

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ГИБЕЛИ СПОР *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* ВО ФРУКТОВЫХ КОНСЕРВАХ

Р.А. Волкова, Т.А. Позднякова, М.Т. Левшенко

В Российской Федерации считается, если величина рН консервов из персиков, абрикосов и груш превышает 3,8, в них возможно развитие и токсинообразование Clostridium botulinum, поэтому они выделены в отдельную группу. Недавними исследованиями установлено, что существующее выделение консервов из персиков, абрикосов и груш в особую группу, необходимо пересмотреть, так как споры C. botulinum в этих консервах с рН ниже 4,5 не развиваются, а гибнут с различной скоростью, в зависимости от величины рН консервов.

В представленной работе продолжено изучение кинетики гибели спор C. botulinum во фруктовых консервах из тропических фруктов манго и бананов с рН от 3,8 до 4,5. Экспериментально установлена кинетика гибели спор C. botulinum при хранении консервов из манго и бананов в течение 24 месяцев. К концу двухгодичного срока хранения в продукте с рН 3,9 и 4,2 остались жизнеспособными лишь единичные споры в см³ продукта, а в продукте с рН 4,5 выжили десятки спор в см³ продукта. Кинетика гибели спор C. botulinum в манговом и банановом пюре аналогична скорости гибели спор в абрикосовом пюре при равных значениях рН продукта.

Таким образом, проведенные исследования подтверждают предложение изменить подходы к делению фруктовых консервов на группы и соответственно, к разработке режимов стерилизации (пастеризации) консервов из абрикосов, персиков и груш.

Ключевые слова: Clostridium botulinum, консервы из абрикосов, манго и бананов, выживаемость бактериальных спор, рН консервов, деление консервов на группы.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших отраслей пищевой промышленности является производство фруктовых консервов для детского питания. Манго и бананы широко используются при производстве пюреобразных консервов для детского питания.

В Российской Федерации консервы, в зависимости от их активной кислотности (рН) продукта, делятся на группы А, Б, В и Г [1]. Деление консервов на эти группы связано с возможностью развития в них *C. botulinum*. В Российской Федерации считается, что в консервах групп А и Б с рН более 4,2 и неконцентрированных томатных продуктах развитие *C. botulinum* возможно, в концентрированных томатных продуктах и консервах группы В с величиной рН 3,7-4,2 – маловероятно, в консервах группы Г с рН менее 3,7 – невозможно [2,3].

В работах [4] и [5], проведенных в 60-70 годах XX века, показана возможность развития и токсинообразования *C. botulinum* в консервах из абрикосов с рН ниже 4,0. Однако данные исследования не бесспорны. На основании этих экспериментов, вся нормативная документация по контролю производства фруктовых консервов из абрикосов, персиков

и груш, в части определения соответствия консервов требованиям промышленной стерильности, основана на том, что данные виды консервов, как исключение, включены в группу А [1]. Следовательно, при выработке этих консервов с рН выше 3,8 их стерилизуют при температуре порядка 110 °С в течение времени, обеспечивающего гибель спор *C. botulinum*.

Недавними исследованиями [6] установлено, что существующее выделение консервов из персиков, абрикосов и груш в группу А, необходимо пересмотреть, так как споры *C. botulinum* в этих консервах с рН ниже 4,5 не развиваются, а гибнут с различной скоростью, в зависимости от величины рН консервов.

Для расширения ассортимента ранее исследованных фруктовых консервов [6], по изучению кинетики гибели спор, нами были изучены пюре из манго и бананов.

Цель исследования: изучить кинетику гибели спор *C. botulinum* в продуктах из манго и бананов с рН ниже 4,5. Это необходимо для разработки научно обоснованных режимов стерилизации и пастеризации фруктовой консервированной продукции, обеспечивающих ее качество и безопасность.

