

## ОЦЕНКА УРОВНЯ ЗАРАЖЕННОСТИ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОН ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КАРТОФЕЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ХЛЕБА

В статье произведена оценка зараженности зерна пшеницы различных природно-географических зон районирования Оренбургской области спорами возбудителей картофельной болезни хлеба методом вакуумной мембранной фильтрации с использованием питательных картонных подложек. Выявлены зависимости зараженности пшеницы различных зон бактериями *Bacillus subtilis* и *Bacillus Mesentericus*, сделаны выводы о связях уровня контаминации зерна с почвенно-климатическими условиями.

**Ключевые слова:** картофельная палочка, вакуумная мембранная фильтрация, яровая пшеница, зоны районирования.

В большинстве стран мира зерно и продукты его переработки являются основным источником питания для человека и кормом для сельскохозяйственных животных. Поэтому проблема микробиологического загрязнения зерна является одним из главенствующих факторов, определяющих здоровье населения и сохранения его генофонда. В связи с этим одной из важных проблем в хлебопекарной промышленности является оценка микробиологической зараженности зернового сырья, а также предупреждение картофельной болезни пшеничного хлеба [1].

В зерне сконцентрированы различные питательные вещества, и потому оно является благоприятным субстратом для развития микроорганизмов. Только один грамм зерновой массы содержит от нескольких сотен до нескольких тысяч микроорганизмов [2]. Развитие этих микроорганизмов является одной из возможных причин снижения качества зерна пшеницы и других зерновых культур при хранении. В зависимости от условий хранения зерновой массы изменения в численном и видовом составе ее микрофлоры могут носить различный характер [3].

Возбудителями картофельной болезни хлеба являются спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis* и их физиолого-морфологического варианта *Bacillus Mesentericus*. Их основная масса начинает накапливаться в зерне еще во время уборки, попадая в него с пылью, частицами почвы и из других источников, развивается в процессе приготовления хлеба и вызывает его порчу. Интенсивность обсемененности

зерновой массы зависит от почвенно-климатических условий, технологии послеуборочной обработки растений, длительности хранения, качества очистки поверхности зерна и т. д.

До настоящего времени для зерна и муки не разработаны критерии качества по микробиологическим показателям. Однако из литературных источников известно, что качество муки можно считать хорошим, если в ней содержание спорообразующих аэробных бактерий (САБ) *B. subtilis* – возбудителя картофельной болезни хлеба не более 200 КОЕ/г (КОЕ – колониеобразующих единиц). Известно также, что мука, содержащая до 10 КОЕ/г САБ, считается слабо, до 100 КОЕ/г умеренно, более 1000 КОЕ/г сильно зараженной [4].

Споровые бактерии, попадая в организм человека, способны вызывать очень серьезные нарушения функционирования иммунной системы, желудочно-кишечного тракта, печени, органов дыхания, нервной системы. Поэтому даже если споровые бактерии не вызывают картофельной болезни хлеба, все же их наличие в готовых изделиях нежелательно [5].

В последние годы распространение картофельной болезни хлеба заметно увеличилось. Это связано с открытием большого количества мини-пекарен, в которых микробиологический контроль поступившей муки практически не ведется [6].

Учитывая вышеизложенное, представляет интерес оценка микробиологической обсемененности пшеницы Оренбургской области.

С целью определения числа колониеобразующих единиц спорообразующих бактерий

группы картофельной палочки *B. subtilis* и *B. mesentericus* был проведен анализ 13 образцов наиболее популярных сортов яровой пшеницы, урожая 2004-2008 годов, выращенной в западной, центральной и восточной зонах Оренбургской области.

Исследованные сорта являются в настоящее время лидерами посевов в нашей области: мягкие «Варяг», «Оренбургская-13» и твердые «Оренбургская-10», «Оренбургская-2». На долю этих сортов приходится до 86% площади сельскохозяйственных угодий, отведенных на посев яровой пшеницы в нашем крае.

В настоящее время известные методы определения контаминированности зерна страдают известными недостатками. Метод пробной лабораторной выпечки трудоемок и в случае заражения штаммами, имеющими низкую амилолитическую активность, даже при значительных концентрациях не дает положительных результатов.

