

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ХРАНЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ МИКРОФЛОРЫ В ПРЕСЕРВАХ ИЗ БАЛТИЙСКОЙ КИЛЬКИ

С. И. ИВАНОВА

(Лаборатория биохимии и микробиологии НИИМРП)

Работами, проведенными в микробиологической лаборатории Ленинградского отделения ВНИРО в 1950—1951 гг.<sup>1</sup>, было установлено, что жизнеспособная микрофлора в рыбных пресервах представлена несколькими физиологическими группами микроорганизмов, обладающими различными характерными биохимическими свойствами. Была также выявлена связь между некоторыми технологическими условиями приготовления пресервов (прибавление антисептика и сахара) и длительностью хранения пресервов на холоде, с одной стороны, и активностью микрофлоры и стойкостью пресервов, с другой стороны.

Продолжением указанных исследований явилось настоящее изучение влияния температуры хранения пресервов на их органолептические свойства и развитие в них микрофлоры.

Наблюдения проводились над двумя партиями килечных пресервов, изготовленных в соответствии с технологической инструкцией на Усть-Лужском консервном заводе в весенний и осенний сезоны работы.

Обе партии пресервов были разделены на две части, из которых одна хранилась в ледяном складе системы Крылова при 0 — минус 2°, а другая в лабораторном холодильном шкафу при температуре около 10°. Последняя более высокая температура, равная 10°, была выбрана с учетом возможного на практике отступления от установленного режима хранения пресервов (при 0 — минус 2°) в зависимости от сезона заготовки, при транспортировке и т. д.

Во время хранения пресервы периодически осматривали и подвергали химическому и микробиологическому анализу.

Микробиологические исследования проводились с целью выяснить количественные изменения различных групп микроорганизмов в пресервах во время хранения. Предполагалось, что на основании микробиологических анализов, проводимых на разных этапах хранения, возможно будет получить представление об активности микрофлоры пресервов при различных температурных условиях, а также о связи между развитием микрофлоры и активностью ферментативных процессов в пресервах.

Органолептические испытания показали, что хранение при 10° способствует более быстрому созреванию пресервов. Размягчение тканей рыбы и появление специфического аромата и вкуса созревшего продукта у пресервов, хранившихся при 10°, наступало гораздо раньше, чем у хранившихся при 0 — минус 2°. Особенно резко ускорение созревания проявилось для пресервов весенней заготовки, у которых наличие при-

<sup>1</sup> См. статью Ю. А. Равич-Щербо и С. И. Ивановой, «Микробиологические причины порчи рыбных пресервов и способы борьбы с нею», Труды ВНИРО, т. XX. Пищепромиздат, 1952.

знаков созревшего продукта при хранении на холоде было отмечено только через 10—11 месяцев, а при 10° — через 35—37 дней после изготовления.

«Перезревание» пресервов, выражающееся в появлении кисловатого вкуса и неприятного запаха, газообразовании и выпадении «хлопьев» в тузлуке при теплом хранении было отмечено также значительно раньше, чем при холодном.

Бомбаж банок с пресервами при холодном хранении совсем не наблюдался, в то время как при теплом хранении были случаи бомбажа, причем обнаружилась значительная разница в стойкости отдельных банок одной партии.

Микробиологические исследования были направлены на обнаружение и количественный учет групп микроорганизмов, которые вызывают изменения белков рыбы и сахара (протеолитических, газообразующих, молочнокислых и др.), исходя из принятых представлений о том, что созревание пресервов обусловлено накоплением в них продуктов расщепления белков и в известной мере стимулируется добавлением к рыбе сахара. Микроорганизмы, могущие вызывать изменения жира, которые, вероятно, также имеют важное значение в созревании, в настоящем исследовании не изучались.

Для выделения вышеуказанных микроорганизмов из пресервов производили посевы тузлука на среды, содержащие белок (рыбопептонный агар и бульон, молочный агар) и содержащие сахар (глюкозный агар и бульон, полужидкий агар, среда Китта-Тароцци).

Особое внимание было обращено на солеустойчивую микрофлору, так как мы считали, что в пресервах могут развиваться и вызывать их биохимические изменения только микробы, способные противостоять неблагоприятному действию соли.