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ГИБЕЛИ СПОР *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* ВО ФРУКТОВЫХ КОНСЕРВАХ

Задача исследования: проведение на современном уровне репрезентативного комплекса экспериментов для изучения кинетики гибели спор *C. botulinum* в однокомпонентных консервах из манго и бананов с pH ниже 4,5. Доказательство гибели спор *C. botulinum* в данных консервах с pH ниже 4,5 станет дополнительной базой для того, что бы отнести консервы из абрикосов, персиков и груш к группе Г, вместо существующего, в виде исключения, к группе А. Консервы из фруктового сырья имеют гарантированный срок годности 1-2 года. Исходя из этого, актуальным является исследование кинетики гибели спор *C. botulinum* в течение данного срока годности консервов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Использованные методы описаны в статье [6]. Исследования проводили с использованием музейных культур микроорганизмов, имеющих в лаборатории качества и безопасности пищевой продукции ВНИИТеК. В работе использовали споры *C. botulinum* типа В (штамм В-364). Этот тип является наиболее частым возбудителем пищевых отравлений ботулинической этиологии от плодоовощных консервов. Вторым штаммом был взят *C. botulinum* типа А (штамм А-98), как наиболее кислотоустойчивый тип [3].

Споровые суспензии *C. botulinum* для заражения консервов получали в соответствии с «Положением о разработке режимов стерилизации и пастеризации консервов...» [7] на жидкой питательной среде, содержащей гидролизат казеина – «Soyabean Casein Digest Medium – Tryptone Soya Broth» («HiMedia», Индия). На этой среде были получены суспензии, содержащие не менее 70 % спор.

Титр полученных споровых суспензий определяли методом десятикратных разведений с посевом по 1 см³ каждого из приготовленных разведений на плотную питательную среду в трубки Вейона с последующим прямым подсчетом числа выросших колоний. С целью повышения статистической надежности результатов подсчета, посев проводили в две параллельные трубки Вейона на одно разведение. Полученные суспензии содержали не менее 1,0×10⁷ спор в 1 см³.

Подсчет количества выросших колоний проводили способом прямого учета их числа по ГОСТ ISO 7218-2015 [8]. При этом рассчитывали число спор, присутствующих в пробе,

как средневзвешенное значение из двух подсчетов последовательных разведений по формуле:

$$N = \sum c / (V \times 1,1 \times d), \quad (1)$$

где: N – количество спор, $\sum c$ – сумма колоний, подсчитанных в двух параллельных трубках Вейона, выбранных для подсчета из двух последовательных разведений, V – объем посевного материала, внесенного в каждую трубку Вейона (см³), d – коэффициент разведения, соответствующий первому выбранному разведению (в случае отсутствия разведения - d = 1). Результат вычисления округляли до двух значащих цифр.

Образцы фруктовых консервов для заражения спорами вырабатывали в соответствии с Технологической инструкцией (ТИ) по производству фруктовых пюреобразных консервов для детского питания [9].

Для доведения pH продукта, до требуемой величины в консервах, использовался способ прямого подкисления или подщелачивания приготовленных пюре [10]. Натуральное пюре из манго имело низкое значение величины pH около 3,7 поэтому, чтобы получить продукт с pH 3,8 и 4,0, пюре подщелачивали. Пюре из бананов, имевшее начальную величину pH 4,48, доводили подкислением до величины pH 3,9 и 4,2.

Полученный продукт, имеющий температуру 60 °С, расфасовывали в стеклянные бутылки вместимостью 250 см³ с крышками «Твист-Офф» винтового типа. Бутылки укупоривали вручную, затем стерилизовали в водяном автоклаве в соответствии с ТИ.

В простерилизованные образцы консервов вносили, открывая бутылки, с соблюдением правил асептики смесь спор *C. botulinum* типов А и В, в равном соотношении, в количестве около 1,0×10⁴ спор на 1 см³ продукта. Перед внесением спор, для исключения избыточного растворения воздуха и сохранения анаэробных условий, консервы прогревали в термостате при температуре 60 °С около 60 мин.