Известен экспресс-метод диагностики картофельной болезни по активности спорных бактерий в хлебопекарном сырье и готовой продукции, результаты которого свидетельствуют о качественных показателях бактерий в протеолитическом отношении, не являются информативными в плане количественной оценки зараженности и также часто представляют искаженную картину о реальной степени зараженности сырья [7].

Для количественной оценки степени зараженности зерна пшеницы использовался хорошо зарекомендовавший себя метод мембранной фильтрации микроорганизмов на оборудовании фирмы Sartorius. Микробиологический контроль методом мембранной фильтрации в настоящее время широко применяется в пищевой промышленности, для мониторинга микробиологической обсемененности безалкогольных напитков и пива. Данный метод позволяет избежать предварительной сложной и трудоемкой подготовки, связанной с варкой питательных сред, сложной обработкой образцов, длительным культивированием, что позволяет сократить длительность анализа, проводить селективный анализ микроорганизмов, применять для широкого спектра хлебобулочных изделий. Метод стандартизирован в соответствии с международными требованиями, на его использование имеется разрешение Минздрава РФ (№2000/373 от 04.08.2000 г.) [8].

Подготовка сырья проводилась по ГОСТ 26669-85 «Подготовка проб для микробиологического анализа». Количество спорообразующих бактерий учитывали из смывов, прогретых на водяной бане в течение 10 минут при 80 °С для исключения роста неспорной микрофлоры. При приготовлении смывов руководствовались ГОСТ Р 51426-99 «Общее руководство по приготовлению разведений для микробиологических исследований».

Смывы из исследуемых образцов зерна пшеницы высевались на питательные картонные подложки (ПКП) фирмы Sartorius со средой Standard-TCC, так как именно эта среда является селективно-дифференциальной для бактерий *B. subtilis* и *B. mesentericus*, позволяя получать их высококонтрастные колонии. ПКП являются готовыми к использованию питательными средами, разработанными специально для использования совместно с системой мембранной фильтрации.

Посевы культивировали при 37 °С в течение 48 часов. Для документирования результатов мембранные фильтры высушивали при комнатной температуре, после облучали бактерицидной лампой в течение 10 минут, с целью уничтожения вегетативных форм микроорганизмов.

На рисунках 1, 2 представлены фотографии задокументированных мембранных фильтров некоторых образцов, наглядно демонстрирующих развитие колоний бактерий на питательной среде.

Для максимальной контрастности изображения, с целью его последующей математической обработки съемка велась с использованием зеленого фильтра.

Для ускорения работы и автоматизации подсчета колоний воспользовались программным пакетом SPOTSCALC 1.1. Данный продукт предназначен для сравнительного анализа изображения с целью подсчета числа, размера, координат контрастных участков – «пятен» на изображении.

Пример работы приложения показан на рисунке 3.

Результаты анализа всех изученных образцов зерна представлены на графике – рисунок 4. Как видно из таблицы, показатели обсемененности сильно зависят от зоны произрастания. Стоит отметить у всех образцов весь

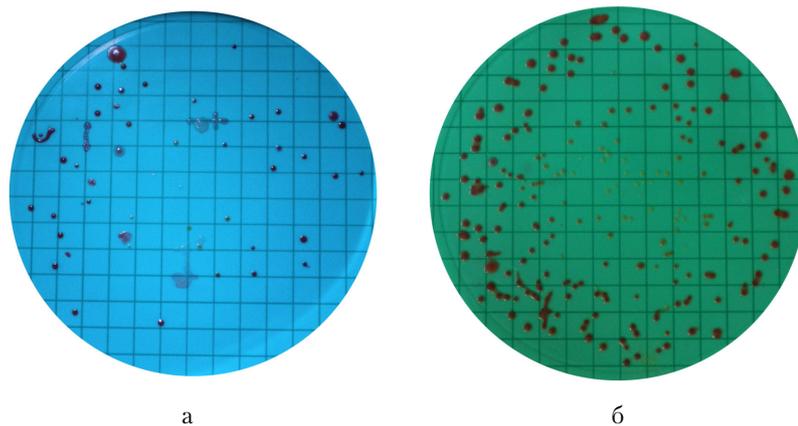


Рисунок 1. Фильтр с колониями из смывов образцов пшеницы:  
а – сорт Оренбургская-21 Центральной зоны, б – сорт Безенчукская-200  
Западной зоны