Чтобы обнаружить такую солеустойчивую микрофлору, высевы тузлука производились на рыбопептонные среды, содержавшие 12% поваренной соли, то есть идентичные тузлукам пресервов по концентрации в них соли.

Инкубация проводилась при 24—26° в течение недели, после чего посевы сохранялись при комнатной температуре для дальнейших наблюдений.

Первые пробы тузлука, взятые через 1 день после изготовления пресервов, при посевах на соленый агар и соленый бульон дали рост солеустойчивых микроорганизмов.

Факт обнаружения солеустойчивой микрофлоры в пресервах в самом начале их хранения представляет значительный интерес. Он показывает, что уже среди первоначальной микрофлоры, внесенной в пресервы с рыбой и другими компонентами, имеются микроорганизмы, обладающие определенной устойчивостью к соли. Дальнейшие изменения количества солеустойчивой микрофлоры в пресервах при теплом и холодном хранении показаны в табл. 1.

Во время холодного хранения пресервов как весенней, так и осенней заготовки количество солеустойчивых микробов в них постепенно уменьшалось и через 180—190 дней хранения было в 15—20 раз меньше исходного. Дальнейшие наблюдения над весенними пресервами показали, что численность микробов продолжает уменьшаться и через 400 дней хранения количество солеустойчивых микробов в 1 мл тузлука составило всего 2000.

Из этого следует, что при холодном хранении солеустойчивая микрофлора в пресервах не размножается, но некоторое время может сохранять жизнеспособность, а затем постепенно отмирает. Другая картина наблюдалась при теплом хранении пресервов. В тузлуке весенних пресервов количество солеустойчивых микробов сильно увеличи-

## Изменение количества солеустойчивых микробов в пресервах при хранении

| Хранение при 0 -минус 2° |                                                  |                  | Хранение при 10° |                                                  |                  |
|--------------------------|--------------------------------------------------|------------------|------------------|--------------------------------------------------|------------------|
| дни хранения             | количество тысяч микробных клеток в 1 мл тузлука |                  | дни хранения     | количество тысяч микробных клеток в 1 мл тузлука |                  |
|                          | весенние пресервы                                | осенние пресервы |                  | весенние пресервы                                | осенние пресервы |
| 7—9                      | 190                                              | 342              | 7—9              | 130                                              | 2384             |
| 35—37                    | —                                                | 120              | 16—18            | 256                                              | 2700             |
| 45—49                    | 140                                              | —                | 23               | 100                                              | —                |
| 100                      | 106                                              | 308              | 35—37            | 7342                                             | 229              |
| 120                      | 195                                              | —                | 45—49            | —                                                | 38700            |
| 145                      | —                                                | 34               | 57—60            | —                                                | 681900           |
| 168—178                  | 90                                               | 17               | 85               | —                                                | 331700           |
| 189                      | 0                                                | —                | 120              | 131200                                           | —                |
| 238                      | —                                                | 151              | 168—178          | 147600                                           | —                |
| 260                      | 100                                              | —                | —                | —                                                | —                |
| 307                      | 24                                               | —                | —                | —                                                | —                |
| 340                      | 0                                                | —                | —                | —                                                | —                |
| 400                      | 2                                                | —                | —                | —                                                | —                |

валось, достигая на 35—37-е сутки хранения миллионов клеток в 1 мл тузлука. Такое же резкое увеличение численности солеустойчивой микрофлоры наблюдалось и для осенних пресервов, но наступало оно несколько позднее.

Выделение солеустойчивых микробов в чистую культуру и последующее детальное их изучение показало, что солеустойчивая микрофлора пресервов неоднородна и представлена несколькими видами.

В пресервах, подвергавшихся холодному хранению, а также в образцах пресервов, подвергавшихся непродолжительному тепловому хранению, она была представлена главным образом микрококками, среди которых наиболее часто встречались грамположительные микрококки, дающие на соленом агаре колонии, окрашенные в оранжевый и палевый цвет.

Выделенные культуры микрококков обладали протеолитическими свойствами и при высеве в желатин медленно разжижали его, но гнилостного разложения белковых сред не вызывали; при посевах на глюкозный бульон и молоко наблюдалось образование кислоты. Данные микрококки по физиологическим особенностям ближе всего подходят к виду *Micrococcus aurantiens*.

