

низмы должен повиситься. Следовательно, консервирующее действие растворов NaCl при насыщении углекислым газом должно усиливаться.

8. Свойство углекислого газа, растворенного в мышечной ткани рыбы, усиливать активность протеолитических ферментов может найти применение для ускорения созревания слабосоленых продуктов, копченостей и т. п.

9. Коэффициенты абсорбции углекислого газа могут быть использованы для технических расчетов при углекислотном хранении различных рыбопродуктов.

### КОНСЕРВИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Консервирующие свойства углекислого газа изучали многие исследователи.

В очень малых количествах углекислота стимулирует рост плесеней, однако повышение содержания ее в воздухе до 1% уже тормозит рост *Asp. niger* и других плесеней [6, 7, 284].

По данным Я. Я. Никитинского [132, 133, 134, 135], В. С. Загорянского [57, 58, 59], Н. И. Каюковой [76], Г. И. Журавского [56], Каллоу [214, 215], повышение содержания углекислого газа в воздухе до 10—20% и выше ведет к задержке роста большинства плесневых грибов.

При 80—90%-ной концентрации  $\text{CO}_2$  почти нацело устраняется развитие большинства плесеней.

На многие бактерии углекислота действует бактериостатически, и с удалением газа они продолжают развиваться, на другие — бактерицидно, умерщвляя их; некоторые же виды, главным образом *B. typhosus*, оказываются по отношению к углекислоте стойкими.

Автотрофным бактериям (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter* и др.) углекислота необходима как единственный и незаменимый источник углерода [21, 97]. Гетеротрофы также нуждаются для своего развития в углекислоте, из которой они используют группу  $\text{C}=\text{O}$  [150].

Ф. М. Чистяковым [192] обнаружено угнетающее действие углекислоты 80 и 100%-ной концентрации на рост бактерий в твердых средах, однако полного прекращения развития большей части испытанных гнилостных бактерий им не наблюдалось. В жидких средах размножение гнилостных аэробов почти полностью подавляется. В опыте хранения мясопептонного бульона при комнатной температуре через 13 суток в образцах, насыщенных углекислым газом, количество аэробных и строго анаэробных форм микроорганизмов оказалось в десятки и сотни раз меньшим, чем в образцах, насыщенных воздухом или хранившихся на воздухе в течение 10 суток. Развитие тифозной палочки задерживается на 90%, паратифозной — на 50—60%. По данным Б. С. Алеева, развитие паратифозных бактерий подавляется углекислым газом очень сильно.

Большинство патогенных микробов переносит углекислоту в концентрациях от 10 до 30%.

Менингококки [276] лучше растут в атмосфере, содержащей 10—20%  $\text{CO}_2$ . Стафилококки при посеве в 1%-ный агар в атмосфере, содержащей 10—20%  $\text{CO}_2$ , более равномерно вырабатывают энтеротоксин, чем без  $\text{CO}_2$  [1]. Дифтерийная палочка лучше растет при содержании 5—10%  $\text{CO}_2$ .

По данным Киллефера, рост тифозной палочки в атмосфере углекислого газа, угнетаемый вначале весьма сильно, через 5 суток не отличается от роста в обычных условиях.

Палочка Гертнера в атмосфере углекислого газа замедляет рост и токсинообразование, однако при длительном выращивании микроба

токсин все же вырабатывается. Скорость этого процесса резко возрастает после удаления углекислоты [9].

В опытах хранения мяса, рыбы и других продуктов в атмосфере, содержащей углекислый газ, наблюдалось уменьшение роста микроорганизмов по сравнению с контролем и удлинение сроков сохранения продуктов [18].

При хранении свинины и бекона в атмосфере 96—100%-ной углекислоты обнаруживается торможение роста не только аэробных, но и анаэробных микроорганизмов, а также почти приостанавливается процесс прогоркания жира.

При температуре 0—1° даже после 50-дневного культивирования микроорганизмов в атмосфере углекислого газа не обнаружено их роста, тогда как в воздухе признаки роста появились уже после 4-дневного хранения [214, 215].

Кюин нашел, что из 265 видов бактерий, выделенных из свежей и испорченной рыбы, только немногие виды из группы *Flavobacter* лишь в слабой степени могут развиваться в атмосфере углекислого газа.

Особое значение для хранения мясных и рыбных продуктов, в частности для хранения рыбы горячего копчения, имеет характер воздействия углекислоты на *Vac. botulinus*. Так и другими исследователями [220] отмечен рост микробов при температуре 37° через 1, 2 и 3 дня. Наибольшее количество токсина было обнаружено через 5 дней после появления первых признаков роста. В опытах Ф. М. Чистякова, наоборот, отмечалось торможение роста *Vac. botulinus* в атмосфере углекислого газа при температуре 22—23° при продолжительности опыта 56 час.

При выдерживании взвесей культуры *Vac. botulinus* в атмосфере с содержанием 35 и 80%  $\text{CO}_2$  при 35—37° на обычном мясопептонном бульоне рост бактерий и токсинообразование отмечались на четвертый—пятый день. В контрольных образцах, хранившихся на воздухе, роста не наблюдалось в течение 14 суток.

При культивировании бактерий на мясопептонном бульоне с примесью 0,1% агара рост был отмечен как в опытных, так и в контрольных образцах через 3—5 дней [10].

Г. Мейер [119], О. А. Комкова [84], Ф. М. Белоусская [11] указывают, что развитие *Vac. botulinus* при 35—37° обнаруживается обычно через 18—24 часа.

По исследованиям Б. С. Алеева, бактерии ботулизма в углекислом газе развиваются несколько слабее, чем в атмосфере какого-либо другого инертного газа [189].

Представляют определенный интерес указания некоторых авторов о влиянии ассоциаций бактерий на рост и токсинообразование *Vac. botulinus*. Золотистый стафилококк, стрептококки, кишечная и сенная палочки способствуют росту палочки ботулизма. Протей и синегнойная палочка оказались явными антагонистами этого микроба [241]. *Str. thermophilus* подавляет рост микроба ботулизма, и его токсин постепенно разрушается [77].

Молочнокислые бактерии (*V. casei*, *V. bulgaris*, *Str. lactis*) уменьшают образование ботулинистического токсина [28]. Ассоциации аэробных бактерий и *Vac. botulinus*, по-видимому, должны при известных обстоятельствах (недостаток аэрации) способствовать развитию *Vac. botulinus*, так как подобный симбиоз, снижающий содержание кислорода в среде, благоприятен для анаэробов.