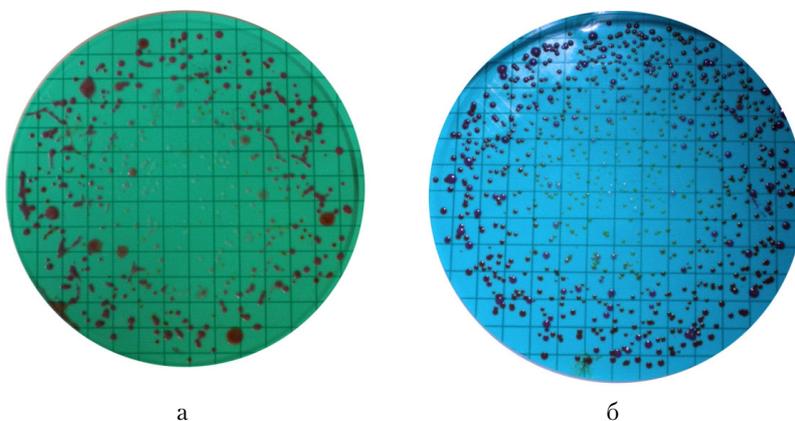


Рисунок 2. Фильтр с колониями из смывов образцов пшеницы:  
а – сорт Л-503 Западной зоны, б – сорт Учитель Восточной зоны

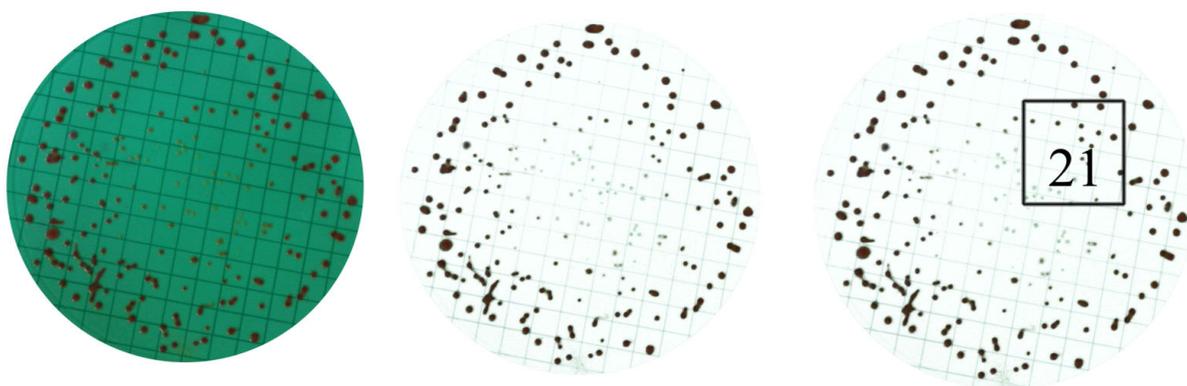


Рисунок 3. Анализ изображения с целью подсчета числа колоний на мембранном фильтре

ма высокую обсемененность – от средне зараженной до сильно зараженной, варьирующую от 200 КОЕ/г до 3000 КОЕ/г. Однако, если содержание *B. subtilis* и *B. mesentericus* в смывах образцов Западной и Центральной зоны, как правило, не превышает 700–800 КОЕ/г, то у образцов Восточной зоны оно гораздо выше – вплоть до 3000 КОЕ/г.

На развитие в почве сенной палочки, а также на ее перенос на поверхность зерна и в дальнейшем в муку влияет огромное множество параметров, начиная от погодных условий и заканчивая агротехническими приемами. Так, например, бесконтрольное применение азотсодержащих удобрений существенно увеличивает число колоний сенной палочки в почве.

Предположительно большая обсемененность восточных районов связана с их почвенно-климатическими условиями. Климатические и почвенные условия Оренбургской области характеризуются особенностями, вызванными большой протяженностью территории в широтном и в меридиональном направлениях, сложным геологическим строением и разнообразием рельефа, наложившими свой отпечаток на почвенный и растительный покров.