Консервированные продукты, зараженные смесью спор *C. botulinum* типов А и В, хранили в оптимальных для развития спор условиях – при температуре 30±1 °С. После заражения и через каждые 3 месяца хранения консервов проводили определение количества выживших спор в продукте [11].

Определение величины pH проводили непосредственно в продукте потенциометрическим методом с использованием pH метра «HANNA pH 211» (Румыния). Суммарная погрешность определения pH этим прибором не

более $\pm 0,05$ рН в диапазоне 2 – 9 рН, при температурах измеряемых образцов и окружающей среды 15 – 40 °С [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Недавние результаты исследований показали кинетику гибели спор *C. botulinum* во фруктовых консервах из абрикосов, персиков и груш с рН ниже 4,5 в течение периода хранения [6]. Кинетика гибели спор *C. botulinum* в абрикосовом пюре приведена на рис. 1.

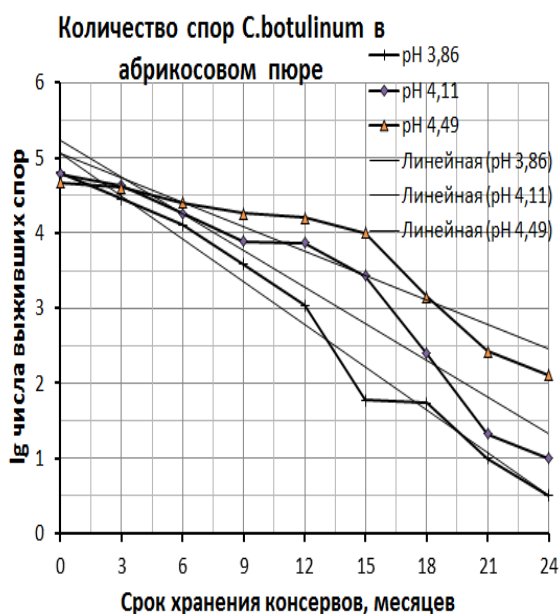


Рисунок 1 - Кинетика гибели спор *C. botulinum* в абрикосовом пюре при различной величине рН продукта [6]

На рисунке с помощью линий тренда наглядно отображаются тенденции изменения количества спор при различном рН продукта во время хранения.

Линия тренда – это графическое представление закономерности изменения ряда данных, вычисляемым по уравнению в программе Excel:

$$y = ax - b \quad (2)$$

Здесь: y – исследуемая переменная (\lg количества спор); x – число, определяющее позицию (второй, третий и т.д. месяц в период хранения), a – точка пересечения с осью y на графике (максимальный уровень); b – это значение, на которое уменьшается следующее значение временного ряда.

В абрикосовом пюре гибель спор *C. botulinum* началась после трех месяцев хране-

ния в продукте с рН 3,86, с рН 4,11 - после шести месяцев хранения, а с рН 4,49 - после двенадцати месяцев. В дальнейшем гибель спор происходила быстрее в более кислых условиях при рН 3,86 и 4,1, чем при рН продукта 4,5. Поэтому к концу двухгодичного срока хранения абрикосового пюре в продукте с рН 3,9 и 4,1 выжили лишь единичные споры в см³ продукта, а при рН 4,5 выжили десятки спор [6].

Полученные экспериментальные данные по изучению кинетики гибели спор в пюре из манго и бананов, представлены на рисунках 2 и 3. На этих рисунках приведены так же линии тренда гибели спор для каждого значения рН продукта.