Большое значение для практики имеет среда обитания *Vac. botulinus*.

Случаи ботулизма, наблюдавшиеся в нашей стране, были главным образом результатом потребления продуктов из красной рыбы [17, 27, 60, 98]. Продукция из сельди и частичковых рыб редко являлась причиной заболевания ботулизмом.

По исследованиям Центрального научно-исследовательского санитарного института им. Эрисмана [182], *Vac. botulinus* был обнаружен в кишечнике живой красной рыбы, тогда как ни в мышцах, ни в кишечнике живой частичковой рыбы он не найден.

Более того, при искусственном инфицировании спорами *Vac. botulinus* кишечника живой частичковой рыбы в условиях аквариума споры *Vac. botulinus* находятся в нем лишь в течение нескольких дней, тогда как у красной рыбы в тех же условиях они сохраняются длительное время [145]. В кишечнике снулой частичковой рыбы *Vac. botulinus* также иногда обнаруживается.

Споры некоторых бактерий, в том числе и *Vac. botulinus*, обладают свойством теплового окооченения [3, 9, 213, 226, 227, 228]. Некоторые исследователи наблюдали даже потерю токсигенности *Vac. botulinus* при нагревании до 110—120° в течение 90—100 мин., при рН среды от 5 до 8 [73]. Другие авторы не подтверждают подобное явление [164, 183, 191].

По мнению А. В. Рейслера [152], *Vac. botulinus* является микроорганизмом, весьма требовательным к условиям среды, и для его вторичного развития (после тепловой обработки) необходим особо благоприятный комплекс условий.

По мнению А. В. Рейслера, нет оснований считать, что в рыбе горячего копчения *Vac. botulinus* может развиваться ранее других микробов.

Жизнедеятельность *Vac. botulinus* протекает при температуре от 15 до 55° (с оптимумом 35—37°). При температуре выше 15°, но ниже 20° ботулинус развивается слабо и не вырабатывает токсина или вырабатывает его очень замедленно [72, 122].

Радикальный способ уничтожения спор *Vac. botulinus* в пищевых продуктах еще не найден и опасность ботулизма свойственна всем основным методам консервирования. Б. С. Алеев [2] указывает, что баночные консервы представляют для накопления ботулинуса идеальные условия; Шенгольц, Исти и Мейер [288] установили, что в консервах (зараженных спорами) прорастание спор и образование токсина происходит очень быстро.

Я. Я. Никитинский [135], В. Севедж [163] и другие авторы указывают, что опасность ботулизма свойственна также посолу, вялению и другим методам обработки.

Из краткого обзора работ видно, что углекислый газ в малых концентрациях необходим для роста большинства микроорганизмов. Повышенное содержание углекислого газа благоприятно лишь для некоторых патогенных микроорганизмов, а при больших концентрациях он угнетает жизнедеятельность плесеней, аэробной и некоторых видов факультативно-анаэробной микрофлоры.

Менее ясно выражено действие  $\text{CO}_2$  на облигатных анаэробов и, в частности, на *Vac. botulinus*.

Данные различных исследователей не всегда сопоставимы, так как опыты проводились при различных температурах, с разными концентрациями углекислоты и микроорганизмов, на разных питательных средах.

Для разработки режимов хранения рыбной продукции необходимо установить влияние разных концентраций углекислого газа при его длительном воздействии на рост смешанной аэробной и анаэробной микрофлоры, обсеменяющей продукты.

## МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ ОПЫТОВ

Влияние углекислого газа на рост смешанной микрофлоры в искусственной питательной среде и рыбопродуктах определяли экспериментально при соблюдении следующих условий [115]:

- 1) хранение без прогревания и с предварительным прогреванием;
- 2) разные (постоянные) концентрации углекислоты;
- 3) переменные концентрации углекислоты;
- 4) разные давления углекислоты;
- 5) разная соленость рыбного фарша.

Изучали также влияние углекислоты на рост облигатного анаэроба *Cl. tetanomorphum* и (совместно с Ростовским микробиологическим институтом) на жизнедеятельность и токсинообразование *Bac. botulinus* в рыбе горячего копчения [79].

Все опыты большей частью проводили в две стадии: предварительные и основные. В предварительной стадии чистые культуры или смеси микрофлоры, обсеменявшей продукт, выращивали в чашках Петри на искусственных питательных средах (мясопептонный агар).

Основные опыты проводили с рыбой, определяя либо общую обсемененность ее, либо отдельных частей тела.

При количественном учете микрофлоры аэробные микроорганизмы подсчитывали на поверхности мясопептонного агара в чашках Петри, факультативно-аэробные и факультативно-анаэробные — в толще агара в чашках Петри (при слое агара 0,5—0,6 см) или в верхней аэрированной зоне агара (под поверхностью) при посеве в столбики.

Такой метод подсчета микрофлоры давал, разумеется, преувеличенные количества аэробов за счет факультативных форм, однако в сочетании с подсчетом «глубинной» микрофлоры мы имели, хотя и приближенный, но простой способ разделения смеси микроорганизмов, растущих на поверхности и в глубине продукта, что имеет большое технологическое значение.

Строгие анаэробы определяли при посеве в столбики в зоне ниже аэрируемого слоя агара.

## ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА МОРФОЛОГИЮ МИКРООРГАНИЗМОВ

В результате многолетних опытов и полученного большого экспериментального материала выявлены некоторые особенности угнетающего действия углекислоты на рост микроорганизмов, обсеменяющих рыбу и рыбные продукты.

Установлено, что углекислый газ не только задерживает рост микроорганизмов, но изменяет их внешний вид. В среде углекислого газа *Bac. mesentericus multipediculus* образует мельчайшие, едва различимые глазом прозрачные колонии, в которых палочки этой бактерии располагаются длинными цепочками и выделяют большое количество слизи, причем сами палочки в опытных посевах значительно мельче, чем в контрольных посевах.

Подобное же влияние оказывает углекислый газ и на остальные испытанные нами микроорганизмы (*Bac. subtilis*, *Bac. esteroaromaticus*, *Bac. closteroides*, *Cl. tetanomorphum*). Все они образуют почти одинаковые мелкие, прозрачные, круглые, слизистые колонии. Исключение представляет *Bac. subtilis*, колонии которой в атмосфере углекислоты оказываются более крупными, плоскими и имеют неправильную форму.

На чашках Петри, перенесенных из среды углекислого газа на воздух, уже через сутки развивались новые, обычного (для данной культуры) вида колонии.

### ЗНАЧЕНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ПРОГРЕВАНИЯ РЫБЫ ПРИ ХРАНЕНИИ ЕЕ В СРЕДЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Для определения влияния предварительного прогревания рыбы на ее сохраняемость и на рост микрофлоры в среде углекислого газа кусочки рыбы помещали в пробирки и после стерилизации обсеменяли дозированной взвесью микрофлоры, взятой с лежалой рыбы. Хранили их на воздухе и в атмосфере с содержанием 85—95% CO<sub>2</sub> при температуре 25°.

Сроки сохранения кусочков рыбы, предварительно прогретых в течение 1 часа при температуре 80°, по сравнению с контролем, оказались в 3—3,5 раза больше.

Таблица 17

Рост микрофлоры при хранении кусочков рыбы в углекислом газе

Условия обработки и хранения	Сроки хранения в сутках								
	3			7			10		
	общая обсемененность	анаэробы	группа кишечная	общая обсемененность	анаэробы	группа кишечная	общая обсемененность	анаэробы	группа кишечная
Без прогревания, хранение на воздухе . . .	++	+	++	++	+	++	Посева не производили		
Без прогревания, хранение в CO <sub>2</sub> . . . . .	++	+	++	++	+	++			
С прогреванием, хранение на воздухе . . .	+	—	—	++	+	+	++	+	++
С прогреванием, хранение в CO <sub>2</sub> . . . . .	—	—	—	—	—	—	+	—	+

Обозначения: — роста нет; + рост; ++ сплошной рост.

Таблица 18

Рост микрофлоры при хранении предварительно прогретых кусочков рыбы в углекислом газе

Номера опытов	Содержание CO <sub>2</sub> в %	Длительность хранения в сутках	Без прогрева			С прогревом		
			количество микроорганизмов при хранении		угнетение роста в CO <sub>2</sub> , по сравнению с ростом в воздухе, в %	количество микроорганизмов при хранении		угнетение роста в CO <sub>2</sub> , по сравнению с ростом в воздухе, в %
			в воздухе в млн./г	в CO <sub>2</sub> в млн./г		в воздухе в млн./г	в CO <sub>2</sub> в млн./г	
1	97	5	84,8	33,5	60	61,3	10,6	83
	95	8	74,0	37,5	40	133	19,2	86
	96	2	0,03	0,015	50	4,5	1,7	62
2	97	5	33,4	16,2	51	17,9	3,0	83
	85	8	100	28,3	72	26,9	6,7	75
3	96	7	1,91	0,08	96	1,39	0,05	96
	97	10	4100	215	95	1125	22	98

Примечание. Посевы на чашках Петри во всех случаях выращивали в термостате.

В табл. 17 и 18 приведены результаты опытов с выращиванием высево из пробирок с мясопептонным агаром в среды Китт-Тароцци, Эндо при температуре 37°.

Причиной угнетающего действия предварительного прогревания рыбы на рост микрофлоры является, по-видимому, гибель большей части вегетативных клеток при тепловой обработке и более сильное угнетение углекислым газом прорастающих спор и молодых клеток по сравнению с взрослыми клетками.

#### КОНСЕРВИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ

Влияние углекислого газа на рост микроорганизмов, обсеменяющих рыбу и рыбопродукты, определяли при концентрации его равной 70—80%, 80—90% и 100%. Отдельные опыты проводили при более низких концентрациях, начиная с 20% CO<sub>2</sub>.

Средние результаты трех опытов выращивания микрофлоры, пересеянной с лежалой рыбы на мясопептонный агар, при температуре 37° приведены в табл. 19.

Таблица 19

#### Влияние углекислого газа различной концентрации на рост смешанной (аэробной и факультативно-анаэробной) микрофлоры (клеток в г)

Условия хранения	Сроки культивирования в сутках	
	1	3
CO <sub>2</sub> — 0 (контроль)	<u>117224</u> нет	<u>Сплошной рост</u> 23739
CO <sub>2</sub> — 70—80% O <sub>2</sub> — 4—5%	Слабый рост	<u>18324</u> 17878
CO <sub>2</sub> — 80—90% O <sub>2</sub> — 2—4%	Слабый рост	<u>9321</u> 17267
CO <sub>2</sub> — 100%	Слабый рост	<u>0</u> 26457

Примечание. Числитель — аэробная микрофлора (на поверхности мясопептонного агара).

Знаменатель — факультативно-анаэробная микрофлора (внутри мясопептонного агара).

Аэробная и факультативно-анаэробная микрофлора весьма эффективно угнетается в течение первых суток во всех вариантах хранения с углекислым газом, через сутки наблюдается очень слабый рост, тогда как в контроле он значительно сильнее.

Таким же положение остается и при выращивании в течение трех суток.

При 100%-ной концентрации CO<sub>2</sub> на поверхности агара рост отсутствует, колонии кокков и группы спорозоносных палочек развиваются внутри его. В атмосфере 70—90%-ного CO<sub>2</sub> наблюдали незначительный рост кокков на поверхности агара, а внутри агара — рост группы палочек. В количественном отношении внутри агара несколько меньший рост отмечали в опытах с содержанием 70—90% CO<sub>2</sub>, наибольший при 100% CO<sub>2</sub> и в контроле.

При выращивании на воздухе чистой культуры облигатного анаэроба *Cl. tetanomorphum* в столбиках на мясопептонном агаре зона

угнетения (слой, в котором не наблюдается рост анаэроба) составляла 1—1,5 см. В атмосфере чистой углекислоты она была равна 0,3—0,6 см, а при концентрации  $\text{CO}_2$  от 80 до 90%—0,8—1,0 см.

Таким образом, чистый углекислый газ и смесь его с небольшим количеством воздуха угнетают рост *Cl. tetanomorphum* в мясопептонном агаре, однако, действие его слабее, чем воздуха.

Исследования влияния углекислого газа на рост микроорганизмов в рыбе горячего копчения (лещ, тарань, язь, бычок, скумбрия) проведены при температуре 23—25°, 13—16°, 0—8°.

Сохраняемость рыбы в атмосфере с содержанием 70—90%  $\text{CO}_2$  при всех указанных температурах была в 3—4 раза выше, чем при хранении на воздухе.

