

УДК 579.672;579.678

ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТАТОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ МОЛОЧНО-РАСТИТЕЛЬНЫХ КОНСЕРВОВ

А. И. Гриневич, В. И. Ганина, С. В. Карпычев

CHARACTERISTICS OF RESIDUAL MICROFLORA IN MILK-AND-VEGETABLE CANNED FOOD

A. I. Grinevich, V. I. Ganina, S. V. Karpychev

Цель настоящей работы – изучение остаточной микрофлоры в виде покоящихся форм в молочных и молочно-растительных консервах. В результате были выделены покоящиеся формы штаммов микроорганизмов, изучены их морфологические и биохимические свойства, исследована возможность микробиологической порчи продукта при их развитии.

The present work aims at studying the properties of residual microflora in samples of milk and milk-and-vegetable canned food. As the result, some strains of microorganisms were identified, their morphological and biochemical properties were studied, the possibility of microbiological spoilage to the product during their reproduction was researched.

Ключевые слова: остаточная микрофлора, покоящиеся формы; жизнеспособные, но некультивируемые клетки; молочно-растительные консервы.

Keywords: residual microflora, dormant cells, viable but non-culturable cells, milk-and-vegetable canned food.

Обзор рынка молочной продукции свидетельствует о том, что больший сегмент в общем объеме потребления составляет питьевое молоко – 73 % (включая стерилизованное и ультрапастеризованное), на категорию обогащенных молочных продуктов приходится около 9 % [1].

Изменяющийся мир влияет на мнение и обуславливает увеличивающийся спрос населения на новые виды жидких молочных продуктов, в том числе длительного хранения. Самым востребованным молочным продуктом с длительным сроком годности является ультрапастеризованное молоко [7].

Возрастающий ассортимент молочной продукции инициирует необходимость совершенствования и разработки новых рецептур и технологий, оборудования, упаковочных материалов, способствующих предотвращению контаминации, снижению и уничтожению микроорганизмов, инаktivации ферментов, т. е. выпуску безопасной в микробиологическом отношении продукции. Тип микроорганизмов порчи зависит от вида молочного продукта, особенностей его производства, упаковки, соблюдения условий хранения, транспортирования и применения [10].

Однако в нашей стране и за рубежом отмечают случаи ухудшения показателей качества в поздние сроки годности продукции и в некоторых случаях её забраковки при стандартных микробиологических показателях в исходных свежих молочных и молочно-растительных консервах. К сожалению, причины возникновения таких изменений даже при соблюдении условий хранения продукции часто не ясны. Согласно литературным данным под влиянием стрессового воздействия микроорганизмы способны образовывать формы, выходящие из пролиферативного цикла, но сохраняющие возможность возвращения к активному росту и размножению. Подобные формы подразделяют на покоящиеся и некультивируемые [2; 4; 6].

Исследователи сообщают, что некультивируемые формы патогенных микроорганизмов *Vibrio cholera*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella dysenteriae*, а также энтеропатогенные штаммы *E. coli* и др., неспособные к образованию колоний на питательных средах при

контроле продуктов, сохраняют активность факторов вирулентности. Некоторые виды таких форм микроорганизмов, попадая в организм человека, способны при адгезии на клетках ткани человека возвращаться в культивируемое состояние [8; 9].

Покоящиеся формы – цистоподобные рефрактерные клетки – характеризуются совокупностью характеристик: отличие в морфологии и ультраструктурной организации от вегетативных клеток; длительное сохранение способности к репродукции; сниженная или экспериментально не выявляемая метаболическая активность; повышенная устойчивость к повреждающим воздействиям; образование в циклах развития культур [2; 4]. Покоящиеся формы характерны для неспорообразующих микроорганизмов, однако в условиях, когда образование спор невозможно, спорообразующие микроорганизмы так же способны формировать цистоподобные рефрактерные клетки, что показано для *Bacillus cereus* [6]. При переходе клеток в некультивируемое и покоящиеся состояние они уменьшаются в размере и имеют форму кокков [6]. В литературе сообщается о разных способах выделения покоящихся форм клеток микроорганизмов: стрессовое воздействие; сокращение питательных веществ в среде; внесение в питательную среду дополнительных факторов роста; внесение алкилоксибензолов микробного происхождения (АОБ) [2; 4; 6]. Однако данное направление требует проведения дальнейших исследований.

Всё это обусловило постановку исследовательской работы, направленной на выявление покоящихся форм микроорганизмов в молочных и молочно-растительных консервах. Исследования выполняются на кафедре «Технология мясных и молочных продуктов» ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств» совместно с Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности [3].

Объектами исследований являлись: стерилизованное молоко; ультрапастеризованное молоко для детского питания; сывороточный молочно-раститель-

ный напиток; молочно-растительный продукт для детского питания.

В исследованиях применяли стандартные микробиологические методы исследований, а также методы выявления покоящихся форм, изложенные в литературе и используемые для других объектов [2].

В результате изучения действия различных факторов, провоцирующих активизацию клеток, определены рациональные условия, которые позволяют выявлять наличие покоящихся форм клеток микроорганизмов в молочных и молочно-растительных консервах. Полученные данные представлены на рис. 1 и 2.

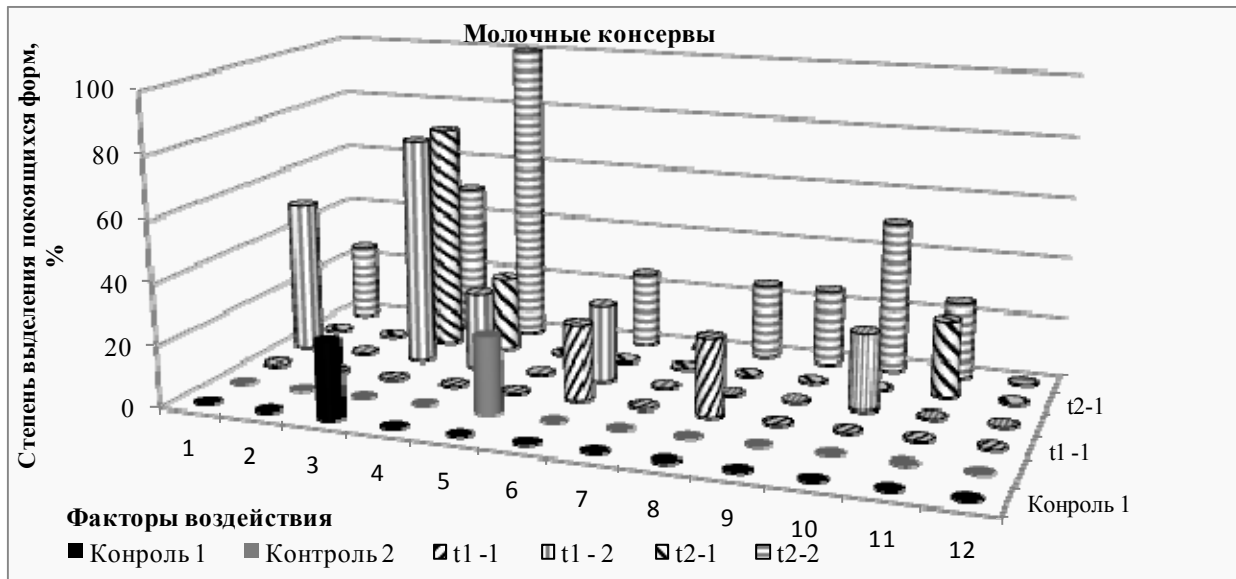


Рис. 1. Результаты сравнения действия факторов на выделение покоящихся форм микроорганизмов в молочных консервах: 1 – стерилизованное молоко, 2 – ультрапастеризованное молоко, подвергнутые температурному стрессу при t1 и t2



Рис. 2. Результаты сравнения действия различных факторов на выделение покоящихся форм микроорганизмов в молочно-растительных консервах: 1 – сыровоточный молочно-растительный напиток, 2 – молочно-растительный продукт для детского питания, подвергнутые температурному стрессу при t1 и t2

Анализ данных показывает, что температурное стрессовое воздействие в сочетании с 3, 4 и 6 фактором позволяет осуществлять более полное выделение покоящихся форм и является универсальным мето-

дом, как для молочных, так и для молочно-растительных консервов.

В результате проведенных исследований в молочных и молочно-растительных консервах были выяв-

лены некультивируемые формы микроорганизмов, способные переживать высокотемпературную обработку сырья и вызывать пороки в молочной продукции [3]. Полученные данные подтвердили мнения других учёных об общем биологическом явлении – возможности наличия некультивируемых и покоящихся форм клеток в различных биообъектах. Пока-

зано, что покоящиеся формы клеток могут находиться в молочных и молочно-растительных консервах.

В ходе исследований при использовании предложенного метода для выявления покоящихся форм микроорганизмов были выделены колонии, у которых изучили морфологические и биохимические свойства, некоторые из которых приведены в таблице 1.

Таблица 1

Морфологические и биохимические свойства покоящихся клеток микроорганизмов, выделенных из молочных и молочно-растительных консервов

Обозначение штамма	Источник выделения	Морфология колоний	Окраска по Граму	Температурный оптимум, °С	Способность синтезировать фермент	
					протеазу	липазу
2М	Ультрапастеризованное молоко	Кокки	Г-	37	-	-
2К1	Ультрапастеризованное молоко	Кокки	Г-	37	+	-
3Т1	Молочно-растительный стерилизованный напиток	Палочковидные	Г-	20 – 37	+	-
3Т2	Молочно-растительный стерилизованный напиток	Кокки	Г+	20 – 37	+	+
3Т	Молочно-растительный стерилизованный напиток	Палочковидные	Г-	20 – 37	-	+
1Т	Стерилизованное молоко	Кокки	Г-	37	+	-
1М1	Стерилизованное молоко	Кокки	Г-	37	-	+
4Т1	Молочно-растительный стерилизованный продукт для детского питания	Кокки	Г-	20 – 37	-	+
4М	Молочно-растительный стерилизованный продукт для детского питания	Кокки	Г-	20-37	-	+

Изучение морфологии выделенных штаммов показало, что клетки представляют собой кокки или палочки, при этом шесть штаммов являются грамотрицательными. Оптимум роста штаммов культур находился в интервале от 20⁰ С до 37⁰ С включительно и только три штамма показывали рост строго при 37 °С. Результаты изучения сахаролитической активности исследуемых штаммов с применением сред Гисса с углеводами, показали, что ни один штамм не ферментировал лактозу и только два штамма ферментировали сахарозу. Исследование продуцирования сероводорода у грамотрицательных штаммов, проведенное на среде Клиглера, свидетельствовало о том, что они не образовывали сероводород.

Способность некоторых выделенных штаммов микроорганизмов к синтезу протеаз подтверждалась зонами просветления, образующимися вокруг

колоний (рис. 3). Синтез липаз подтверждается ростом на специальной среде с говяжьим жиром (рис. 4).

Таким образом, проведенные исследования показали возможность выявления в молочных и молочно-растительных консервах остаточной микрофлоры в виде покоящихся форм клеток микроорганизмов. Выявлено, что выделенные штаммы покоящихся форм микроорганизмов способны вызывать порчу молочных консервов, приводя к гидролизу содержащихся в них жиров и белков.



Рис. 3. Протеолитические свойства выделенных штаммов покоящихся форм микроорганизмов



Рис. 4. Липолитические свойства штаммов покоящихся форм

Литература

1. Авчухова, А. Стерилизованное молоко: обзор рынка / А. Авчухова // Молочная промышленность. – 2013. – № 1. – С. 15 – 16.
2. Бутова, С. Н. Теоретические основы биотехнологии. Биохимические основы синтеза биологически активных веществ / С. Н. Бутова, И. А. Типисева, Г. И. Эль-Регистан; под общ. ред. И. М. Грачевой. – М.: Элевар, 2003. – 554 с.
3. Гриневиц, А. И. Микробиологическая безопасность молочных и молочно-растительных консервов / А. И. Гриневиц, В. И. Ганина, Р. А. Волкова // Молочная промышленность. – 2012. – № 8. – С. 58 – 59.
4. Структурное и физиологическое разнообразие цистоподобных покоящихся клеток бактерий рода *Pseudomonas* / А. Л. Мулюкин [и др.] // Микробиология. – 2008. – Т. 77. – С. 512 – 523.
5. Павлова, И. Б. Атлас морфологии популяции патогенных бактерий / И. Б. Павлова, Е. М. Ленченко, Д. А. Банникова. – М.: Колос, 2007.
6. Пахомов, Ю. Д. Роль некультивируемых форм неспорообразующих бактерий в поддержании гомеостаза популяции / Ю. Д. Пахомов, Л. П. Блинкова, Л. Т. Стоянова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. – № 4. – С. 57 – 66.
7. Тетра Пак прогнозирует рост потребления молока // Переработка молока. – 2010. – № 9. – С. 26 – 27.
8. Haque, M. M. Influence of Some Physicochemical Stresses on the Survival of *Vibrio cholerae* O1 at Non-Culturable State / M. M. Haque, S. I. Khan, C. R. Ahsan // J. Microbiol. – Bangladesh, 2007. – № 24. – P. 136.
9. Signoretto, C. Modification of the peptidoglycan of *Escherichia coli* in the viable but nonculturable state / C. Signoretto, M. M. Lleo, P. Sanepari // Curr. Microbiol. – 2002. – V. 44. – P. 131.
10. Sperber, W. H. Compendium of the microbiological Spoilage of Foods and Beverages / W. H. Sperber, M. P. Doyle // Springer New York Dordrcht Heidelberg. – London, 2009. – P. 367.

Информация об авторах:

Гриневиц Александра Ивановна – аспирант кафедры технологии мясных и молочных продуктов Московского государственного университета пищевой промышленности, 8-916-379-60-27, morunich@yandex.ru.

Alexandra I. Grinevich – post-graduate student at the Department of Technology of Meat and Milk Products, Moscow State University of Food Production.

Ганина Вера Ивановна – доктор технических наук, профессор кафедры технологии мясных и молочных продуктов Московского государственного университета пищевой промышленности.

Vera I. Ganina – research advisor, Doctor of Technical Sciences, Professor at the Department of Technology of Meat and Milk Products, Moscow State University of Food Production.

Карпычев Сергей Васильевич – кандидат технических наук, доцент кафедры технологии мясных и молочных продуктов Московского государственного университета пищевой промышленности.

Sergey V. Karpychev – Candidate of Technical Sciences, Assistant Professor at the Department of Technology of Meat and Milk Products, Moscow State University of Food Production.

Статья поступила в редколлегию 21.02.2014 г.