



Микробиологические параметры безопасности технологических процессов производства продукции животноводства (часть 2-2)

Олесюк Анна Петровна,
кандидат биологических наук,
старший преподаватель кафедры
молочного и мясного скотоводства
РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева



Допустимые уровни содержания потенциально опасных веществ в молоке и молочной продукции



| Продукт, группа продуктов | Потенциально опасные вещества | Допустимые уровни, мг/кг (л), не более |
|---------------------------|-------------------------------|--|
| 1 | 2 | 3 |

Сырое молоко, сырое обезжиренное молоко, сырые **СЛИВКИ И ВСЯ** молочная продукция

Антибиотики:

Левомецетин
(хлорамфеникол)

Не допускается (менее 0,01)

Не допускается (менее 0,0003)

Тетрациклиновая группа

Не допускается (менее 0,01)

Стрептомицин

Не допускается (менее 0,2)

Пенициллин

Не допускается (менее 0,004)

Допустимые уровни содержания микроорганизмов и соматических клеток в сыром молоке



| Продукт | КМАФАнМ, КОЕ**/см (г), не более*** | Объем (масса) продукта, см ³ (г), в которой не допускаются | | Содержание соматических клеток, в 1 см (г), не более |
|--------------|--|--|---|---|
| | | БГКП (колиформы)*** | Патогенные, в том числе сальмонеллы | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Сырое молоко | 5×10^5 | - | 25 | $7,5 \times 10^5$ |

* КМАФАнМ - количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

** КОЕ - колониеобразующие единицы.

*** БГКП - бактерии группы кишечных палочек.



Микробиологический анализ образцов молока

Микробиологические показатели молока исследуются в соответствии с ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа» и ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов».





Редуктазная проба

В процессе жизнедеятельности бактерии выделяют в окружающую среду наряду с другими окислительно-восстановительными ферментами анаэробные дегидразы (редуктазы). Существует зависимость между количеством мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в молоке и содержанием в нем редуктаз, что дает возможность использовать редуктазную пробу как косвенный показатель уровня бактериальной обсемененности сырого молока.



Определение класса сырого молока в зависимости от окраски по редуктазной пробе с резазурином



| Класс | Продолжительность изменения цвета | Окраска молока | Ориентировочное количество бактерий в 1 см ³ молока |
|-------|-----------------------------------|---|--|
| I | Через 1 ч | От серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком | До 500 тыс |
| II | Через 1 ч | Сиреневая с розовым оттенком | Более 500 тыс |

Примечания:

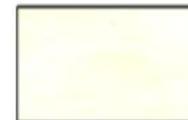
- Пробы сырого молока через 1,5 часа выдержки с окраской от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком имеют ориентировочную бактериальную обсемененность менее 300 тыс.
- Пробы сырого молока через 1 час выдержки с окраской от бледно-розовой до белой имеют ориентировочную бактериальную обсемененность более 4 млн.



I



II



III

Микробиологический анализ образцов молока на тест-пластинах 3M™ Petrifilm™





Ввиду того, что численность микроорганизмов в исследуемом образце продукта обычно велика, для получения достоверного результата и подсчёта изолированных колоний необходимо приготовить ряд последовательных разведений молока или молочных продуктов.

