ консерванты, взятые в количестве 0,6-1,0 г/кг, угнетали рост *V. cereus* 54, причём сорбиновая кислота в большей степени, чем бензоат натрия, однако не проявляли бактерицидного действия. При увеличении кислотности среды ингибирующее влияние консервантов возрастало (рис.2). Кроме того, устойчивость *V. cereus* к действию бензоата натрия и сорбиновой кислоты зависела от состава питательной среды. Так, согласно результатам наших предыдущих исследований при $\text{pH}=4,5$ рост *V. cereus* 54 в питательном бульоне полностью подавлялся при содержании консервантов 0,6г/кг /9/, тогда как в среде с ферментативным гидролизатом молока минимальная эффективная концентрация бензоата натрия и сорбиновой кислоты была равна 1,0г/кг. При $\text{pH}=4,0$ культура не развивалась, не зависимо от состава питательной среды и содержания консервантов.

Результаты модельных исследований подтвердились в ходе практических испытаний на пищевых продуктах. Рост культуры был отмечен в соевом майонезе с $\text{pH}=4,5$ и содержанием бензоата натрия 0,8г/кг. В кетчупах и других продуктах с $\text{pH}=3,9-4,0$ изолят *V. cereus* 54 не развивался, однако жизнеспособные клетки обнаруживались в инфицированных образцах в течение 15-90 суток хранения.

Из графических данных, представленных на рисунке 2, видно, что в присутствии бензоата натрия и сорбиновой кислоты синтез внеклеточной лецитиназы у *V. cereus* 54 определялся влиянием консервантов на рост культуры, хотя прямой корреляции между концентрацией бактерий и лецитиназной активностью выявлено не было. Нижняя граница диапазона кислотности, приемлемой для синтеза экзогенной лецитиназы у *V. cereus*, соответствовала уровню $\text{pH}=4,5$.

Полученные результаты свидетельствуют о низкой встречаемости токсигенных штаммов *V. cereus* в продуктах питания, изготовленных из растительного сырья и консервированных химическим способом. Вместе с тем доказывают, что бактерии вида *V. cereus* могут развиваться и продуцировать экзогенную лецитиназу в пищевых продуктах с $\text{pH}=4,5$ и содержанием бензоата натрия (сорбиновой кислоты) 0,8г/кг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимов А.М. Некоторые актуальные вопросы биохимии и медицины.- М.: «Медицина», 1970.- с.216-220.
2. Jaksic S., Petrak T. The Frequency of *B. cereus* findings in some food products // Acta pharm.- 1996. -46, №1.- p.83-87.
3. Ferமான Christopher, Lapeyre Christiane. - J. Dairy Res., 1997, v.64, №4, p.551-559.
4. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology/ Ed.: J.G. Holt.- Baltimore, etc.: Williams Wilkins Company, 1986.- V.1-2.
5. The Prokaryotes, 2 ed. / A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin et al. - Springer Werlag, 1991. - p. 1663-1745.
6. Флуер Ф.С., Езепчук Ю.В. - Микробиология, 1970, т.39. № 3. с. 465-470.
7. Нестерова Г.Н., Солодухо И.Г., Сударева Е.К. - Учёные записки Горьковского университета, 1970. №.110. с.124-127.

8. Флуер Ф.С. – Лабораторное дело, 1980. т.39, №3, с.465-470.
9. Дембицкая И.А., Егорова З.Е., Голубева С.Н. Национальная политика здорового питания в Республике Беларусь: Материалы международной конференции, Минск, 26-27 апреля, 2001.- Минск, 2001.- с.279-282.

УДК 579.664.8

ИЗМЕНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, КОНСЕРВИРОВАННЫХ ХИМИЧЕСКИМ СПОСОБОМ

Дембицкая И.А., Коломиец Н.Д.*, Егорова З.Е.**

*Концерн «Белгоспищепром» (Научно-исследовательское государственное предприятие «Стандартглодоовощ»), * Республиканский научно-практический центр по экспертной оценке качества и безопасности продуктов питания, **Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь*

Контаминация продуктов питания патогенными и условно-патогенными микроорганизмами может быть причиной различных заболеваний. К числу наиболее распространённых способов обеспечения безопасности пищевых продуктов путём предотвращения или подавления развития в них микроорганизмов относится консервирование бензоатом натрия и сорбиновой кислотой. Доказано, что устойчивость микроорганизмов к действию этих консервантов в значительной степени определяется составом продуктов /1-3/. Поэтому, целью настоящей работы явилось изучение влияния консервантов на жизнеспособность патогенных и условно-патогенных бактерий в процессе хранения продуктов переработки растительного сырья с кислотностью $pH=3,7-4,5$.

Для этого пищевые продукты промышленного изготовления (томатные и томатно-овощные кетчупы, приправы на основе горчицы и хрена, соевый майонез, протёртые плодово-ягодные продукты с сахаром и сок берёзовый газированный) с содержанием бензоата натрия или сорбиновой кислоты в количестве от 0,15 до 1,0г/кг в асептических условиях инокулировали суспензиями вегетативных клеток и спор (для спорообразующих культур) микроорганизмов: *E. coli* ATCC 25922, *S.typhimurium* ATCC 24853, *Cl. perfringens* NCTC 8238 и *B.cereus* ATCC 14579 из расчёта их конечного содержания в продуктах 1×10^1 - 1×10^2 и 1×10^2 - 1×10^3 КОЕ/г ($см^3$). В качестве контроля использовали те же продукты, но без консервантов. Количество жизнеспособных клеток бактерий в 1г продуктов (КОЕ/г) определяли с периодичностью 7 суток в течение 3-х месяцев хранения инфицированных образцов при 20 ± 2^0C путём посева на питательный агар (на MRS-агар в анаэробных пакетах bio Merieux для клостридий). Ниже приводятся средние данные 3-х серий опытов.

Исследования показали, что споры *Cl.perfringens* NCTC 8238 и *B.cereus* ATCC 14579 сохраняли жизнеспособность во всех продуктах в течение всего периода хранения, не зависимо от вида и концентрации консерванта, посева дозы микроорганизмов, состава и кислотности продуктов. Развитие спор наблюдалось при $pH=4,5$ в соевом майонезе, изготовленном без консерванта, и полностью подавлялось в присутствии 0,8-1,0г/кг бензоата натрия. В процессе хранения продуктов с $pH \leq 4,0$ влияние бензоата натрия и сорбиновой кислоты на жизнеспособность спор *Cl.perfringens* и *B.cereus* не обнаружено.

В случае инфицирования продуктов вегетативными клетками рост клостридий был отмечен при $pH=3,9-4,5$ в продуктах, изготовленных без консерванта и консервированных бензоатом натрия: в кетчупах, приправах и майонезе. Причём, бактерии *Cl.perfringens* проявляли чувствительность к действию бензоата натрия только в кетчупе с $pH = 3,9$ и содержанием консерванта 0,8-1,0г/кг. Так, если в опытных образцах кетчупа штамм *Cl.perfringens* NCTC 8238 развивался только при условии массивного инфицирования продукта - не менее 1×10^2 КОЕ/г, то в контроле «критическая» посевная доза снижалась до единичных КОЕ/г.

Лимитирующее значение pH для развития *B.cereus* ATCC 14579, *E.coli* ATCC 25922 и *S.typhimurium* ATCC 24853 в продуктах исследуемой группы составляло $pH=4,5$. В условиях этой кислотности ингибирующее действие 0,8 г/кг бензоата натрия в отношении *B.cereus* и *E.coli* проявилось увеличением фазы задержки роста культуры на 7-15 суток и снижением максимальной численности популяции. Консервант в концентрации 1,0г/кг полностью подавлял развитие *B.cereus* и не оказывал влияния на рост *S.typhimurium*.

Ингибирующее действие бензоата натрия (0,8-1,0г/кг) в отношении бактерий *B.cereus*, *E.coli* и *S.typhimurium* в пищевом субстрате с кислотностью $pH=3,9$ (в кетчупе) выражалось в снижении жизнеспособности микроорганизмов. Так, при исходном уровне инфицирования продукта 1×10^2 - 1×10^3 КОЕ/г жизнеспособные бактерии не обнаруживались в опытных образцах через 7 -30 суток хранения и высевались из контрольных вариантов со сроком хранения 15-90 суток (весь период исследований), причём максимальную чувствительность к действию консерванта проявлял штамм *B.cereus* ATCC 14579.

Бензоат натрия и сорбиновая кислота, использованные в концентрации 0,15г/л и 0,5г/кг соответственно в соке берёзовом газированном и плодово-ягодных продуктах ($pH=3,7-3,8$), не оказывали влияния на жизнеспособность микроорганизмов. В процессе хранения численность жизнеспособных бактерий в 1г ($см^3$) этих продуктов, снижалась не зависимо от присутствия консервантов и исходной концентрации микроорганизмов. В частности выживаемость *E. coli* и *S.typhimurium* в плодово-ягодных продуктах составляла в среднем 15 суток, а в соке берёзовом с содержанием углекислоты 0,2% - не превышала 3-7 суток.

Таким образом, результаты настоящих исследований во-первых, дополняют данные литературы о лимитирующих значениях pH и исходной численности микрофлоры для развития спор и вегетативных клеток бактерий в пищевых продуктах с консервантами, во-вторых, свидетельствуют о высокой устойчивости *Cl.perfringens* и *S.typhimurium* к действию бензоата натрия и, вместе с тем подтверждают способность этого консерванта подавлять прорастание бактериальных спор.