Солеустойчивая микрофлора другого вида развивалась в пресервах при длительном теплом хранении. Как уже указывалось выше, на известном этапе теплого хранения (через 37—38 суток и позднее) наблюдалось резкое увеличение количества солеустойчивых микробов в пресервах. В этом случае мельчайшие точечные колонии, появляющиеся в огромных количествах в посевах тузлука на соленый и глюкозный агар, были образованы крупными диплококками, которые были изучены нами еще ранее и на основании их физиологических свойств отнесены к ароматообразующим микробам (*Str. citrovorus*).

Выделенные из пресервов ароматообразующие микробы обладали довольно высокой солеустойчивостью и в средах, содержащих тузлук,

хорошо развивались при концентрации соли до 16%. Высокая солеустойчивость ароматообразующих микробов, как показали исследования, связана с присутствием в тузлуке веществ, повышающих сопротивляемость микробов неблагоприятному действию соли и стимулирующих их развитие. Таким стимулирующим действием обладают растворимые азотистые соединения, накапливающиеся в тузлуке в результате ферментативного расщепления белков рыбы. Поэтому интенсивное размножение ароматообразующих микробов в пресервах, отмечаемое на определенном этапе теплого хранения, может служить показателем достижения определенной стадии распада белков рыбы.

Заслуживает внимания, что начало резкого увеличения количества ароматообразующих микробов в весенних пресервах совпало с появлением у последних органолептических признаков созревания. При дальнейшем хранении этих пресервов в тепле размножение ароматообразующих микробов продолжалось, причем в течение некоторого времени (между 35 и 60 днями хранения) вкусовые качества пресервов улучшались и они приобрели специфический аромат, свойственный вполне созревшему продукту. Это позволяет считать развитие в тузлуке ароматообразующих микробов причиной улучшения вкуса и образования аромата в пресервах.

Развитие ароматообразующих микробов сопровождалось накоплением кислот в тузлуке, что обнаруживалось органолептическим испытанием и химическим анализом пресервов. Подтверждено это было и специальным опытом выращивания ароматообразующих микробов в стерильном тузлуке (тузлук фильтровали сначала через бумажный фильтр, а затем через фильтр Зейтца). При этом наблюдалось изменение рН тузлука от 6,6 в начале опыта до 5,0 в конце его и соответственное повышение кислотности тузлука от 0,51 до 0,84%. Можно предположить, что указанное образование кислот происходит в результате разложения ароматообразующими микробами сахара или дезаминирования и декарбоксилирования ими аминокислот.

Наряду с изучением солеустойчивости микрофлоры большое внимание было уделено исследованию пресервов на присутствие газообразующих микроорганизмов, способных сбраживать сахар в аэробных и анаэробных условиях. Аэробная газообразующая микрофлора как в весенних, так и в осенних пресервах была найдена в небольших количествах. В начале хранения пресервов титр ее не превышал 0,1 мл, а через 100 дней теплого хранения и через 168 дней холодного в посевах тузлуков на глюкозный бульон газообразования совсем не наблюдалось. Последнее указывает на отмирание газообразующей микрофлоры или потерю ею способности к образованию газа в пресервах при хранении. Подобную утрату микроорганизмами способности к образованию газа удавалось наблюдать ранее у выделенных из пресервов газообразующих микробов типа кишечной палочки при культивировании их на средах, содержащих поваренную соль.

Титр аэробной газообразующей микрофлоры в пресервах, не содержащих антисептика, оказался выше, чем в пресервах с антисептиком. Данное обстоятельство позволяет заключить, что более быстрое появление бомбажа у пресервов без антисептика, а следовательно и меньшая их стойкость по сравнению с пресервами, приготовленными с антисептиком, в известной мере связаны с жизнедеятельностью аэробной газообразующей микрофлоры. Дальнейшие наблюдения подтвердили, что при определенных условиях развитие аэробной газообразующей микрофлоры типа кишечной палочки может явиться одной из основных причин накопления газа в банке с пресервами. Это позволяет считать, что титр аэробной газообразующей микрофлоры до некоторой степени может служить показателем качества пресервов.