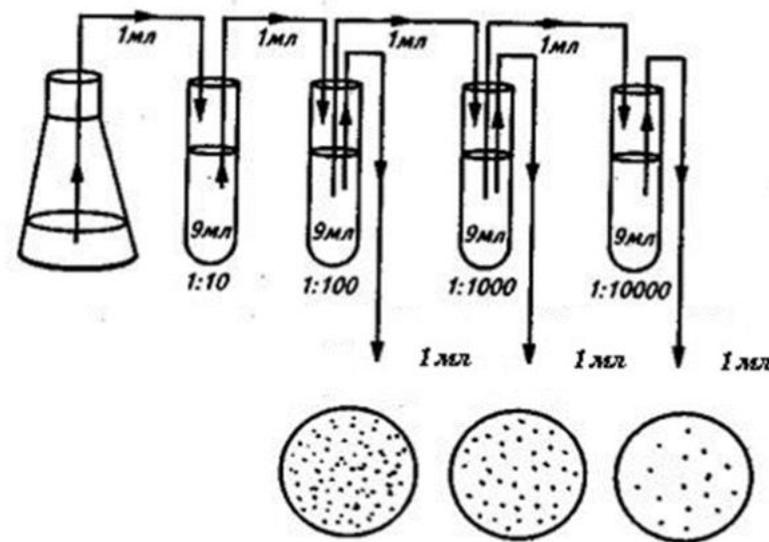


Рисунок 1 – Метод приготовления предельных разведений

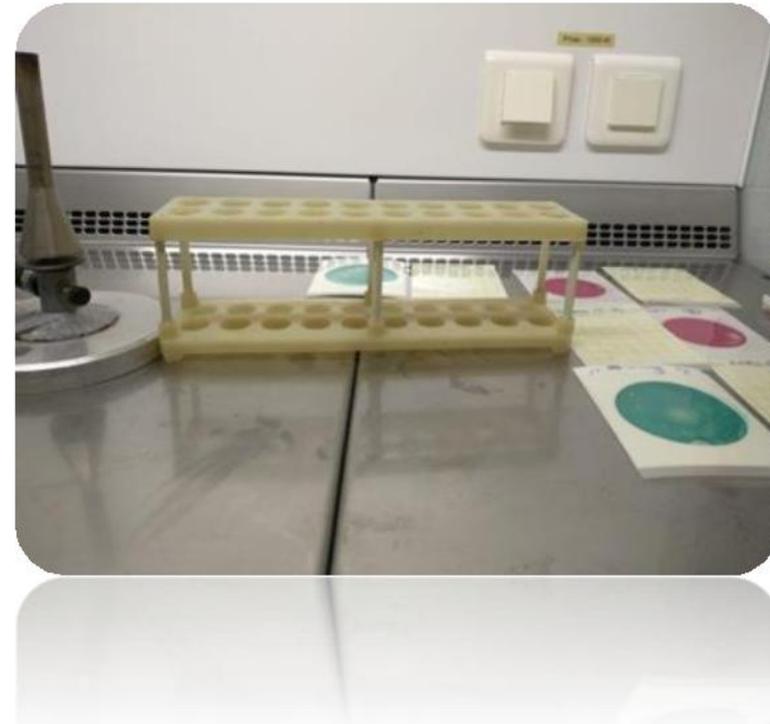
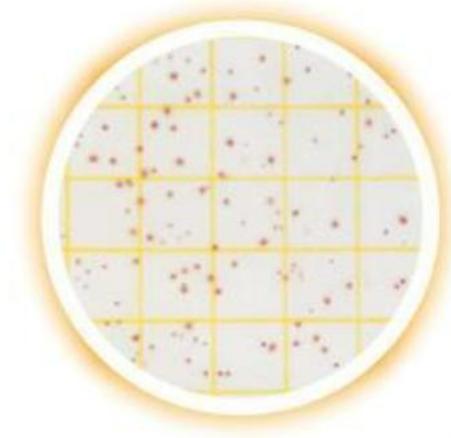


Рисунок 2 – Техника приготовления и посева образцов молока на пластины Петрифилм



Для подсчёта микроорганизмов молока используют экспресс-анализ на тест-пластинах 3М™ Petrifilm™ для определения следующих микробиологических показателей: КМАФАнМ, молочнокислые бактерии, колиформные бактерии (БГКП), условно-патогенные (*S. Aureus*) и патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонелла), дрожжи и плесневые грибы.

Для подсчета общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) определяют количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г или 1 см³ продукта, для этого применяют готовые тест-пластины 3М™ Petrifilm™ тип «Petrifilm Aerobic Count Plate (AC)», разработанные на основе новой концепции и технологии. Данные тест-пластины имеют стерильную питательную среду, гелеобразующий агент и тетразолиевый индикатор (ТТХ), окрашивающий колонии в красный цвет и облегчающий их подсчет.

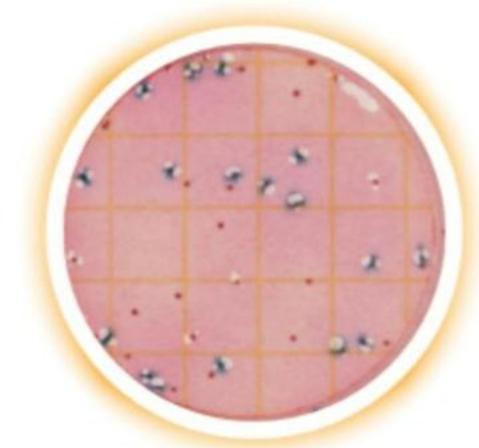


**Тест-пластина Petrifilm™ (AC)
для учета КМАФАнМ**
Все колонии микроорганизмов
окрашены в красный цвет.
Результаты через 48 ч.



