

## ФАКТОРЫ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ЗЕРНА СПОРАМИ *BACILLUS SUBTILIS* И *BACILLUS MESAENTERICUS*

**В статье приводятся результаты лабораторных анализов степени обсемененности спорообразующими микроорганизмами зерна пшеницы, выращенного в различных природно-географических зонах Оренбургской области.**

**Ключевые слова:** микроорганизмы, обсемененность, картофельная болезнь, зерно, хлеб.

Микробное загрязнение протекает на всех этапах жизненного цикла зерна: в поле, во время уборки, при транспортировке, хранении, переработке. Их основная масса начинает накапливаться в зерне еще во время уборки, попадая в него с пылью, частицами почвы и из других источников, развиваются в процессе приготовления хлеба и вызывают его порчу. Интенсивность обсемененности зерновой массы зависит от почвенно-климатических условий, технологии послеуборочной обработки растений, качества очистки поверхности зерна и т.д. [1]

Численный и видовой состав микрофлоры растений в значительной степени зависит от температуры и влажности среды. При влажной теплой погоде на поверхности растений преобладают бесспорные палочковидные бактерии, в сухую, жаркую вместо них появляются спорообразующие *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides* и др. В условиях влажной прохладной погоды часто развиваются мицелиальные грибы родов *Fusarium*, *Rhizopus* и др. [2]

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 наличия в готовых изделиях нежелательно [3]. В последние годы распространение картофельной болезни хлеба заметно увеличилось. Это связано, с открытием большого количества минипекарен, в которых микробиологический контроль поступившей муки практически не ведется.

Для количественной оценки степени зараженности зерна пшеницы использовался метод мембранной фильтрации микроорганизмов на оборудовании фирмы Sartorius. Количество спорообразующих бактерий учитывали из смывов, прогретых на водяной бане в течение 10 минут при 80 °С для исключения роста неспоровой микрофлоры. Смывы из исследуемых образцов зерна пшеницы высевались на питательные картонные под-

ложки фирмы Sartorius со средой Standard-TСС, так как именно эта среда является селективно-дифференциальной для бактерий *B.subtilis* и *B.mesentericus*, позволяя получать их высококонтрастные колонии [4]. Для автоматизации подсчета колоний воспользовались программным пакетом Open Source Computer Vision Library (OpenCV), библиотеки алгоритмов компьютерного зрения, предназначенной для сравнительного анализа изображения, с целью подсчета числа, размера, координат контрастных участков – «пятен» на изображении. Также, проводили оценку уровня зараженности пахотного слоя почв различных районов произрастания зерна яровой пшеницы. Протеолитическую активность бактерий *B.subtilis* и *B.mesentericus* по диаметру зон протеолиза при высеве на молочный агар [5].

Объектами исследований служили образцы 13 сортов яровой пшеницы 3 зон районирования Оренбургской области – Восточной, Центральной и Западной зон. Смывы с зерна использовали для посевов на мембранные фильтры. Результаты анализа зерна представлены на графике (рисунок 1), из которого следует, что показатели обсемененности явно зависят от зоны произрастания. Стоит отметить у всех образцов весьма высокую обсемененность – от средне зараженной до сильно зараженной, варьирующую от 200 КОЕ/г (КОЕ/г – колониеобразующих единиц на 1 грамм) до 2500 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 2500 КОЕ/г.

Разница в результатах между сортами образцов одной зоны объясняется, по-видимому, морфологическими различиями зерновки (размером бороздки), что обуславливает разброс результатов в пределах зоны на 300 – 500 %.

Практически все исследованные образцы характеризуются большой зараженностью спорами «картофельной палочки», образцы преимущественно Восточной зоны Оренбургской области

отличаются в 2 – 4 раза большим уровнем контаминации (среднее значение уровня зараженности зерна для Восточной зоны – 1500 КОЕ/г, для Центральной – 450 КОЕ/г, для Западной – 350 КОЕ/г), что может быть объяснено ее почвенно-климатическими особенностями.

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.

Для выявления закономерностей влияния природно-климатических особенностей зон районирования на уровень контаминации зерновых культур спорообразующими бактериями проводили исследования взаимосвязи содержания микроорганизмов в почве и на поверхности зерна пшеницы. Для этого проводили оценку уровня зараженности пахотного слоя почвы тех же районов, где произрастали исследованные образцы зерна яровой пшеницы.

Образцы почвы Восточной зоны отличаются гораздо большими показателями обсемененности, вплоть до 175 тысяч КОЕ/г, уровень обсемененности Центральной и Западной зон не превышает 75 тысяч КОЕ/г.