Микрофлора, образующая газ в анаэробных условиях, была представлена в пресервах споровыми бактериями, относящимися к виду *Bac. perfringens*. Титр *Bac. perfringens* в весенних и осенних пресервах колебался в одних и тех же пределах — от 1,0 до 0,1 мл — независимо от температуры и длительности хранения.

Незначительные колебания титра позволяют заключить, что повышение температуры от минус 2 до плюс 10° не влияет на активность вегетативных клеток.

По-видимому, наблюдаемые изменения титра отражают лишь колебания в количестве спор *Bac. perfringens*. Это подтверждается тем, что при высевах тузлука в среду Китта-Тароцци и прогревании ее, при котором все вегетативные клетки должны быть убиты, заметного снижения титра этого микроба не наблюдалось. Более высокой оказалась активность *Bac. perfringens*, в пресервах, не содержащих антисептика. Это объясняется большей активностью в них гнилостной микрофлоры, развитие которой активирует *Bac. perfringens*, так как приводит к созданию щелочной реакции среды.

Так как активность *Bac. perfringens* не изменялась при повышении температуры хранения пресервов и не была более высокой в бомбажных банках, то следует считать, что титр *Bac. perfringens* не может служить показателем качества пресервов из кильки.

## ВЫВОДЫ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы о микрофлоре килечных пресервов и изменении ее активности при различной температуре, а также о значении микробиологических процессов при созревании и порче пресервов.

1. Микроорганизмы, попадающие в пресервы из различных источников, встречают в них новые условия жизни, значительно отличающиеся от условий среды, из которой они произошли. Эти новые условия жизни для многих микроорганизмов оказываются неблагоприятными, так как в пресервах действует ряд факторов, задерживающих развитие большинства видов микроорганизмов (присутствие соли и антисептика, герметичная укупорка банок и др.).

2. Прибавляемый в пресервы антисептик губительно действует на часть первичной микрофлоры и в первую очередь на газообразующих и гнилостных микробов, вследствие чего стойкость пресервов повышается.

3. В пресервах не имеется таких видов бактерий, которые были бы способны развиваться при температуре ниже 0°. Хранение пресервов при температуре около 0° сопровождается постепенным уменьшением в них количества микробов, но не устраняет полностью возможности протекания микробиологических процессов в пресервах.

При температуре хранения около 10° заметно повышается количество присутствующих в пресервах микроорганизмов в результате развития преимущественно солеустойчивых ароматообразующих бактерий.

4. Повышение активности ферментов рыбы, происходящее при повышении температуры хранения пресервов, приводит к усилению процесса распада белков и накоплению в тузлуке азотистых веществ, стимулирующих рост ароматообразующих бактерий и повышающих их устойчивость к неблагоприятным условиям среды, в частности к угнетающему действию соли.

5. Солеустойчивые микроорганизмы вызывают образование в пресервах кислот, что способствует изменению реакции среды в сторону, благоприятную для действия ферментов. Вместе с тем, образующиеся кислоты препятствуют течению гнилостных процессов и, возможно, на-

ряду с другими веществами, участвуют в образовании специфического вкуса у созревших пресервов.

6. Поскольку жизнедеятельность ароматообразующих бактерий сопряжена с образованием некоторого количества углекислоты, можно предполагать, что развитие данных бактерий в пресервах является одной из причин накопления газа в банках и бомбажа пресервов. Это подтверждается тем, что вслед за активным развитием ароматообразующих бактерий в пресервах через некоторое время начинает появляться бомбаж банок.

7. Накопление газа в банках с пресервами не является результатом развития в них какой-либо одной группы микроорганизмов, а представляет суммарный результат жизнедеятельности различной микрофлоры, активности ферментов рыбы, а также образования газа при взаимодействии кислот тузлука с полудой банки. Бомбаж банки представляет внешнее проявление сложных биохимических процессов, протекающих в пресервах. Быстрота появления бомбажа зависит от совокупности ряда факторов как внутренних, относящихся к состоянию пресерва (активность отдельных групп микроорганизмов и интенсивность протекания ферментативных процессов), так и внешних, относящихся к состоянию банки (толщина жести, рельеф крышки, степень наполнения банок).

---