При температуре выше 16° в атмосфере 100%-ной углекислоты иногда через 8—10 суток наблюдалась кислая порча рыбы, в которой

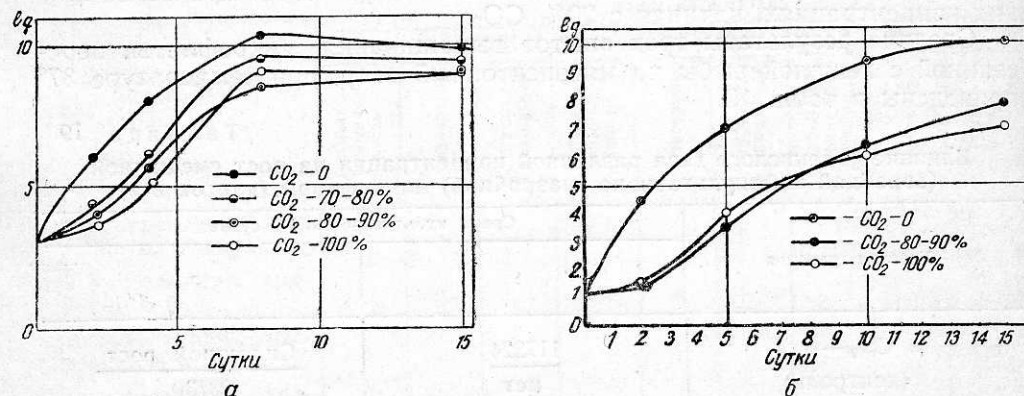


Рис. 15. Влияние разных концентраций углекислого газа на рост аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры в рыбе горячего копчения: а—при температуре 23—25°; б—при температуре 13—16°.

при микробиологических исследованиях обнаруживали большое количество клеток микрококка.

По морфологическим и культурально-биохимическим признакам этот микрококк близок к виду *Micrococcus candidus*, но отличается от него тем, что растет и при недостатке кислорода, т. е. является факультативным анаэробом, оптимум развития которого находится при температуре выше 16°.

На рис. 15 показаны средние результаты из 6 опытов по определению обсемененности опытной рыбы аэробной и факультативно-анаэробной микрофлорой при температуре 23—25° и при 13—16°.

Наиболее сильное угнетающее действие на рост микрофлоры оказывает 100%  $\text{CO}_2$ . В особенности это заметно в первые дни хранения, когда количество жизнеспособных клеток в атмосфере углекислого газа составляет лишь доли процента от контроля. Через 3—4 суток хранения темп роста бактерий в углекислом газе повышается, к 8—10 суткам количество бактериальных клеток достигает большой величины, оставаясь все же в десятки и сотни раз меньшей, чем в контроле. К этому времени образуется значительное количество спор.

Биологическая активность гнилостных бактерий в присутствии углекислоты сильно ослаблена, так как, несмотря на высокую бактериальную обсемененность продукта, качество его остается хорошим. Контрольная рыба всегда портится при значительно меньшем количестве бактериальных клеток. Кроме того, в атмосфере углекислоты вообще накапливаются преимущественно не гнилостные формы микроорганизмов.

При хранении рыбы горячего копчения в атмосфере с содержанием от 70 до 90%  $\text{CO}_2$  эффективность угнетающего действия углекислоты на микрофлору несколько снижается, оставаясь все же довольно близкой к действию 100%  $\text{CO}_2$ , что хорошо видно на рис. 16.

Результаты бактериологических анализов скумбрии горячего копчения при перевозке и хранении ее в атмосфере с температурой 0—8° и с содержанием от 90 до 99%  $\text{CO}_2$  (в контейнере с охлаждением сухим льдом) и на воздухе (в контейнере с охлаждением водным льдом) представлены на рис. 17.

Углекислый газ при охлаждении весьма интенсивно и в течение длительного времени угнетает рост микроорганизмов, обсеменяющих рыбу, не только на ее поверхности, но и в мышцах. При пониженных температурах угнетающее действие углекислого газа на рост микроорганизмов заметно усиливается (рис. 15, 17) и не ослабляется со временем, что можно объяснить повышением растворимости углекислоты в мышцах рыбы с понижением температуры.

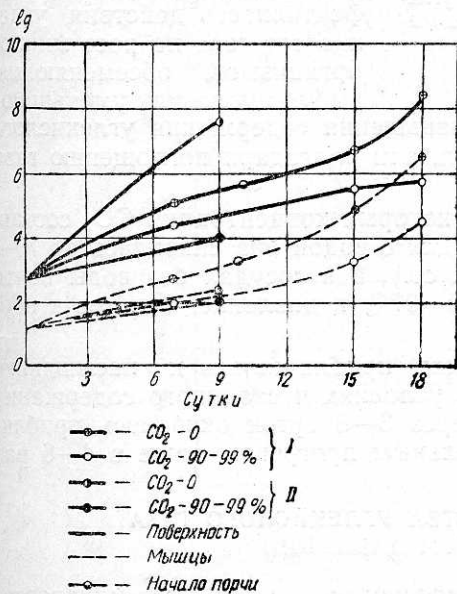


Рис. 17. Обсемененность микрофлорой скумбрии горячего копчения при перевозке из Одессы в Москву в контейнерах с водным и сухим льдом:

I—анализы Доно-Кубанской станции; II—анализы Института питания АМН СССР.

а давление 90—100 мм рт. ст. (парциальное давление кислорода 18—20 мм рт. ст.) почти не оказывает влияния на рост.

При содержании 70—80%  $\text{CO}_2$ , т. е. при более высоком парциальном давлении кислорода в газовой смеси (45—30 мм рт. ст.) степень подавления роста аэробных и факультативно-анаэробных микро-

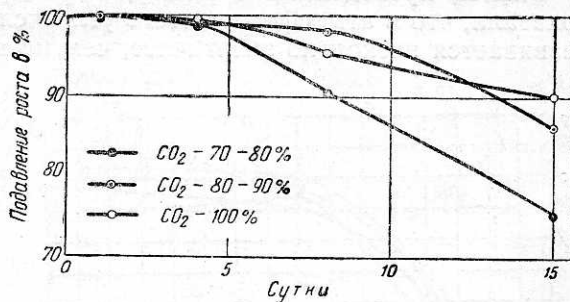


Рис. 16. Подавление роста аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры при разных концентрациях углекислого газа в рыбе горячего копчения (при температуре 23—25°).

организмов заметно усиливается (рис. 15, 17) и не ослабляется со временем, что можно объяснить повышением растворимости углекислоты в мышцах рыбы с понижением температуры.