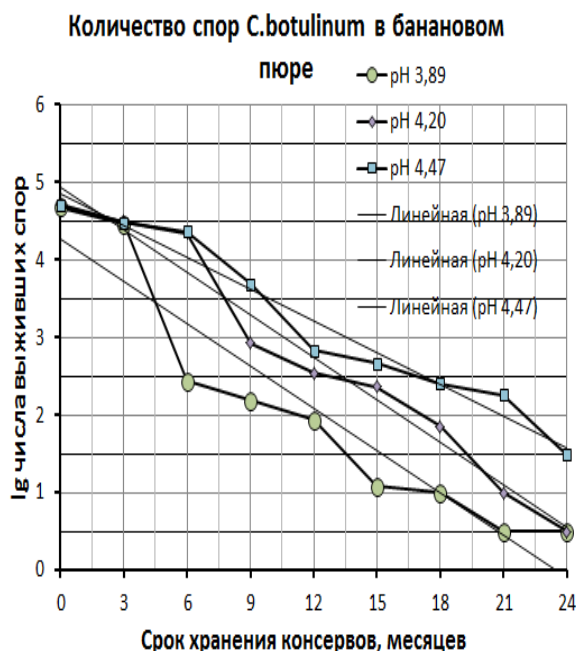


Рисунок 2 - Кинетика гибели спор *C. botulinum* в банановом пюре при различной величине рН продукта

Экспериментальные данные показали, что в банановом пюре с рН 3,9 после трех месяцев хранения происходило значительное снижение количества жизнеспособных спор *C. botulinum*. Через 6 месяцев хранения началось более быстрое снижение количества жизнеспособных спор при рН 4,2, чем при 4,47. К концу двухгодичного срока хранения в продукте с рН 3,9 и 4,2 остались жизнеспособными лишь единичные споры в см³ продукта, а в продукте из бананового пюре с рН 4,5 выжили десятки спор в см³ продукта.

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ГИБЕЛИ СПОР *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* ВО ФРУКТОВЫХ КОНСЕРВАХ

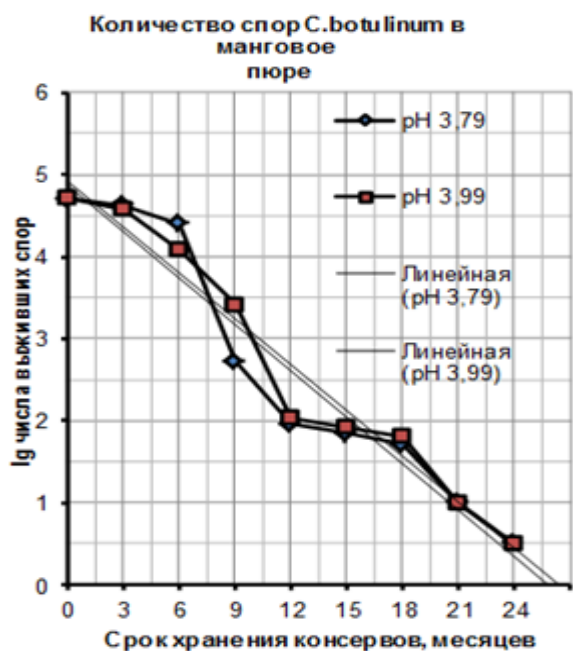


Рисунок 3 - Кинетика гибели спор *C. botulinum* в манговом пюре при различной величине pH продукта

Скорость гибели спор *C. botulinum* в манговом пюре в течение первых трех месяцев хранения была небольшой. Гибель спор значительно ускорилась через три месяца хранения продукта с pH 3,8 и через шесть месяцев - с pH 3,99. Через 12 месяцев хранения мангового пюре споры отмирали при pH 3,8 и 4,0 с одинаковой скоростью. Через два года хранения в продукте выжили лишь единичные споры в 1 см³ продукта, как при pH 3,8, так и при pH 4,0.

Экспериментально установлено, что в процессе хранения консервов из манго и бананов происходило отмирание спор *C. botulinum* с различной скоростью, в зависимости от pH продукта. Динамика гибели спор в манговом и банановом пюре аналогична скорости гибели спор в абрикосовом пюре при равных значениях pH продукта.

