

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ЗЕРНОВОГО СЫРЬЯ В ПРОЦЕССЕ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБА ЗАВАРНЫХ СОРТОВ

Sources of pollution of finished goods are raw components, infringement of technological modes of processing of grain raw materials. In half-finished products besides useful microorganisms are found out *Bacillus* – activators of «potato illness» bread. The microorganisms, capable to cause «potato illness» bread remain viable despite high temperature modes of process of a batch, thereby causing finished goods damage.

Введение. Бактерии рода *Bacillus* благодаря высоким адаптивным возможностям широко распространены в природе. Бациллы часто обнаруживают на поверхности зерен пшеницы, где их количество в 1 г может составлять $(1-3) \cdot 10^4$ колониобразующих единиц (КОЕ). Естественно, что эти микроорганизмы определяются в муке, полученной из такого зерна, и в тесте [1]. По данным R. Rogers [2], из проб охлажденного теста были выделены 53 штамма аэробных спорообразующих бактерий, среди которых 24 штамма составляли *B. subtilis*. Y. Abd-et-Malek с соавторами [3] установил наличие бацилл и в свежеприготовленном тесте для выпечки хлеба. Сведения о количественном содержании аэробных спорообразующих бактерий в муке и хлебе имеются лишь в отдельных публикациях.

При изучении термоустойчивости спор бацилл, выделенных из муки и зерна, показано, что они выдерживают кипячение от 2,0 до 4,5 ч [1, 2]. Следовательно, такие споры могут сохранять жизнеспособность в процессе выпечки хлебобулочных изделий, что подтверждается исследованиями [4].

Из литературных данных известно, что возбудителями «картофельной болезни» хлеба является картофельная палочка. Однако в опубликованных работах не представлены данные о видовой идентификации бацилл, выделенных из заболевшего хлеба, и поэтому под названием «картофельная палочка» подразумеваются все бациллы, вызывающие «картофельную болезнь» хлеба [1, 4].

Также в работах 50-х гг., посвященных «картофельной болезни» хлеба, указывалось, что потребление пораженного хлеба небезопасно для человека и может быть причиной различных токсикоинфекций. Проведенные исследования последних лет свидетельствуют о том, что среди других представителей бактерий рода *Bacillus* (*B. subtilis* (сенная палочка), *B. mesentericus* (картофельная палочка) *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. coagulans* и др.) встречаются штаммы, характеризующиеся патогенными свойствами и вызывающие серьезные заболевания человека (эндокардиты, эндофтальмиты, менингиты, септицемии, артриты, остеомиелиты и др.). В настоящее время не представляется возможным проводить повсеместный контроль

содержания спорообразующих бактерий, а также их токсигенных свойств в хлебе перед его употреблением в пищу в связи с отсутствием экспресс-методов микробиологического контроля сырья и готовой продукции [5–7].

Учитывая вышеизложенное, целью данной работы было изучение количественного и видового состава микробиоты основного сырья и хлеба заварных сортов.

Объекты исследований. В качестве объектов исследования были выбраны:

- мука ржаная и пшеничная, солод ржаной – представители основного сырья в хлебопечении;
- хлеб «Нарочанский» – один из популярных в Беларуси видов заварных сортов хлеба;
- чистые культуры спорообразующих микроорганизмов, выделенных из вышеперечисленных продуктов.

Исследования проводились с декабря 2007 г. по январь 2009 г. Всего было изучено 48 проб сырьевых ингредиентов, 12 проб готовой продукции и 112 культур спорообразующих микроорганизмов.

Методы исследований. Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) готовили смывы с отобранных образцов, затем по 1 см³ полученных смывов соответствующего разведения высевали глубинным способом в две параллельные чашки Петри с питательным агаром. Посевы термостатировали на протяжении 72 ч при температуре 30°C [8].

Выделение чистых культур осуществляли рассевом накопительной культуры бактериологической петлей методом истощающего штриха. Посевы термостатировали в течение 1–3 сут при температуре 37°C. Выросшие изолированные колонии отсеивали петлей на поверхность скошенной плотной среды в пробирки или в жидкую среду [9].

Определение видовой принадлежности выделенных культур выполняли следующим образом. После рассева на плотной питательной среде отбор штаммов проводили, основываясь на различиях в морфологии макроколоний. Затем отобранные культуры проверяли на чистоту методом рассева и визуально под микроскопом. Видовую принадлежность выделенных штаммов спорообразующих бактерий опреде-

ляли по фенотипическим признакам в соответствии с ключом идентификации бацилл [10].