Для выяснения действия разреженной атмосферы и углекислого газа на рост аэробных микроорганизмов чистые культуры некоторых аэробов (*Bact. prodigiosum*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megotherium*, *Proteus vulgaris*, *Bac. subtilis*, *Aspergillus niger* и другие) выращивали в условиях разреженной атмосферы с остаточным давлением 15—20 мм рт. ст. (парциальное давление кислорода 3—4 мм рт. ст.). При суточном сроке культивирования микроорганизмы прекращают свой рост [137] за исключением *P. glaucus*, который растет очень незначительно.

Остаточное давление 30—40 мм рт. ст. (парциальное давление кислорода 6—8 мм рт. ст.) вызывает задержку на 70—98%,



организмов в первые 3—4 суток составляет приблизительно 99%. Это позволяет сделать вывод, что рост микрофлоры в атмосфере углекислого газа эффективно угнетается не от уменьшения содержания кислорода, а от присутствия углекислоты.

Опыты, проведенные с рыбой, инфицированной *Cl. tetanomorphum*, показали, что в атмосфере чистого углекислого газа этот микроорганизм развивается несколько энергичнее, чем на воздухе (рис. 18).

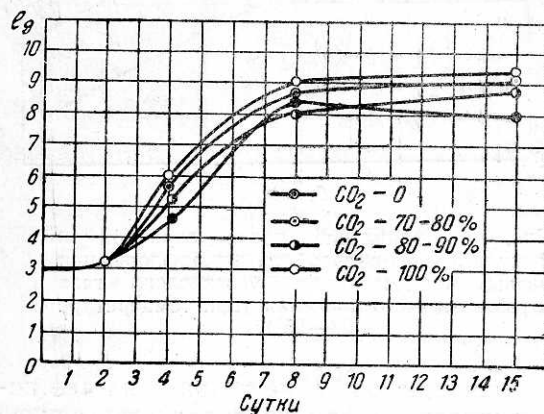


Рис. 18. Влияние разных концентраций углекислого газа на рост *Cl. tetanomorphum* в рыбе горячего копчения (при температуре 23—25°).

Уменьшения содержания углекислого газа в сосудах с опытной рыбой достигали благодаря поглощению газа водой.

Для опыта были взяты сосуды, в которых концентрация CO<sub>2</sub> составляла 96—98%. В конце опыта в сосудах с водой она снизилась до 70—80% (при давлении 120—140 мм рт. ст.), а в сосудах без воды почти не изменилась (концентрация CO<sub>2</sub> 90—97% и давление, близкое к нормальному).

Влажность воздуха во всех сосудах приближалась к насыщению.

Торможение роста микрофлоры в условиях постоянного содержания углекислоты при температуре 25° через 3—8 суток оказалось приблизительно в 2—5 раз, а с предварительным прогревом даже в 4—6 раз выше.

#### КОНСЕРВИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ПРИ ПОВЫШЕННОМ ДАВЛЕНИИ

Влияние повышенного давления углекислого газа на рост микроорганизмов определялось при выдерживании их посевов на мясопептонном агаре, в атмосфере 100% CO<sub>2</sub> при давлении газа от 0,5 до 8 ата.

Угнетающее действие углекислого газа на аэробную микрофлору при давлении в 2—3 ата проявляется сильнее, чем при нормальном давлении. При продолжительности опыта в несколько суток большая часть клеток гибнет, но некоторые из них выживают и сохраняют свою жизнедеятельность и способность размножаться после удаления углекислоты.

При выдерживании посевов смешанной микрофлоры в атмосфере углекислого газа при давлении от 2 до 8 ата при температуре 37° сроком до 10 суток всегда наблюдалось отсутствие роста на поверхности

и на некоторой глубине непосредственно под поверхностью, т. е. образовывалась зона угнетения.

Глубина зоны угнетения прямо пропорциональна давлению углекислого газа и при давлении, равном 8 ата, достигает 20—25 мм (рис. 19). Ниже этого слоя происходит рост анаэробной микрофлоры. В контроле во всех опытах обильный рост наблюдался на поверхности и по всей глубине столбика, зона угнетения отсутствовала.

При снижении давления углекислого газа до нормального через трое—четыре суток в нижней части зоны угнетения начали прорастать колонии анаэроба, глубина зоны при этом уменьшалась постепенно в течение 6—8 суток, приближаясь к глубине, соответствующей той, которая наблюдается при хранении пробирок с посевом в атмосфере углекислоты при нормальном давлении.

Для определения влияния углекислого газа на рост микрофлоры при кратковременном повышении давления пробирки с посевом смешанной микрофлоры в столбики с мясопептонным агаром помещали в автоклав, в котором после продувки поддерживали давление углекислоты, равное 3,3 ата. Из автоклава через каждый час (в течение 7 часов) извлекали по 2—3 пробирки и помеща-

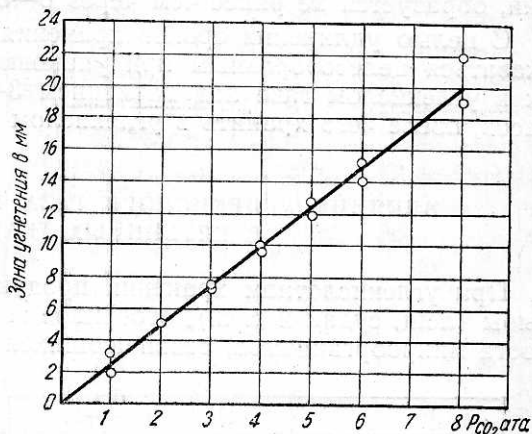


Рис. 19. Зоны угнетения роста смешанной микрофлоры при разных давлениях углекислого газа.

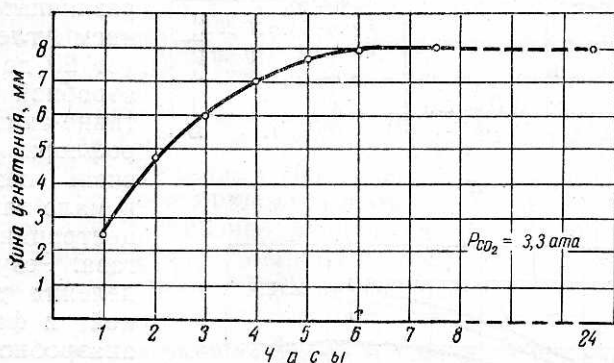


Рис. 20. Зоны угнетения *Cl. tetanomorphum* при различной экспозиции посевов в атмосфере углекислого газа.

ли в банки со 100%  $CO_2$ ; банки закрывали и устанавливали в термостат с температурой  $37^\circ$  одновременно с контрольными пробирками (без углекислоты).