Наиболее полной характеристикой увлажненности (влагообеспеченности) территории является гидротермический коэффициент Селянинова (ГТК). Гидротермический ко-

эффициент в северной части региона указывает на незначительную засушливость климата (ГТК 0,8...1,1), на большей части территории, в центральных и западных районах, – засушливость (ГТК 0,6...0,8) и в юго-восточной части – сильную засушливость (ГТК менее 0,6) [8].

В районах с преимущественно засушливым климатом сенная и картофельная палочки, являясь спорообразующими, лучше других микроорганизмов переносят негативные природные явления. Конкуренция со стороны других бактерий и грибов в этих районах гораздо ниже. Вероятно, отчасти по этой причине зерно этих районов более обсеменено *B. subtilis* и *B. mesentericus*.

Определение среднеквадратичного отклонения как наиболее распространенного показателя рассеивания значений случайной величины относительно ее математического ожидания, сделанное с использованием программного обеспечения MathCAD, показало, что практически все значения КОЕ в зерне лежат в интервале нормально распределенной случайной величины, что характеризует хорошее распределение результатов анализа. Разница в результатах между сортами образцов одной зоны объясняется, по-видимому, разницей в почвенных условиях произрастания зерна, а также различиями в технике и технологии послеубо-

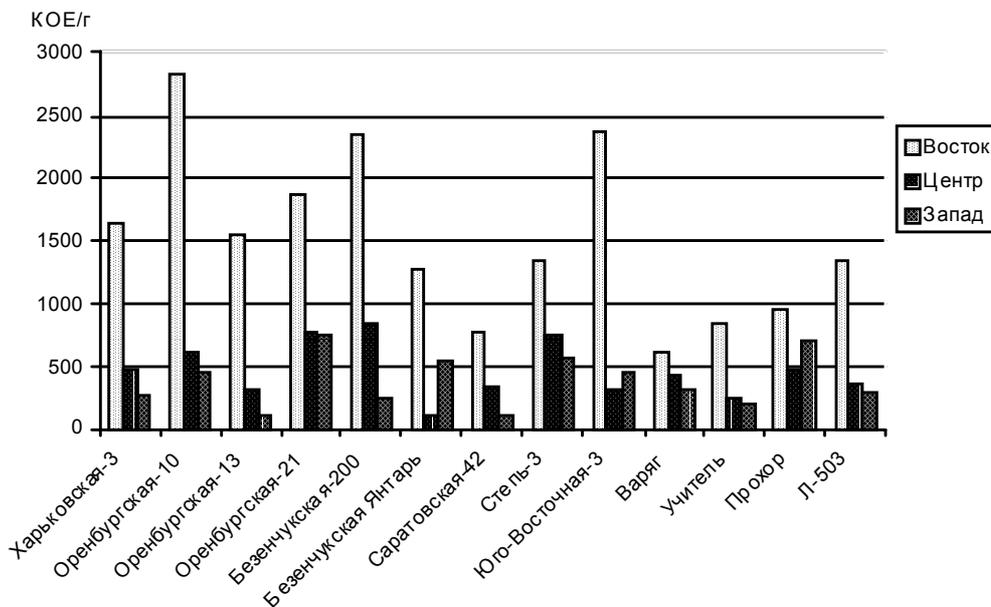


Рисунок 4. Уровень зараженности зерна пшеницы различных зон районирования спорами *B. subtilis* и *B. mesentericus*

рочной обработки пшеницы, что и обуславливает дифференциацию результатов в пределах зоны в среднем на 300–500%.

Резюмируя вышеизложенные выводы результатов анализа, можно заключить, что практически все исследованные образцы характеризуются большой зараженностью спорами «картофельной палочки», образцы преимущественно Восточной зоны Оренбургской области отличаются в 2–4 раза большим уровнем конта-

минированности, что может быть объяснено ее почвенно-климатическими особенностями. Для выявления закономерностей влияния почвенных особенностей зон районирования на уровень контаминации зерновых культур спорообразующими бактериями необходимы дальнейшие исследования взаимосвязи содержания микроорганизмов в почве и на поверхности зерна пшеницы.

27.10.2009

**Список использованной литературы:**

1. Афанасьева, О.А. Микробиологический контроль хлебопекарного производства / О.А. Афанасьева. - М.: Пищевая промышленность, 1976. - С. 113.
2. Егоров, В.В. Практикум по микробиологии / В.В. Егоров. - М.: Изд-во МГУ, 1986. - С. 35-42.
3. Омельченко, В.Д. Зерна, поврежденные и испорченные микроорганизмами и самосогреванием как критерий санитарно-гигиенического состояния пшеницы и кукурузы / В.Д. Омельченко - Автореф. дисс. канд. техн. наук. - М., - 1991. - С. 1-9.
4. Инструкция по предупреждению картофельной болезни хлеба / ГосНИИХП. - М. - 1998.
5. Пучкова, Л.И. Технология хлеба / Л.И. Пучкова, Р.Д. Поландова, И.В. Матвеева - СПб.: ГИОРД, - 2005.
6. Витавская, А.В. Биологическая защита хлеба от картофельной болезни хлеба / А.В. Витавская, Г.Н. Дудикова, К.А. Тулемисова. - Алматы, 1998. - С. 4-32.
7. Клевакин, В.М. Санитарная микробиология пищевых продуктов / В.М. Клевакин, В.В. Карцев. - Л.: Медицина - 1986. - С. 164.
8. Крючков А.Г. Основные принципы и методология агроэкологического районирования зерновых культур в степи Южного Урала / А.Г. Крючков. // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук - 2006. - С. 704.

Сведения об авторах:

Медведев П.В., профессор кафедры технологии пищевых производств  
Оренбургского государственного университета, доктор технических наук  
Степанов А.С., преподаватель кафедры экологии и природопользования  
Оренбургского государственного университета, кандидат технических наук  
Федотов В.А., аспирант кафедры технологии пищевых производств  
Оренбургского государственного университета

460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, тел. 89225442488, e-mail – vestnik@reallab.info

Medvedev P.V., Stepanov A.S., Fedotov V.A.  
EVALUATION LEVELS FOR THE WHEAT GRAINS FROM DIFFERENT NATURAL AND GEOGRAPHICAL ZONES OF ORENBURG OBLAST BY SPORES OF THE ROPE PATHOGENS

The paper made evaluation of contamination levels for the wheat grains from different natural and geographical zones of Orenburg Oblast by spores of the rope pathogens through the method of vacuum membrane filtration with the use of nutritious cardboard substrates. The paper revealed wheat contamination level functions of different zones by bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus Mesentericus*; conclusions were made of correlations between grain contamination levels and soil and climatic conditions.

Key words: potato bacillus, vacuum membrane filtration, spring wheat, zoning areas.

Bibliography:

1. Afanasyev, O. Microbiological control of bakery production / OA Afanasyev. - Moscow: Food Industry, 1976. - S. 113.
2. Egorov, VV Workshop on Microbiology / VV Egorov. - Moscow: MGU, 1986. - S. 35-42.
3. Omelchenko, VD Grains, damaged and spoiled by microorganisms and self-warming as a criterion of hygienic conditions of wheat and maize / VD Omelchenko - Cand. diss. Cand. Technical. Science. - M., - 1991. - S. 1-9.
4. How to prevent potato diseases bread / GosNIHHP. - M. - 1998.
5. Puchkov, LI Technology bread / LI Puchkov, RD Polandova, IV Matveeva - St. Petersburg.: GIORД - 2005.
6. Vitavskaya, AV Biological protection of bread from the bread, potato disease / A. Vitavskaya, GN Dudikova, KA Tulemisova. - Almaty, 1998. - S. 4-32.
7. Klevakin, VM Sanitary microbiology food / VM Klevakin, V. Kartsev. - L.: Medicine - 1986. - S. 164.
8. Kryuchkov, AG Basic principles and methodology of agro-ecological zoning of crops in the Southern Urals steppe / AG Kryuchkov. // Bulletin of the Russian Academy of Agricultural Sciences - 2006. - S. 704.