Колиформные бактерии (БГКП) - санитарно-показательные микроорганизмы, выполняют функцию индикатора фекального загрязнения молочного сырья. Семейства Enterobacteriaceae родов Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia.

Для их идентификации используют тест-пластины 3М™ Petrifilm™ тип «Petrifilm E.coli/Coliform Count (EC)», в составе которых имеется готовая питательная среда, содержащая желчь, лактозу, гелеобразующий агент, хромогенный субстрат (5-бром-4-хлор-3-индолил-бета-D-галактопиранозид для детекции специфического фермента, продуцируемого бактериями данной группы – β -глюкуронидазы) и тетразолиевый красный индикатор.



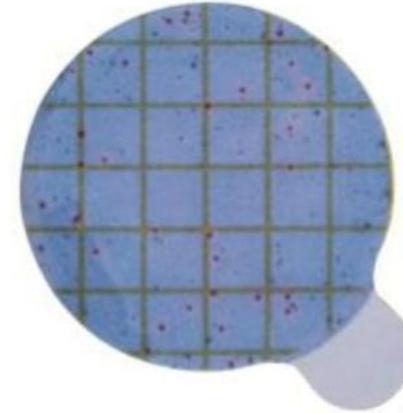
**Тест-пластина Petrifilm™ (EC)
для учета E.coli и колиформных
бактерий (БГКП)**

Для одновременного определения E. coli и колиформных бактерий
Наличие хромогенного субстрата (β -глюкуронидазы для выявления E.coli.
Колонии E.coli синего цвета с газом
и колонии БГКП красного цвета с газом.

Результаты через 24 ч. для мяса, птицы и морепродуктов или 48 ч. для всех других продуктов.

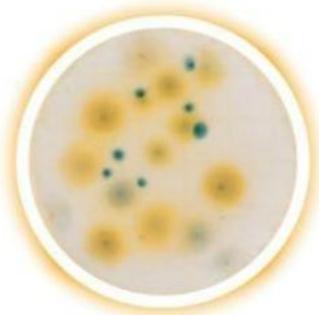


К группе условно-показательных микроорганизмов относятся микроорганизмы – возбудители пищевых отравлений: *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*. При определении золотистого стафилококка используются тест-пластины 3МТМ Petrifilm™ тип «Petrifilm Staph Express Count Plate (STX)». Петрифильмы STX содержат модифицированную хромогенную среду на основе среды Брайрд-Паркера.



Тест-пластина Petrifilm™ (STX) для выявления и подтверждения *Staph. aureus*

Выявления ДНК-азы (термонуклеазы)
Типичные колонии *S.aureus* красно-фиолетового цвета.
Результаты через 24–28 ч.



Тест-пластина Petrifilm™ (Y&M) для учета дрожжей и плесневых грибов
Колонии дрожжей сине-зеленого цвета.
Колонии плесеней могут иметь различную окраску.
Результаты через 5 дней.

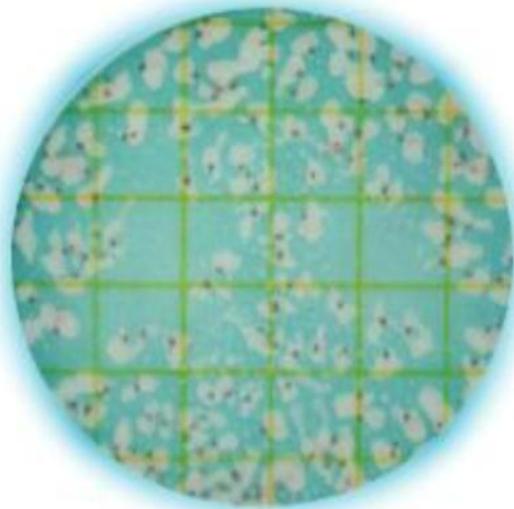


Тест-пластина Petrifilm™ (RYM) для быстрого учета дрожжей и плесневых грибов
Колонии дрожжей голубого цвета.
Колонии плесеней могут иметь различную окраску.
Результаты через 48 ч.

Для определения количества дрожжей и плесневых грибов применяют тип петрифильмов «Petrifilm Yeast and Mold Count Plate (YM)» с питательной средой, содержащей антибиотик, подавляющий рост прокариот, а также индикатор для более удобного подсчета колоний микроорганизмов.