В контрольных пробирках через сутки наблюдался сплошной рост от поверхности до дна пробирок. В опытных пробирках рост отсутствовал в течение 3 суток.

Зона угнетения *Cl. tetanomorphum* зависит от длительности выдерживания культуры в атмосфере углекислого газа под давлением (рис. 20). В начале опыта она возрастает пропорционально времени воздействия газа, затем несколько замедляется, а через 5—6 часов прак-

тически остается постоянной независимо от длительности последующего воздействия газа (до 24 часов и более).

Следовательно, эффект угнетения роста микрофлоры, получающийся в результате кратковременного воздействия повышенного давления, постепенно ослабляется при последующем хранении в атмосфере с нормальным давлением. Однако и в этом случае зона угнетения роста анаэроба, характерная для условий выращивания при нормальном давлении, образуется не ранее чем через 6—8 суток (при  $t=37^\circ$ ).

С целью удлинения сроков хранения некоторых продуктов может оказаться целесообразным при упаковке предварительно выдерживать их в углекислом газе под давлением 3—5 *ата* в течение трех-четырех часов, после чего хранить в углекислом газе при нормальном давлении.

### ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА РОСТ МИКРОФЛОРЫ В ГЛУБИННЫХ ТКАНЯХ РЫБЫ

При углекислотном хранении продукции, изготовленной из крупной рыбы (лещ, судак и т. п.), особенное значение имеет степень угнетения роста микроорганизмов, развивающихся в глубинных тканях рыбы, т. е.

в мышцах и в кишечнике.

Для определения этого влияния были использованы охлажденный лещ и лещ и скумбрия горячего копчения.

В мышцах охлажденного леща, хранившегося в атмосфере с различным содержанием углекислого газа (от 20 до 100%), рост аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры оказался очень незначительным и мало зависел от концентрации углекислого газа. Результаты определения роста аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры в кишечнике свежего (охлажденного) леща приведены на рис. 21.

Торможение роста бактерий и плесней в кишечнике наблюдается приблизительно в такой же степени, как в мышцах и на поверхности рыбы. Подобные результаты по-

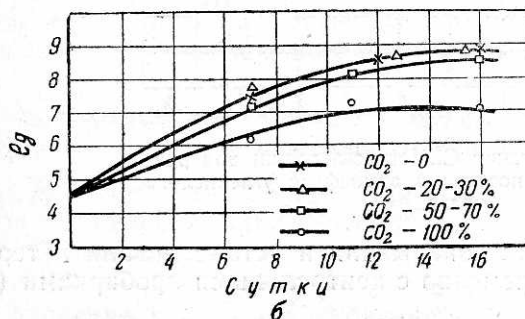
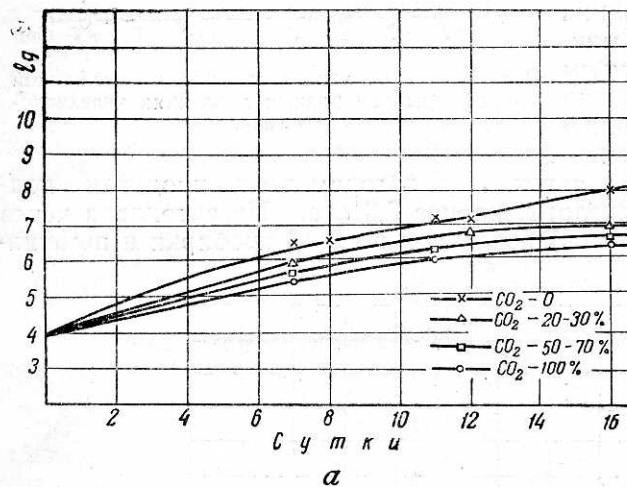


Рис. 21. Влияние разных концентраций углекислого газа на рост микрофлоры кишечника свежего леща при температуре  $0^\circ$ :

а—аэробная микрофлора; б—факультативно-анаэробная микрофлора.

лучились при выдерживании в углекислоте рыбы горячего копчения (табл. 20, рис. 17).

**Таблица 20**  
**Обсемененность микроорганизмами поверхности мышц и кишечника леща**  
**горячего копчения при хранении в углекислом газе**

Содержание CO <sub>2</sub> в %	Температура хранения в °	Длительность хранения в сутках	Обсемененность клеток в 1 г		
			поверхность	мышцы	кишечник
0	1—2	0	0	0	0
		22	125 (плесень)	250	375
		30	2000 (плесень)	160	Сплошной рост
		36	400000 (плесень)	150	Сплошной рост
80	1—2	0	0	0	0
		22	85	185	250
		30	38	3	40
		36	90	0	0
0	18—20	0	0	0	0
		11	Сплошной рост, плесень	Сплошной рост, плесень	Сплошной рост, плесень
90	18—20	0	0	0	0
		11	400	700	900
		18	Сплошной рост	150 000	250 000

Результаты проведенных исследований указывают на возможность применения углекислого газа для хранения не только мелкой, но и более крупной рыбы.

**ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА РОСТ МИКРОФЛОРЫ В РЫБЕ**  
**С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ СОЛИ**

Для проведения опытов был использован рыбный фарш соленостью от 0 до 14% и целая рыба с содержанием соли 8—12% [115].

Вначале проверяли влияние углекислого газа высокой концентрации (90 и 100% CO<sub>2</sub>) на рост микроорганизмов в среде с различной соленостью, а затем влияние разных концентраций углекислого газа при определенной солености среды (опыты с таранью).

Результаты первой серии опытов приведены в табл. 21.

**Таблица 21**

**Результаты хранения рыбного фарша в атмосфере углекислого газа**  
**при 15—20°**

Номера опытов	Содержание углекислого газа в %	Появление признаков порчи (в сутках от начала хранения) при содержании NaCl в %						
		0	3	6	8	10	12	14
1	0 (контроль)	1	1,5	5—6	10—12	16—17	22—24	—
2	0	1—1,5	1,5—2	6—8	13—15	23—24	30—35	42—46
3	0	1,5	2	6—7	12—13	21—22	40—50	60—63
1	90—98	1,5	3	16—18	32—37	48—50	60—65	—
2	90—98	1,5—2	3	34—35	39—42	60—65	>90	>90
3	95—97	2—3	3—4	32—40	40—42	68—70	>80	>80

При хранении рыбного фарша в атмосфере с высоким содержанием углекислоты (табл. 21 и рис. 22,а) гнилостные процессы проходят значительно медленнее, чем на воздухе, причем слабые концентрации соли мало влияют на этот процесс, но, начиная с солености 6—8%, консервирующее действие углекислоты усиливается, и фарш сохраняется без каких-либо признаков бактериальной порчи значительно дольше, чем в контроле.