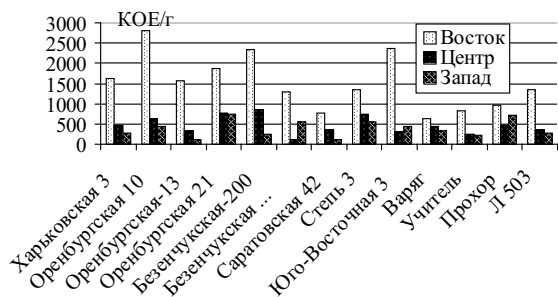


Рисунок 1. Уровень зараженности зерна пшеницы различных зон районирования спорами *V.subtilis* и *V.mesentericus*

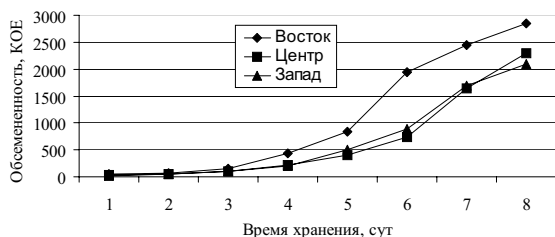


Рисунок 2. Динамика обсемененности у пробной выпечки, произведенной из образцов яровой пшеницы разных зонах

Коэффициент корреляции при уровне значимости  $p < 0,05$  равный 0,93 говорит о сильной зависимости обсемененности зерна от степени зараженности почвы спорами. Выявленная корреляция обсемененности зерна и пахотного слоя почвы становится понятной, если предположить, что технология очистки зернового сырья в разных районах Оренбургской области отличается несущественно.

Разброс значений диаметров протеолиза у образцов зерна из разных районов трех зон районирования составляет от 8 до 32 мм. Преимущественно наибольшими значениями отличаются районы Центральной (Октябрьский район – 32 мм, Шарлыкский – 25 мм) и Западной (Первомайский район – 31 мм, Тоцкий – 24 мм) зон.

Образцы Центральной и Западной зон проявили высокую протеолитическую активность. Так, диаметр зоны протеолиза достигал у них 17-32 мм, в то время как для образцов Восточной зоны характерны значения диаметра зон протеолиза 8-15 мм.

Разные штаммы бактерий обладают различной ферментативной активностью, поэтому проявления признаков поражения готовых изделий картофельной болезнью лишь косвенно свидетельствует о численности колониеобразующих спор *V.subtilis* и *V.mesentericus*. Штаммы образцов бактерий многих районов Восточной зоны обладают низкой ферментативной активностью, и потому, даже в весьма высокой концентрации долгое время не вызывают появления признаков картофельной болезни.

С целью определения увеличения количества бактерий картофельной и сенной палочки при хранении в хлебном мякише были сделаны пробные выпечки из образцов зерна, выращенного в Восточной, Центральной и Западной зонах. Образцы хранились в условиях максимально благоприятных для развития «картофельной» болезни. Каждые сутки проводили измерения уровня развития в них спорообразующих бактерий. Графически их скорость развития (в КОЕ) представлена на рисунке 2.

Образцы восточной зоны, проявляя большую амилитическую и протеолитическую способность, быстрее расщепляют углеводный и белковый комплексы муки, тем самым лучше подготавливая субстрат для своего развития. Начиная с 4 суток хранения образцов пробной выпечки, они показывают большую численность спорообразующих бактерий. Через 7 суток разница в уровне обсемененности образцов восточной зоны составляет более 40 % (2500 КОЕ/г – у образцов восточной зоны, 1500 КОЕ/г – у образцов центральной и западной зон).

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. 15.09.2011

**Список литературы:**

1. Мармузова, Л. В. Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности : учебник для студ. сред. проф. учеб. заведений / Л. В. Мармузова .- 2-е изд., стер.. – М. : Академия, 2004. – 136 с. – 37-38 с.]
2. Почвенная микробиология: пер. с англ. В.В. Новикова / под ред. Д.И. Никитина . – М. : Колос, 1979. – 93-94 с.
3. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов. – М.: Медицина. – 1988. – 342 с.
4. Егоров В.В. Практикум по микробиологии. -М.: Изд-во МГУ -1986.-С.35-42.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. проф. Д. Г. Звягинцева. – Изд-во МГУ. – 1991. – 304 с.

**UDC 633.11:620.21:502 / 504 (470.56)**

**Medvedev P.V., Fedotov V.A.**

Orenburg state university, e-mail: reallab@reallab.info

**FACTORS CONTAMINATION GRAIN DISPUTES BACILLUS SUBTILIS AND BACILLUS MESENTERICUS**

This article presents the results of laboratory analysis – estimation the degree of contamination for the spore-forming microorganisms of wheat grown in different natural-geographical zones of the Orenburg region.

Key words: microorganisms, seeding, potato disease, grain, bread.

**Bibliography:**

1. Marmuzova, L. Fundamentals of microbiology, sanitation and hygiene in the food industry: a textbook for stud. environments. prof. Textbook. Institutions / LV Marmuzova .- 2nd ed. sr .. – М.: Academia, 2004. – 136. – 37-38 с.]
2. Soil microbiology: Lane. from English. VV Novikov / ed. DI Nikitin. – М.: Kolos, 1979. – 93-94 sec.
3. Skurikhin IM Tutelian VA Guidance on how to analyze the quality and food safety. – Moscow: Medicine. – 1988. – 342 sec.
4. Egorov VV Workshop for Microbiology. -M. Izd-vo MGU, 1986.-P.35-42.
5. Methods of soil microbiology and biochemistry / ed. prof. DG Zvyagintsev. – Moscow State University. – 1991. – 304.