Для обнаружения и подсчёта молочнокислых бактерий применяют тест-пластины 3М™ Petrifilm™ (LAB) или «3М Petrifilm Lactic Acid Bacteria Count Plate» с питательной средой, содержащей удаляющие кислород соединения, которые создают анаэробную среду для восстановления гомо- и гетероферментативных молочнокислых бактерий. Гомоферментативные молочнокислые бактерии синтезируют только молочную кислоту.



Гетероферментативные МКБ помимо молочной кислоты способны вырабатывать газ.

На тест-пластинах 3М Petrifilm LAB гомоферментативные молочнокислые бактерии имеют вид красных колоний без газа, колонии же гетероферментативных бактерий имеют вид красных колоний с соответствующими пузырьками газа. Результаты через 48 часов.



Для определения численности микроорганизмов молока, заквасок и кисломолочных продуктов в динамике используется метод импедансного анализа (прямое измерение импеданса) на микробиологическом анализаторе БакТрак 4300.

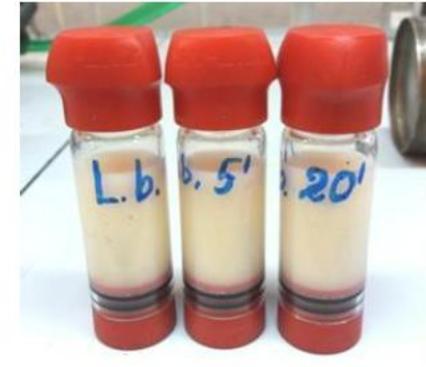


Рисунок 3 – Микробиологический анализатор БакТрак 4300, пробирки с образцами молока



Метод основан на том, что в процессе своей жизнедеятельности микроорганизмы расщепляют питательные вещества (различные высокомолекулярные соединения – пептиды, белки, углеводы), образуя низкомолекулярные заряженные молекулы, которые изменяют проводимость жидкой питательной среды. Импеданс представляет собой функцию активной проводимости, ёмкостного сопротивления переменному току.

По измеренному сигналу изменения импеданса анализатор БакТрак выстраивает типичную кривую, напоминающая кривую роста микроорганизмов, которая поделена на три характерные области: начальная фаза (фаза адаптации), экспоненциальная фаза, стационарная фаза.

Количество микроорганизмов исходного образца в прямой зависимости коррелирует со временем регистрирования кривой импеданса.

Импедансный анализ является динамическим процессом и отражает метаболическую активность растущих микроорганизмов во времени.



Ссылки на обучающие видео:

<https://yandex.ru/video/preview/?filmId=14507041985544478100&from=tabbar&parent-reqid=1607668633660952-1358210861066695786500163-production-app-host-man-web-yp-370&text=%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%B8%D0%BA%D0%B0+%D0%BF%D0%BE%D1%81%D0%B5%D0%B2%D0%B0+%D0%BD%D0%B0+%D0%BF%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD%D1%8B+%D0%BF%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%84%D0%B8%D0%BB%D1%8C%D0%BC>

<https://yandex.ru/video/preview/?filmId=6355381440554744020&text=%D0%BF%D0%BE%D1%81%D0%B5%D0%B2+%D0%BD%D0%B0+%D0%BF%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD%D1%8B+%D0%BF%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%84%D0%B8%D0%BB%D1%8C%D0%BC>

<https://multimedia.3m.com/mws/media/1758286O/3m-petrifilm-plates-a-process-that-is-simple-fast-reliable-video.mp4>



Список литературы

- ГОСТ 32901–2014 Молоко и сливки. Методы микробиологического анализа. – М.: Стандартинформ, 2015. – 25 с.
- ГОСТ 26669–85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов. – М.: Стандартинформ, 2010. – 10 с.
- Сидоренко, О.Д. Лабораторный практикум по микробиологии / О.Д. Сидоренко. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 1999. – 119 с.
- Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии: Учебное пособие для вузов / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; под ред. В.К. Шильниковой. – 5-е изд., перераб. И доп. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
- Методы микробиологического контроля с использованием петрифильмов МУК 4.2.2884-11. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 24 с.
- Микробиологический анализатор БакТрак 4300 Инструкция пользователя. – SY-LAB Instruments GmbH. – 2002. – 74 с.



Спасибо за внимание!