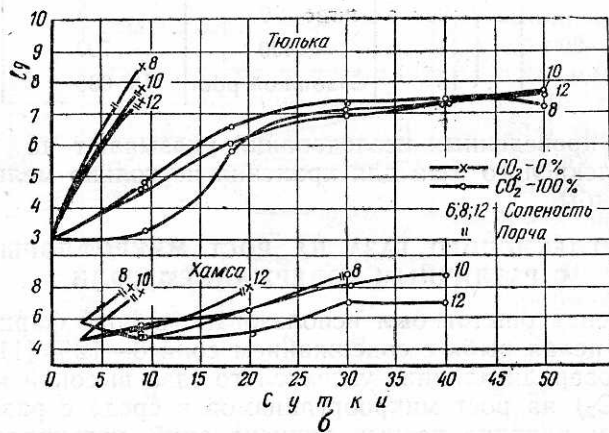
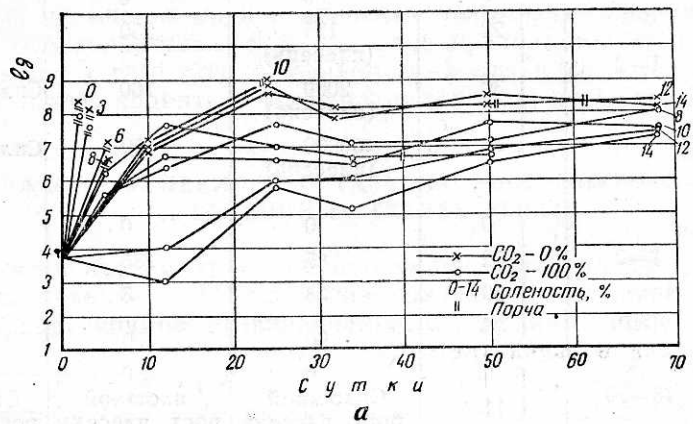


Рис. 22. Влияние углекислого газа на рост микрофлоры в среде различной солености: а—рыбный фарш; б—рыба.

Для соленой хамсы и тюльки в атмосфере углекислого газа в тузлуке и без тузлука наблюдается приблизительно такая же закономерность удлинения сроков сохранения рыбы, как и при хранении фарша.

Контрольная рыба при температуре 18—20° относительно быстро портится (скисание, реже — гнилостная порча), тогда как рыба, хранившаяся при этой же температуре в углекислоте, оказывается более устойчивой (в 3—7 раз), причем более соленая рыба (соленость 12%) меньше обсеменена микроорганизмами (рис. 22,б).

При выдерживании соленой тарани (соленость 10%) в атмосфере с содержанием 20—30, 40—60, 70—80 и 95—100%  $\text{CO}_2$  выяснилось, что наибольшее угнетающее действие на рост микрофлоры в соленой рыбе углекислый газ оказывает при концентрации его выше 60%.

Сравнивая действие углекислоты на микрофлору рыбы свежей, обработанной горячим копчением и соленой, можно видеть, что консервирующие свойства углекислого газа эффективнее проявляются при пред-

варительной тепловой обработке продукта и еще более эффективно в комбинации с солью, причем наибольшая степень угнетения микрофлоры в соленой рыбе наблюдается при солености 8—12%.

#### ДЕЙСТВИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА *VAC. BOTULINUS* В РЫБЕ ГОРЯЧЕГО КОПЧЕНИЯ

Ростовским институтом эпидемиологии, микробиологии и гигиены при участии автора и А. Я. Алдакимовой [79] проведены исследования по изучению действия углекислого газа на жизнедеятельность и токсинообразование *Vac. botulinus* в рыбе горячего копчения.

С этой целью было поставлено 12 серий опытов; в каждой серии исследовали 30—40 рыб горячего копчения (окунь, чехонь, сельдь, тарань, язь, лещ, судак, белоглазка и т. п.) весом от 50 до 200 г каждая с толщиной в брюшной части от 1,5 до 3 см. После заражения спорами *Vac. botulinus* их хранили в атмосфере углекислого газа.

Живой или только что уснувшей рыбе вводили в желудочно-кишечный тракт отмытую от токсина взвесь спор *Vac. botulinus* типа В (1000 спор в 1 мл физиологического раствора); часть рыбы заражали непосредственно в мышцы спины, после чего обрабатывали горячим копчением и помещали в эксикаторы, заполняемые смесью углекислоты и воздуха (90%  $\text{CO}_2$  + 10% воздуха). Герметически закрытые эксикаторы вместе с контрольными образцами держали в термостате при 20, 25 и 30°.

Через определенные сроки производили органолептическое исследование рыбы, а также определяли наличие культуры (посев на среду Китт-Тароцци) и токсина *Vac. botulinus*. Биологические испытания проведены более чем на 2000 мышей. Перед взятием пробы рыбы определяли процентное содержание углекислого газа в эксикаторе.

На основании органолептических показателей (внешний вид, консистенция, запах) установлено, что контрольная рыба всегда подвергалась порче значительно ранее хранившейся в среде углекислого газа.

Так, при 20° через 5—6 суток хранения контрольная рыба покрывалась плесенью, затем консистенция ее ослаблялась, а на 8—10 сутки появлялись признаки резкой гнилостной порчи; при 25 и 30° контрольная рыба портилась уже через 3—4 дня, в то время как в углекислотной среде она сохранялась без порчи соответственно 16, 12 и 5—7 суток.

Кроме того, в результате проведенных исследований установлено, что углекислотный метод хранения не препятствует проникновению спор *Vac. botulinus* из желудочно-кишечного тракта в толщу мышц рыбы.

В рыбе, зараженной спорами *Vac. botulinus* непосредственно в мышцы спины, хранившейся в атмосфере с содержанием 90%  $\text{CO}_2$  при 20°, токсинообразование не было отмечено в течение 9 суток. Не наблюдалось токсинообразования в течение трех дней и в рыбе, предварительно подвергнутой восьмидневному выдерживанию в среде углекислого газа (концентрация  $\text{CO}_2$  90%, температура 20 и 25°).