Проведенная работа позволяет поддерживать предложенное в статье [6] изменение в Российской Федерации подходов к делению фруктовых консервов на группы и соответственно, к разработке режимов стерилизации или пастеризации консервов из абрикосов, персиков и груш.

Это изменение будет соответствовать требованиям к аналогичной зарубежной фруктовой продукции, поступающей по импорту. Для этой продукции подобного выделения фруктовых консервов в группу низкокислотных

консервов группы А не существует [13]. Снижение режимов тепловой обработки приведёт к улучшению органолептических показателей консервов из абрикосов, персиков и груш и уменьшению затрат на их производство.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», утвержден 9 декабря 2011 г. № 880.
2. Мазохина-Поршнякова Н.Н. Подавление возбудителей ботулизма в пищевых продуктах. М: Агропромиздат, 1989. 176 с.
3. Мазохина-Поршнякова Н.Н., Найдёнова Л.П., Николаева С.А., Розанова Л.И. Анализ и оценка качества консервов по микробиологическим показателям. М.: Пищевая промышленность, 1977. 471с.
4. Червякова К.И., Мордвинова С.А., Коваль Л.Н. Микроб ботулизма в производстве консервов для детей. М.: Консервная и овощесушильная промышленность, 1969. №3. С.30-31.
5. Прохорович Л.Е., Салтыкова Л.А., Шендеровская Л.И. Изучение возможности развития *Clostridium botulinum* в соке и компоте из абрикосов. М.: Консервная и овощесушильная промышленность, 1976, №1, с.35-38.
6. Волкова Р.А., Позднякова Т.А., Левшенко М.Т. Исследование возможности развития спор *Clostridium botulinum* во фруктовых консервах из персиков, абрикосов и груш. Вестник Крас ГАУ. 2018. № 2. С. 129-136.
7. Положения о разработке режимов стерилизации и пастеризации консервов и консервированных полуфабрикатов, утв. 30 апреля 1983 года. ВНИИКОП.
8. ГОСТ ISO 7218-2015 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям». М.: Стандартинформ. 2016.
9. Вейшторд И.П., Притыкина Л.А. (ред.) Сборник технологических инструкций по производству консервов, том 2. Консервы для детского и диетического питания. Консервы фруктовые. «Технологическая инструкция по производству фруктовых пюреобразных консервов для детского питания». Фруктовое пюре с сахаром. Пюре из плодов и ягод со сливками «Неженка». М. Пищевая промышленность. 1977 г. С. 43– 55.
10. ГОСТ 10444.1-84 «Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе». ИПК Издательство стандартов. 1984
11. ГОСТ 10444.7-86 «Продукты пищевые. Методы выявления ботулинических токсинов и *Clostridium botulinum*». М.: ИПК Издательство стандартов. 1986.
12. Instruction Manual «HANNA pH 210, pH 211, pH 212, pH 213. Microprocessor-based Bench pH/mV/С Meters». 1978 г.

13. Кодекс Алиментариус. Кодекс гигиенической практики для низкокислотных и подкисленных консервированных пищевых продуктов. САС/RCP 23-1979. М.: Издательство «Весь Мир», 1979.

Волкова Раиса Александровна, ведущий научный сотрудник лаборатории качества и безопасности пищевой продукции ВНИИТеК – филиала ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им В.М. Горбатова» РАН. E-mail: microbio@vniitek.ru +7-495-541-76-55.

Позднякова Тамара Алексеевна, старший научный сотрудник лаборатории качества и безопасности пищевой продукции ВНИИТеК – филиала ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им В.М. Горбатова» РАН. E-mail: microbio@vniitek.ru +7-495-541-76-55.

Левшенко Михаил Трифонович, старший научный сотрудник лаборатории качества и безопасности пищевой продукции ВНИИТеК – филиала ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им В.М. Горбатова» РАН. E-mail: microbio@vniitek.ru +7-495-541-76-55.