Для изучения морфологии клеток подготавливали мазки культур, выращенные в течение 1 и 3 сут на плотной питательной среде.

Каталазообразующую способность определяли добавлением к культуре 3%-ного раствора перекиси водорода [11].

Анаэробное развитие, амилалитическую и протеолитическую активность, редукцию нитратов, рост в жидких питательных средах определяли методами, изложенными в [9].

Способность сбраживать сахара (глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, маннит) и образовывать ацетилметилкарбинол устанавливали по ГОСТ 10444.8 [12].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований количественного и видового состава микробиоты муки ржаной сеяной представлены на рис. 1 и в табл. 1.

Как видно из представленных данных, уровень контаминации муки ржаной сеяной мезофильными бактериями колеблется в пределах сотен тысяч – миллионов КОЕ в 1 г продукта.

Повышенный рост микроорганизмов был зафиксирован в сентябре 2008 г., что может быть связано с нарушением режимов созревания муки. По результатам проведенного фенотипического анализа выделенных культур 18 штаммов были отнесены к виду *B. subtilis*, 2 штамма – к виду *B. mesentericus* и 1 штамм – к виду *B. pumilus* и *B. polymyxa*. Все культуры образовывали споры. Все изученные штаммы проявили амилалитическую (кроме *B. pumilus*) и протеолитическую активность, продуцировали ацетилметилкарбинол, редуцировали нитраты и сбраживали сахара. При этом было зафиксировано, что *B. mesentericus* по сравнению с другими штаммами более интенсивно гидролизует крахмал.

Результаты исследований количественного и видового состава микробиоты муки пшеничной 1-го сорта представлены на рис. 2 и в табл. 2.

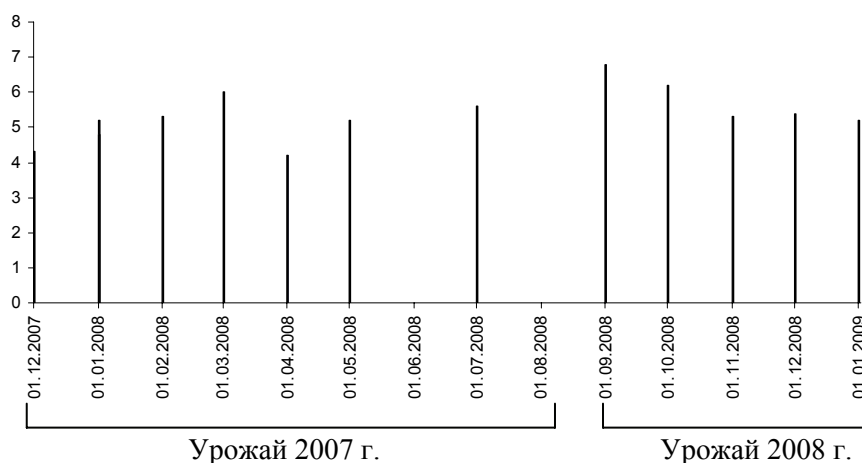


Рис. 1. Изменение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в муке ржаной сеяной за исследуемый период

Таблица 1

Видовой состав микробиоты муки ржаной сеяной за исследуемый период

Период исследований	Количество выделенных культур, штамм	Количество спорообразующих микроорганизмов, штамм	Видовой состав (количество штаммов)
01.12.2007	2	2	<i>B. subtilis</i>
01.01.2008	3	2	<i>B. subtilis</i>
01.02.2008	3	1	<i>B. mesentericus</i>
01.03.2008	2	2	<i>B. subtilis</i>
01.04.2008	6	1	<i>B. subtilis</i>
01.05.2008	4	2	<i>B. subtilis</i>
01.07.2008	3	2	<i>B. subtilis</i>
01.09.2008	3	3	<i>B. pumilus</i> , <i>B. subtilis</i> (2)
01.10.2008	4	3	<i>B. subtilis</i> (2), <i>B. mesentericus</i>
01.11.2008	2	1	<i>B. subtilis</i>
01.12.2008	1	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i>
01.01.2009	6	2	<i>B. subtilis</i>

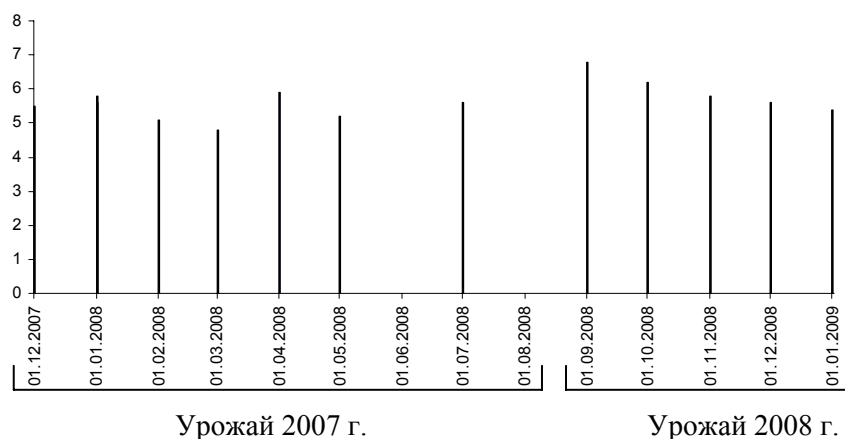


Рис. 2. Изменение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в муке пшеничной 1-го сорта за исследуемый период

Таблица 2

Видовой состав микробиоты муки пшеничной 1-го сорта за исследуемый период

Период исследований	Количество выделенных культур, штамм	Количество спорообразующих микроорганизмов, штамм	Видовой состав (количество штаммов)
01.12.2007	4	1	<i>B. subtilis</i>
01.01.2008	2	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.02.2008	2	1	<i>B. mesentericus</i>
01.03.2008	2	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.04.2008	4	2	<i>B. subtilis</i>
01.05.2008	6	3	<i>B. subtilis</i>
01.07.2008	2	1	<i>B. lichneformis</i>
01.09.2008	2	3	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i> (2)
01.10.2008	5	3	<i>B. subtilis</i> (2), <i>B. mesentericus</i>
01.11.2008	3	2	<i>B. subtilis</i>
01.12.2008	2	1	<i>B. lichneformis</i>
01.01.2009	3	1	<i>B. mesentericus</i>

Анализ численности микроорганизмов в муке пшеничной свидетельствовал о достаточно стабильном содержании мезофильных бактерий (сотни тысяч КОЕ/г) в данном ингредиенте на протяжении всего периода исследований. Исключение составили, как и в случае с мукой ржаной сеяной, пробы муки пшеничной, отобранные в сентябре 2008 г., содержащие более высокое количество микроорганизмов (рис. 2). Видовой состав микробиоты пшеничной муки был представлен 12 штаммами вида *B. subtilis*, 7 штаммами вида *B. mesentericus* и 2 штаммами вида *B. lichneformis*.

Результаты исследований микробиоты солода ржаного приведены на рис. 3 и в табл. 3.

Анализ результатов микробиологических исследований образцов солода показал следующее. Количество мезофильных бактерий в 1 г солода ферментированного составляло сотни тысяч – десятки миллионов КОЕ, а солода неферментированного – миллионы КОЕ. Полу-

ченные данные указывают на возможное несоблюдение режимов хранения данного сырьевого ингредиента. Видовой состав микробиоты солода ферментированного был представлен 9 штаммами вида *B. pumilus*, 9 штаммами вида *B. megaterium* и 4 штаммами вида *B. sphaericus*. Аналогичный состав микробиоты был характерен и для солода неферментированного. Отличие наблюдалось только в преобладании штаммов вида *B. sphaericus* (12 штаммов).

Результаты исследований микробиоты хлеба представлены на рис. 4 и в табл. 4.

На рис. 4 показано, что в процессе выпечки содержание микроорганизмов снижалось на 2–3 порядка. Однако изучение выделенных культур свидетельствовало о том, что микроорганизмы, способные вызвать «картофельную болезнь» хлеба, остаются жизнеспособными, несмотря на высокие температурные режимы процесса выпечки. При этом среди выживших микроорганизмов обнаруживались виды *B. subtilis* и *B. mesentericus*.

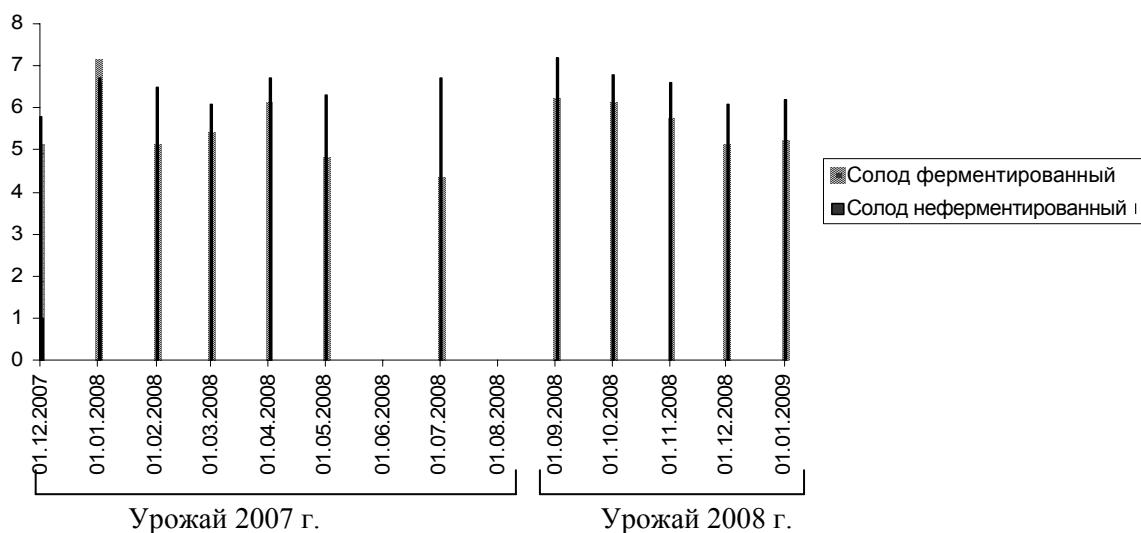


Рис. 3. Изменение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в солоде ржаном ферментированном и неферментированном за исследуемый период

Таблица 3

Видовой состав микробиоты солода ржаного за исследуемый период

Период исследования	Количество выделенных культур, штамм	Количество спорообразующих микроорганизмов, штамм	Видовой состав (количество штаммов)	
			солод ферментированный	солод неферментированный
01.12.2007	6	4	<i>B. pumilus</i>	<i>B. pumilus</i> , <i>B. sphaericus</i> (2)
01.01.2008	6	4	<i>B. megaterium</i> (2)	<i>B. sphaericus</i> (2)
01.02.2008	4	2	<i>B. sphaericus</i>	<i>B. pumilus</i>
01.03.2008	6	4	<i>B. pumilus</i>	<i>B. megaterium</i> (3)
01.04.2008	4	4	<i>B. pumilus</i>	<i>B. sphaericus</i> (3)
01.05.2008	6	3	<i>B. pumilus</i>	<i>B. sphaericus</i> (2)
01.07.2008	4	2	<i>B. megaterium</i>	<i>B. megaterium</i>
01.09.2008	8	5	<i>B. pumilus</i> (3)	<i>B. megaterium</i> (2)
01.10.2008	6	4	<i>B. sphaericus</i> (3)	<i>B. sphaericus</i>
01.11.2008	10	4	<i>B. pumilus</i> (2)	<i>B. sphaericus</i> (2)
01.12.2008	4	3	<i>B. megaterium</i> (2)	<i>B. pumilus</i>
01.01.2009	12	6	<i>B. megaterium</i> (4)	<i>B. pumilus</i> (2)



Рис. 4. Изменение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в хлебе «Нарочанский» за исследуемый период

Таблица 4

Видовой состав микробиоты хлеба «Нарочанский» за исследуемый период

Период исследований	Количество выделенных культур, штамм	Количество спорообразующих микроорганизмов, штамм	Видовой состав (количество штаммов)
01.12.2007	2	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.01.2008	3	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.02.2008	3	1	<i>B. subtilis</i>
01.03.2008	2	2	<i>B. subtilis</i>
01.04.2008	2	2	<i>B. subtilis</i>
01.05.2008	4	2	<i>B. subtilis</i>
01.07.2008	3	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.09.2008	4	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.10.2008	6	3	<i>B. subtilis</i> (2), <i>B. mesentericus</i>
01.11.2008	2	2	<i>B. subtilis</i>
01.12.2008	3	2	<i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i>
01.01.2009	4	2	<i>B. subtilis</i>

Результаты исследования количественного и видового состава микробиоты зернового сырья и готовой продукции приведены в табл. 5, из которой видно, что средняя численность микроорганизмов в 1 г зернового сырья, собранного в 2007–2008 гг., различалась незначительно, за исключением муки пшеничной 1-го сорта. Видовой состав микробиоты хлеба «Нарочанский» представлен теми же видами спорообразующих микроорганизмов, которые были выделены нами из образцов муки (табл. 5).

Заключение. Анализ результатов проведенных нами исследований позволяет сделать следующие выводы:

- источником контаминации готовой продукции бациллярными микроорганизмами является зерновое сырье;
- в процессе выпечки заварного хлеба общая численность бактерий снижалась на 2–3 порядка;
- температурные режимы выпечки заварных хлебов недостаточны для гибели бацилл, способных вызвать «картофельную болезнь» хлеба.

Таблица 5

Количественный и видовой состав зернового сырья и готовой продукции

Продукт	Среднее количество микроорганизмов, КОЕ/г		Видовой состав, % от выделенных микроорганизмов	
	Урожай 2007 г.	Урожай 2008 г.	Урожай 2007 г.	Урожай 2008 г.
Мука ржаная сеяная	$2 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$	<i>B. subtilis</i> (48), <i>B. mesentericus</i> (4)	<i>B. subtilis</i> (50), <i>B. mesentericus</i> (6), <i>B. pumilus</i> (6), <i>B. polymyxa</i> (6)
Мука пшеничная 1-го сорта	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$	<i>B. subtilis</i> (36), <i>B. mesentericus</i> (14), <i>B. lichneformis</i> (5)	<i>B. subtilis</i> (33), <i>B. mesentericus</i> (27), <i>B. lichneformis</i> (7)
Солод ржаной ферментированный	$4 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^5$	<i>B. pumilus</i> (11), <i>B. megaterium</i> (8), <i>B. sphaericus</i> (3)	<i>B. pumilus</i> (13), <i>B. megaterium</i> (15), <i>B. sphaericus</i> (7)
Солод ржаной неферментированный	$3 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$	<i>B. pumilus</i> (6), <i>B. megaterium</i> (11), <i>B. sphaericus</i> (25)	<i>B. pumilus</i> (8), <i>B. megaterium</i> (5), <i>B. sphaericus</i> (8)
Хлеб «Нарочанский»	$4 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^3$	<i>B. subtilis</i> (53), <i>B. mesentericus</i> (16)	<i>B. subtilis</i> (42), <i>B. mesentericus</i> (16)

Литература

1. Рахимберлина, Р. М. Частота обнаружения *Bac. mesentericus* в мучных изделиях и влияние его на пищевые качества хлеба / Р. М. Рахимберлина // II объединенный съезд гигиенистов, эпидемиологов и инфекционистов Казахстана: материалы: в 2 т., Алма-Ата, 3–5 сент. 1975 г. – Алма-Ата, 1975. – Т. 1. – С. 253–254.
2. Rogers, R. *Bacillus* isolated from refrigerated doughs, wheat flour and wheat / R. Rogers // *Cereal Chem.* – 1978. – № 5. – P. 671–674.
3. Abd-et-Malek, Y. Microbiological studies on Egyptian «Balady» bread-making II Microbial and chemical changes during dough fermentation / Y. Abd-et-Malek, M. A. El-Leithy, Y. N. Awad // *Chem., Microbiol., Technol. Lebensm.* – 1974. – № 5. – P. 148–153.
4. King, B. D. Microbial inhibition in bakery products a review / B. D. King // *Baker's Dig.* – 1981. – № 5. – P. 8–10, 12.
5. Афанасьева, О. В. Микробиологический контроль хлебопекарного производства / О. В. Афанасьева. – М.: Пищевая пром-сть, 1976. – 143 с.
6. Granum, P. E. Analysis of enterotoxin production by *Bacillus cereus* from dairy products, food poisoning incidents and non-gastrointestinal infections / P. E. Granum, S. Brynestad, J. M. Kramer // *Intern. J. Food Microbiol.* – 1993. – № 17. – P. 269–279.
7. Зверева, Л. Ф. Технология и технико-химический контроль хлебопекарного производства / Л. Ф. Зверева, З. С. Немцова, Н. П. Волкова. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. – 416 с.
8. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов: ГОСТ 10444.15-94. – Введ. 01.07.1996. – Минск: Госстандарт, 1994. – 12 с.
9. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студентов вузов / А. И. Нетрусов [и др.]; под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
10. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / пер. с англ.; под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 2. – 368 с.
11. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества *Staphylococcus aureus*: ГОСТ 10444.2-94. – Введ. 01.07.1996. – Минск: Госстандарт, 1994. – 16 с.
12. Продукты пищевые. Метод определения *Bacillus cereus*: ГОСТ 10444.8-88. – Введ. 01.01.1990. – М.: Госстандарт, 1988. – 16 с.