Сходные результаты биологической пробы рыбы, хранившейся на воздухе и в атмосфере с содержанием 90% углекислого газа, позволяют сделать заключение о том, что углекислый газ в условиях опытов не препятствовал жизнедеятельности и токсинообразованию *Vac. botulinus* в рыбе горячего копчения, но и не стимулировал их.

#### РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПРОДУКТЕ ПОСЛЕ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЕГО ИЗ СРЕДЫ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Рост микроорганизмов после извлечения продукта из среды углекислого газа исследован на тарани горячего копчения (табл. 22).

При температуре 5—7° и влажности воздуха 75—85% на поверхно-

Влияние углекислоты на рост микроорганизмов в тарани горячего копчения при хранении ее сначала в углекислом газе, а затем на воздухе (температура хранения 5—7°)

Способ хранения	Продолжительность хранения в днях			Обсемененность, количество клеток в 1 г		Развитие плесени
	в CO <sub>2</sub>	на воздухе (влажность 75—85%)	всего	поверхность (под кожей)	у позвоночника	
На воздухе (контроль)	0	5	5	<30	<30	Поверхность чистая
	0	15	15	4100	22200	На поверхности единичные очаги плесени
	0	33	33	62100	596800	Поверхность, мышцы и кишечник сплошь поражены плесенью
В контейнере с углекислым газом (90—100% CO <sub>2</sub> ), затем на воздухе, как и в контроле	5	10	15	<30	<30	Поверхность чистая
	16	18	34	70	50	На поверхности единичные очаги плесени
	33	17	50	240	60	
	50	10	60	70	140	Поверхность чистая

сти контрольной рыбы (хранившейся на воздухе) через 13—15 суток появляются отдельные очаги плесени, которая быстро развивается и через последующие 5—6 суток не только покрывает всю поверхность рыбы, но проникает и в мышцы. Кроме того, как в поверхностных, так и в глубинных слоях мышц энергично развиваются гнилостные бактерии.

При хранении в тех же условиях рыбы, извлеченной из среды углекислого газа, плесень на поверхности ее появляется в те же сроки, что и на контрольной рыбе, и развивается приблизительно такими же темпами.

Гнилостные бактерии в опытной рыбе растут во много раз медленнее, чем в контрольной, что, по-видимому, является следствием длительного угнетения их жизнедеятельности углекислотой, а также, несомненно, и антагонистическим влиянием негнилостных форм бактерий, накапливающихся в продукте при его хранении в углекислоте.

Крайне важным является то обстоятельство, что более или менее длительный срок, необходимый для развития плесени, и замедленный темп роста бактерий в продукте, извлеченном из углекислого газа, имеют место даже и после продолжительного хранения в нем продукта.

В наших опытах поверхность рыбы после 50-суточного хранения в углекислом газе и через 10 суток дополнительного хранения на воздухе была совершенно чистой, а обсемененность ее гнилостными бактериями ничтожной. Следовательно, сохраняемость продукта, извлеченного из среды углекислого газа, даже после длительного хранения в нем, не ниже сохраняемости свежеприготовленного продукта. Это явление наблюдали и другие исследователи [81].

### Выводы

1. Углекислый газ не только замедляет темп роста бактерий, но оказывает глубокое физиологическое воздействие на микроорганизмы: изменяет величину бактериальных клеток, способствует образованию слизи. После извлечения из углекислотной атмосферы большая часть клеток восстанавливается, принимая обычные для данных бактерий формы и размеры.

2. Эффективность угнетающего действия углекислоты на микрофлору, обсеменяющую рыбные продукты, усиливается с повышением концентрации ее. Достаточно эффективными являются концентрации выше 60—70%  $\text{CO}_2$  и наиболее эффективными — концентрации, близкие к 100%  $\text{CO}_2$ .

3. Чистый углекислый газ оказывает меньшее угнетающее действие на рост облигатного анаэроба *Cl. tetanomorphum*, чем воздушная среда, однако при содержании 90%  $\text{CO}_2$  рост этого анаэроба угнетается почти так же, как в воздухе.

4. Углекислый газ 70—90%-ной концентрации при температуре 20—30° не задерживает, но и не стимулирует жизнедеятельность и токсинообразование *Vac. botulinus* в рыбе горячего копчения.

5. При повышении давления угнетающее действие углекислого газа на микроорганизмы усиливается, а при постепенном понижении его концентрации (парциального давления), наоборот, уменьшается.

6. Некоторые факультативные анаэробы, часто обсеменяющие рыбу горячего копчения, при температуре выше 16° лучше развиваются в атмосфере чистой или почти чистой углекислоты, чем на воздухе. Однако при хранении продукта в газозвушной смеси с содержанием углекислоты от 70 до 90%, рост этих бактерий эффективно угнетается. В углекислом газе на рыбных продуктах развиваются и накапливаются преимущественно негнилостные формы микроорганизмов.

7. Наибольшее угнетающее действие на рост аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры в рыбе горячего копчения оказывает 100%-ная углекислота. Газозвушная смесь с содержанием 70—90%  $\text{CO}_2$  по силе действия близка к чистой углекислоте и является оптимальной средой для хранения рыбы горячего копчения.

8. Консервирующее действие углекислоты проявляется сильнее при предварительной обработке рыбы теплом или в сочетании с присутствием в рыбе соли.

9. С понижением температуры хранения консервирующее действие углекислого газа значительно усиливается, что объясняется повышением растворимости углекислоты.

10. Углекислый газ, растворяясь в мясе рыбы, угнетает рост микрофлоры не только на поверхности, но и в глубине тканей.

11. В рыбе горячего копчения, извлеченной из среды углекислого газа (даже после длительного хранения в нем), плесени развиваются приблизительно с такой же скоростью, как и в свежем продукте, а гнилостные бактерии по сравнению со свежим продуктом развиваются медленнее.

## ХРАНЕНИЕ СВЕЖЕЙ РЫБЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

### ПОСМЕРТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В РЫБЕ

Советскими и зарубежными учеными установлено, что все процессы в живой и мертвой мышечной ткани сводятся к химическим, физико-химическим и коллоидным изменениям белков мышц в сложной совокупности с превращениями в небелковой части мышечной ткани.

В состав мышечной ткани рыбы входит сократимый белок — актомиозин, представляющий собой обратимый комплекс белков миозина и актина. Кроме актомиозина, к основным белкам мышечной ткани относится миоген.

При окоченении и расслаблении мышц физико-химическим превращениям (растворимость и пр.) подвергается сложный белковый комплекс актомиозин, причем состояние его в мышцах зависит от наличия свободной и связанной аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ).