МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Л.В. Красникова, П.И. Гунькова, О.А. Савкина

ОБЩАЯ И ПИЩЕВАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебное пособие

Часть II

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Санкт-Петербург

2016

УДК 579.2
ББК 28.4
К 78

Красникова Л.В., Гунькова П.И., Савкина О.А. Общая и пищевая микробиология: Учеб. пособие. Часть II.– СПб.: Университет ИТМО, 2016. – 127 с.

Приведены методы микробиологического исследования пищевого сырья, производственных полуфабрикатов и готовой продукции, что позволит студентам более глубоко изучить микробиологические основы отрасли в соответствии с выбранной специальностью. Дано описание микроорганизмов, вызывающих порчу различных пищевых продуктов, и микроорганизмов, участвующих в биотехнологических процессах. Пособие предназначено для студентов бакалавриата очной и заочной форм обучения направлений 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья и 19.03.03 Продукты питания животного происхождения по дисциплине «Общая и пищевая микробиология».

Рецензенты: кафедра промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии (зав. кафедрой доктор фарм. наук, проф. И.Е. Каухова); доктор техн. наук, проф. РАН Н.Ю. Шарова (ВНИИ пищевых добавок)

Рекомендовано к печати Советом факультета пищевых биотехнологий и инженерии, протокол № 2 от 27.10.2016 г.

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 – 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2016

© Красникова Л.В., Гунькова П.И., Савкина О.А., 2016

ВВЕДЕНИЕ

Пищевые продукты, употребляемые человеком, могут иметь животное и растительное происхождение. В связи с этим появляется возможность предсказать общие типы микроорганизмов, способные размножаться в них. При переработке и хранении растительного и животного сырья происходит увеличение или уменьшение количества микроорганизмов, первоначально присутствующих в нем. Любая жизнедеятельность микроорганизмов в пищевом сырье и продуктах его переработки приводит к изменению их химического и физического состава. Если размножающиеся микроорганизмы вызывают деградацию питательных веществ, то микробный метаболизм называют порчей. Если же в технологии пищевых продуктов используется специфическая микрофлора, то такие процессы метаболизма называют ферментацией и биотрансформацией.

Особое внимание следует уделять микроорганизмам, вызывающим пищевые инфекции и отравления. При нарушении санитарно-гигиенических требований они могут размножаться в большинстве продуктов и накапливать токсичные продукты метаболизма.

На скорость размножения микроорганизмов в пищевых продуктах влияют структура и консистенция, химический состав, значения активности воды и pH, присутствие антимикробных веществ, состав газовой среды, влажность, температура, технологические параметры и т.д.

Задачами пищевой микробиологии являются: исследование микробиоты сырья, используемого в пищевой промышленности; микробиологический контроль технологического процесса; санитарно-микробиологический контроль готовой продукции; получение и использование высокоактивных производственных штаммов микроорганизмов; интенсификация технологических процессов, основанных на их жизнедеятельности; разработка новых методов предохранения пищевых продуктов от микробной порчи; использование новых способов и средств дезинфекции технологического оборудования.

ТЕМА 1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВЕЖЕГО МЯСА

1.1. Микрофлора свежего мяса

На мясоперерабатывающих предприятиях микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов проводят с профилактической целью или как вынужденное, когда требуется выявить в мясе присутствие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, а также при подозрении на нарушения в ходе технологического процесса. Микробиологическому исследованию подвергают сырье, готовые изделия, а также тару, инвентарь, руки рабочих, непосредственно связанных с мясной продукцией.

Мясо является полноценной питательной средой для жизнедеятельности многих микроорганизмов. Высокие значения активности воды (a_W – 0,98–0,99) и pH (от 5,5 до 6,5) также благоприятны для размножения микроорганизмов в свежем мясе.

Микроорганизмы, как правило, не содержатся в крови, мышечной ткани и во внутренних органах здоровых животных, организм которых обладает высокой сопротивляемостью к их проникновению. Существуют два пути контаминации органов и тканей животных микроорганизмами: *эндогенный* и *экзогенный*.

Эндогенная контаминация мяса микробами наблюдается у животных, больных инфекционными болезнями, что представляет большую опасность для человека, а также у ослабленных и утомленных животных. У животных, убитых в стадии резкого утомления, микроорганизмы содержатся практически во всех органах и тканях.

Экзогенная контаминация мяса и органов микроорганизмами происходит после убоя в процессе последующих операций (снятие шкуры, разделка и нутровка туши) и в ходе заключительной обработки мяса.

Микрофлора парного мяса здоровых животных представлена ограниченным количеством микроорганизмов, но достаточно разнообразна по видовому составу. Бактерии, часто встречающиеся на свежем мясе, относятся к родам *Pseudomonas, Acinetobacter/Moraxella, Clostridium, Aeromonas, Psychrobacter, Enterobacteriaceae, Micrococcaceae, Bacillus, Shewanella, Brochotrix*, *Lactobacillus, Carnobacterium, Leuconostoc, Weissella*. На 1 $см^2$ поверхности мяса

может насчитываться от 10^3 до 10^5 клеток микроорганизмов. Доминирующими являются неспорообразующие, грамотрицательные палочки – псевдомонады, флавобактерии, аэромонады, колиформные бактерии, палочки протея. Среди грамположительных бактерий чаще обнаруживаются молочнокислые, в значительно меньших количествах – аэробные и анаэробные спорообразующие бактерии, а также дрожжи родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, споры плесневых грибов. Многие из названных микроорганизмов обладают активными протеазами и липазами, катализирующими гидролиз белков и липидов мяса.

Характерно, что из большого количества микроорганизмов – контаминантов свежего мяса – активно размножаются лишь некоторые виды, которые становятся доминирующими и составляют «ассоциацию микроорганизмов порчи». Видовой состав ассоциации зависит от типа взаимоотношений, внутренних и внешних факторов, технологических параметров переработки мяса.

Мясо может быть контаминировано и токсикогенными микроорганизмами, например, *Clostridium perfringens, Salmonella typhimurium, Bacillus cereus*, энтерококками. При значительном размножении этих бактерий мясо может послужить причиной пищевых отравлений.

Бактериологическое исследование мяса и мясопродуктов проводится для предупреждения:

- заражения рабочих, занимающихся убоем скота и переработкой мяса;
- допуска в пищу мяса и мясопродуктов, полученных от животных, имевших инфекционные заболевания;
- выпуска в реализацию продуктов, употребление которых может вызвать у людей пищевые токсикоинфекции или токсикозы, а также распространение инфекций.

Микробиологические анализы осуществляют в бактериологической лаборатории предприятия в соответствии с действующими ГОСТами или нормативно-технической документацией. Микробиологическое исследование свежего мяса начинают с микроскопического исследования мазков-отпечатков (бактериоскопический метод), а затем проводят бактериологический анализ.

1.2. Бактериоскопическое исследование мяса

Отбор проб. Для определения свежести мяса от каждой туши или полутуши отбирают для исследования три образца массой не менее 200 г каждый целым куском из мышц бедра, лопатки и области 4–5 шейных позвонков. В образцах, кроме мышечной ткани, должны быть сухожилия и жир.

Для бактериологического исследования на сибирскую язву направляют лимфатический узел, собирающий лимфу с места локализации пораженного очага, отечную ткань, а у свиней, кроме того – подчелюстной лимфатический узел.

Для исследования на листериоз направляют головной мозг, долю печени и почку.

При исследовании полутуши и четверти туши берут кусок мышцы, лимфатические узлы и трубчатую кость.

Каждый образец упаковывают отдельно в пергаментную бумагу, ставят дату, место взятия проб, вид животного, номер туши, причину и цель исследования и отправляют в лабораторию.

Бактериоскопический метод − совокупность способов обнаружения и изучения морфологических и тинкториальных свойств бактерий (микробов) в лабораторных условиях. В лабораторной практике используют следующие типы микроскопических препаратов: препарат-отпечаток, висячую каплю, раздавленную каплю, тонкий мазок, фиксированный окрашенный препарат.

Бактериоскопическое исследование мяса проводят в случае расхождения результатов между биохимическими и органолептическими методами оценки. Необходимость в бактериоскопическом исследовании свежести мяса отпадает в случае отрицательного результата при органолептическом анализе.

Из каждой пробы мяса необходимо приготовить не менее двух мазков-отпечатков.

Для приготовления мазка-отпечатка из поверхностного слоя (на глубине 2–3 см) стерильными ножницами или скальпелем вырезают кусочек мяса массой 2–3 г, прикладывают его внутренней срезанной стороной к предварительно профламбированной поверхности предметного стекла.

Для приготовления мазков-отпечатков из глубоких слоев поверхность пробы мяса необходимо сначала простерилизовать (смо-

чить спиртом и обжечь на пламени или прижечь нагретым металлическим шпателем). Затем стерильным инструментом вырезать из глубины небольшие кусочки мяса размером 2×1,5×2,5 см и сделать мазки-отпечатки.

Приготовленные на предметных стеклах мазки-отпечатки необходимо высушить на воздухе, зафиксировать в пламени горелки или спиртовки и окрасить по методу Грама. Каждый мазок-отпечаток просмотреть под микроскопом с иммерсионным объективом не менее чем в 25 разных полях зрения.

При микроскопировании подсчитывают отдельно число клеток бактерий (кокков и палочек) и дрожжей в каждом просмотренном поле зрения, результатом является среднее значение общего количества клеток по двадцати пяти полям зрения. Отмечают также наличие или отсутствие следов распада мышечной ткани в поле зрения микроскопа. Результаты микроскопирования оценивают в соответствии с данными, представленными в табл. 1.1.

Таблица 1.1

Оценка результатов бактериоскопического анализа мяса

Характеристика мяса	Микроскопическая картина
Свежее	Отсутствуют микробные клетки или видны единичные кокки и дрожжи (до 10 клеток); следов распада мышечной ткани нет
С частично измененной свежестью	Не более 30 кокков, дрожжей или палочковидных клеток; заметны следы распада мышечной ткани (ядра мышечных волокон в состоянии распада, исчерченность мышечных волокон слабо различима)
Несвежее	Более 30 микробных клеток с преобладанием палочковидных форм; наблюдается значительный распад мышечной ткани, почти полное исчезновение ядер и исчерченности мышечных волокон

Примечание. При обнаружении в мазках-отпечатках грамположительных палочек с обрубленными концами последние окрашивают 2 %-м раствором сафранина. Наличие в мазках, окрашенных сафранином, палочек или цепочек с капсулами свидетельствует о присутствии возбудителя сибирской язвы.

1.3. Бактериологическое исследование мяса

При отсутствии в мазках-отпечатках бактерий, похожих на сибиреязвенные, из образцов мяса и субпродуктов проводят посевы на питательные среды для выявления в них возбудителей пищевых токсикоинфекций (бактерий родов *Escherichia, Proteus, Salmonella*), возбудителей зооантропонозов (бацилл сибирской язвы, бактерий листериоза, рожи свиней и др.) и анаэробов (патогенных и токсикогенных клостридий).

При бактериологическом исследовании каждую пробу освобождают от жировой и соединительной тканей, погружают в спирт, затем вырезают стерильными ножницами из глубины различных мест кусочки размером 2,0×1,5×2,5 см. Затем все вырезанные кусочки измельчают стерильными ножницами. Для посева составляют пробы по 15 г. Одна проба состоит из кусочков мышц и лимфатических узлов, а другая – из кусочков паренхиматозных органов. Из каждой пробы готовят в стерильной ступке взвесь с содержанием в 1 $см^3$ 0,5 г продукта.

1.3.1. Определение общего количества микроорганизмов (КМАФАнМ)

Общее количество микробов – это количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в 1 г продукта. Метод определения основан на способности мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов размножаться на плотном питательном агаре при температуре 37±1 °С в течение 72 ч. Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения. При исследовании свежего мяса в питательную среду засевают разведения от 10^{-1} до 10^{-3}.

Для посева 0,1 г продукта (разведение 10^{-1}) готовят первое десятикратное разведение взвеси: стерильной пипеткой набирают 1 $см^3$ взвеси, переносят её в пробирку с 9 $см^3$ стерильного физиологического раствора (1 $см^3$ полученного раствора содержит 0,1 г продукта).

Для посева 0,01 г продукта (разведение 10^{-2}) готовят второе десятикратное разведение: стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки с первым разведением, набирают 1 $см^3$ и пере-

носят в пробирку с 9 см^3 стерильного физиологического раствора (1 см^3 полученного раствора содержит 0,01 г продукта).

Для посева 0,001 г продукта (разведение 10^{-3}) готовят третье десятикратное разведение: стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки со вторым разведением, набирают 1 см^3 и переносят в пробирку с 9 см^3 стерильного физиологического раствора (1 см^3 полученного раствора содержит 0,001г продукта).

По 1 см^3 каждого разведения засевают в чашки Петри с заранее маркированной крышкой и заливают 10–15 см^3 расплавленного и остуженного до температуры 40–45 °С мясопептонного агара (МПА). Сразу после заливки агара содержимое чашек Петри тщательно перемешивают путем легкого покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде на 72 ч в термостат с температурой 37 °С.

По окончании культивирования подсчитывают количество выросших на чашках с МПА колоний. При этом используют лупу с увеличением в 4–10 раз или пользуются специальным прибором для подсчета колоний. При большом числе колоний и их равномерном распределении в агаре на дно чашки Петри наносят четыре или более одинаковых секторов, подсчитывают число колоний в двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки.

Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в 1 см^3 свежего мяса (X) вычисляют по формуле

$$X = n \times 10^m ,$$

где n – среднеарифметическое число колоний, подсчитанных на чашках Петри с разными разведениями продукта; m – число десятикратных разведений.

1.3.2. Определение бактерий группы кишечной палочки (БГКП)

В настоящее время к БГКП относят следующие роды из семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*.

БГКП представляют собой мелкие, неспорообразующие палочки, которые располагаются одиночно, грамотрицательные, подвижные – перитрихи (исключение составляют бактерии рода *Klebsiella,* не имеющие жгутиков), не образуют спор и капсул (кроме бактерий рода *Klebsiella,* клетки которых окружены капсулой), факультативные анаэробы. Представители этого семейства имеют каталазу и цитохромы, могут получать энергию как в процессе дыхания, так и в процессе брожения. Осуществляют муравьинокислое брожение с накоплением CO_2 и H_2O и кислот (уксусной, молочной, янтарной).

Метод определения БГКП основан на обнаружении образования газа или кислоты в элективной питательной среде, содержащей лактозу (среды Кесслера, Хейфеца, Кода). Метод учета БГКП получил название бродильного метода, сущность которого заключается в посеве определенного количества продукта или его разведений в жидкую питательную среду с последующим инкубированием при температуре 37 °С и обнаружении в поплавках газа с изменением цвета среды.

При обнаружении газа в пробирках на втором этапе исследования производят пересев материала из забродивших пробирок на среду Эндо. Пересев делается бактериологической петлей густым штрихом для получения изолированной колонии. Чашки Петри с посевами инкубируют при температуре 37 °С в течение 24 ч, затем посевы просматривают. На среде Эндо БГКП вырастают, образуя ярко-красные блестящие колонии с металлическим блеском (или без него).

При отсутствии на среде Эндо характерных для БГКП ярко-красных колоний с металлическим блеском или без него дают отрицательный ответ на наличие кишечных палочек и исследование прекращают. При обнаружении на среде Эндо типичных для БГКП колоний устанавливается принадлежность выросших микроорганизмов к семейству кишечных бактерий. Для этого проводят тест на оксидазу (для БГКП она должна быть отрицательной). Затем из колоний, характерных для кишечных палочек, готовят фиксированный препарат, окрашивают его по Граму и микроскопируют. Под микроскопом должны обнаруживаться мелкие грамотрицательные палочки с закругленными концами. В этом случае ответ на присутствие БГКП в продукте считается положительным.

1.3.3. Обнаружение бактерий рода *Proteus*

Присутствие в свежем мясе бактерий рода *Proteus* в больших количествах свидетельствует о наличии гнилостного разложения мясных белков.

Бактерии рода *Proteus* также входят в семейство *Enterobacteriaceae* и представляют собой полиморфные грамотрицательные палочки размером 0,4–0,8×1–3 мкм. Подвижные за счет перитрихиально расположенных жгутиков. Большинство штаммов обладает способностью к «роению» – распространению в виде однородной пленки по влажной поверхности агаризованной питательной среды. Бактериальная культура *Proteus* имеет специфический гнилостный запах.

Для обнаружения протея в мясе и мясопродуктах проводят посев по Шукевичу: соскоб с поверхности свежего разреза исследуемого образца вносят в конденсационную воду свежескошенного МПА в пробирках, не касаясь поверхности среды. Пробирки в вертикальном положении помещают на 18–24 ч в термостат с температурой 37 °С. Наличие на среде в пробирках вуалеобразного налета, при микроскопировании которого обнаруживают подвижные палочки, отрицательно окрашивающиеся по Граму, указывает на присутствие протея в исследуемых образцах.

Биохимические свойства видов бактерий рода *Proteus* приведены в табл. 1.2.

Таблица 1.2

Биохимические свойства бактерий рода *Proteus*

Вид микроорганизма	Сбраживание углеводов					Разжижение желатина	Выделение H_2S	Образование индола	Расщепление мочевины
	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза				
P. vulgaris	–	кг•	–	кг	кг	+	+	+	+
P. mirabilis	–	кг	–	к	–	+	+	–	+
P. morganii	–	кг	–	–	–	–	+	+	+

• кг – при сбраживании углеводов образуются кислота и газ; к – при сбраживании углеводов образуется кислота.

Следует отметить, что ранее входивший в эту группу вид *Proteus rettgeri* в настоящее время отнесен к роду *Providencia*.

При микробиологическом контроле проводят суммарное определение всех видов бактерий рода *Proteus*.

К общим свойствам бактерий рода *Proteus* относят положительные реакции с метиловым красным и Фогеса–Проскауэра, образование индола и сероводорода, способность расщеплять мочевину и неспособность сбраживать лактозу и маннит.

1.3.4. Выявление бактерий рода *Salmonella*

Бактерии рода *Salmonella* занимают первое место среди микроорганизмов, вызывающих пищевые отравления.

Род *Salmonella* входит в семейство *Enterobacteriaceae*. Сальмонеллы имеют вид мелких грамотрицательных палочек размером 0,7–1,5×2–5 мкм, обычно подвижных за счет перитрихиально расположенных жгутиков. Тип метаболизма – дыхательный и бродильный, они не содержат оксидазы, но имеют каталазу. Характерными признаками сальмонелл являются: положительная реакция с метиловым красным, отрицательная реакция Фогеса–Проскауэра, способность расщеплять цитраты и неспособность образовывать индол.

Для выявления сальмонелл навеску продукта массой 25 г объединенной пробы вносят во флакон, содержащий 100 $см^3$ среды накопления (Кауфмана, Мюллера, Киллиана, хлористо-магниевой «М» или селенитового Ф-бульона), и помещают в термостат для культивирования при температуре 37 °С. На селенитовом Ф-бульоне оптимальная температура для накопления сальмонелл 43±1 °С. Через 16–24 ч делают посев из среды накопления на среду Эндо, Левина, Плоскирева или висмут-сульфитный агар (ВСА) (см. прил. п.п. 1.5–1.8), распределяя материал микробиологическим шпателем по поверхности среды. Посевы культивируют при температуре 37±1 °С в течение 20–24 ч. Сальмонеллы не ферментируют лактозу и дают типичный рост на селективно-дифференциальных средах:

- на среде Эндо сальмонеллы растут в виде круглых бесцветных или слегка розоватых прозрачных или полупрозрачных колоний;
- на среде Левина сальмонеллы образуют прозрачные, бледные, нежно-розовые или розовато-фиолетовые колонии;

• на среде Плоскирева колонии сальмонелл бесцветные, среда при обильном их росте желтеет;

• на висмут-сульфитном агаре сальмонеллы формируют черные или коричневые колонии с характерным металлическим блеском. При этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией.

При обнаружении на чашках подозрительных колоний из части колонии готовят фиксированный препарат, окрашивают по Граму и микроскопируют.

1.3.5. Выявление присутствия в мясе анаэробов

Исследование на анаэробные инфекции проводят на основании микроскопии мазков из мяса или патологического материала на питательные среды. При бактериоскопии мазков-отпечатков, окрашенных метиленовым синим или по Граму, обращают внимание на присутствие палочковидных грамположительных бактерий, наличие у них эндоспор и их расположение в клетке. Обнаружение в препаратах-отпечатках грамположительных толстых палочек с закругленными концами, палочек со спорами, имеющими вид пламени свечи или теннисной ракетки, указывает на возможность присутствия *C. botulinum.*

Для бактериологического исследования берут навеску мяса массой 10 г и растирают ее в ступке, добавляя двойное количество стерильного физиологического раствора для получения взвеси. На одну пробу необходимо четыре пробирки со средой Китта–Тароцци (см. прил., п. 1.1), которые предварительно прогревают (регенерируют) на кипящей водяной бане в течение 20–30 мин и быстро охлаждают до температуры 50 °С. В каждую пробирку засевают по 3–5 $см^3$ приготовленной взвеси, после чего посевы в двух пробирках прогревают при температуре 80 °С в течение 30 мин для уничтожения вегетативной микрофлоры и выявления споровых форм анаэробов, а две другие не прогревают. Посевы помещают в термостат с температурой 37±1 °С на 5–10 сут.

При исследовании на присутствие возбудителей ботулизма типа Е (*Clostridium botulinum*) посев также делают в четыре пробирки со средой Китта–Тароцци, но перед термостатированием одну пробирку подогревают при температуре 80 °С в течение 30 мин, а дру-

гую – при температуре 60 °С в течение 15 мин (при этом сохраняются споры *C. botulinum* типа Е). Две другие пробирки с посевами оставляют непрогретыми. Прогретые пробирки выдерживают в термостате с температурой 28±1 С, а две другие – в термостате с температурой 37±1 °С. Посевы просматривают ежедневно. Рост *C. botulinum* характеризуется газообразованием и помутнением среды. При обнаружении роста производят микроскопию мазков, окрашенных про Граму.

Микробиологические показатели мяса и мясных полуфабрикатов приведены в табл. 1.3.

Таблица 1.3

Микробиологические показатели мяса и мясных полуфабрикатов (ТР ТС 034/2013)

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи и плесени, КОЕ/г
		БГКП	*Proteus*	Сульфит-редуцирующие бактерии	
1. Мясо парное и охлажденное:					
парное в тушах и полутушах	10	1,0	–	–	–
охлажденное в тушах, полутушах, четвертинах, отрубах	1×10^3	0,1	–	–	–
охлажденное в отрубах, упаковаанное под вакуумом или в МГС	1×10^4	0,01	0,1	0,01	Дрожжи не более 1×10^3
2. Мясо замороженное:					
в тушах, полутушах, четвертинах, отрубах	1×10^4	0,01	–	–	
блоки из мяса	5×10^5	0,0001	–	–	
мясо механической обвалки	5×10^6	0,0001	–	–	Плесени не более 500
3. Полуфабрикаты рубленые, фарш (охлажденные, замороженные)					

Задание по теме:

1. Провести бактериоскопический анализ свежего мяса. Сделать заключение о свежести исследованных проб мяса.

2. Провести бактериологический анализ свежего мяса. Сделать посевы на питательные среды для определения общего количества микробов (КМАФАнМ), бактерий группы кишечной палочки (БГКП), бактерий рода *Proteus* по методу Шукевича.

3. Ознакомиться с методами выявления в мясе бактерий родов *Salmonella* и *Clostridium.*

Контрольные вопросы

1. Какие микробиологические методы используют для определения доброкачественности мяса?

2. В каком случае проводят бактериоскопический анализ мяса и мясопродуктов?

3. В чем заключается бактериологический анализ мяса?

4. Какие группы микроорганизмов определяют в свежем мясе?

5. Каков характер роста сальмонелл на средах Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфитном агаре?

6. В каких случаях необходимо проверять в мясе наличие анаэробных бактерий?

ТЕМА 2. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОХЛАЖДЕННОГО, МОРОЖЕНОГО, СОЛЕНОГО МЯСА И РАССОЛОВ

Охлаждение, замораживание и посол – важные технологические операции, призванные сохранить качество мяса и мясопродуктов, придать им требуемые органолептические характеристики. На всех этапах этих технологических операций требуется проверка качества продукта при помощи микробиологического контроля.

2.1. Порядок микробиологического исследования

Охлажденное мясо исследуют на общую микробную обсемененность, присутствие патогенных микроорганизмов, бактерий группы кишечных палочек, сальмонелл, стафилококков, сульфитредуци-

рующих клостридий, бактерий рода *Proteus*. Методика исследования аналогична методике микробиологического исследования свежего мяса.

Отбор проб. Для микробиологического исследования охлажденного и мороженого мяса отбирают образцы проб аналогично исследованию свежего мяса. Образцы соленого мяса отбирают в количестве 400 г. Рассол отбирают в стерильные колбы вместимостью не менее 500 $см^3$.

На поверхности охлажденного мяса обычно доминируют психрофильные микроорганизмы рода *Pseudomonas* и др. Они составляют около половины общего количества выявленных в мясе бактерий. Это мелкие, подвижные, спор и капсул не образующие грамотрицательные палочки. В охлажденном мясе не должны содержаться патогенные микроорганизмы, в том числе: сальмонеллы − в 25 г продукта, БГКП − в 0,1 г, бактерии рода *Proteus* − в 0,01 г.

В мороженом мясе имеется незначительное количество микроорганизмов, так как часть неспорообразующих бактерий отмирает при низкой температуре (от –23 до –25 °С). В процессе хранения мороженого мяса при температуре выше –10 °С могут развиваться отдельные виды плесневых грибов родов *Cladosporium* и *Thamnidium*, а также некоторые виды дрожжей, которые вызывают порчу продукта. При температуре хранения около –5 °С способны развиваться плесневые грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*.

Контроль содержания в мясе плесневых грибов и дрожжей проводится по общепринятым методикам, изученным в курсе общей микробиологии.

В процессе посола мяса изменяется количественный и видовой состав микрофлоры рассола и мясопродуктов. Качественный рассол содержит большое количество различных микроорганизмов. В результате размножения микробов, приспособленных к условиям посола, общее количество микроорганизмов в рассоле в конце посола возрастает в десятки раз.

В соленом мясе (солонине) могут развиваться солеустойчивые (или *галофильные*) микроорганизмы. Обычно хлорид натрия действует на многие бактерии как консервант. При 12–15 %-й концентрации поваренной соли в среде способны размножаться лишь галофилы, которые могут вызывать порчу продукта. Галофилами являются многие виды плесеней, некоторые дрожжи, многие пигментообразующие палочковидные бактерии.

Солеустойчивые микроорганизмы способны расти в средах с концентрацией соли 6–8 % и сохранять жизнеспособность в средах с высоким содержанием соли (20 % и более).

В доброкачественной солонине и рассолах преобладают солеустойчивые молочнокислые бактерии, микрококки и некоторые виды грамотрицательных бактерий.

В доброкачественном рассоле не должны содержаться БГКП более чем в 50 $см^3$, в заливочных рассолах после прогревания при 100 °С в течение 5 мин БГКП не должны содержаться в 500 $см^3$, споры анаэробных клостридий и аэробных бацилл − в 50 $см^3$.

2.2. Определение влияния концентрации хлорида натрия на бактерии

В четыре пробирки со средой МПБ, содержащие 10, 15, 20 % NaCl и без него (контроль), вносят прокаленной бактериологической иглой по кусочку соленого мяса величиной со спичечную головку. Пробирки надписывают и помещают в термостат с температурой 25–30 °С на 24–48 ч.

По окончании термостатирования анализируют посевы (изменения, произошедшие с питательной средой, форму клеток и наличие спор). Степень мутности среды оценивают, пользуясь условными обозначениями: (–) – отсутствие роста; (+) – слабый рост; (++) – умеренный рост; (+++) – обильный рост. Для рассмотрения морфологии выросших бактерий из суспензии готовят фиксированные препараты, окрашивают их метиленовым синим и микроскопируют.

Задание по теме:

1. Определить влияние концентрации поваренной соли в среде на бактерии.

2. Провести микробиологический анализ соленого пищевого сырья. Сделать посевы на питательные среды из образцов мяса и рассола для выявления БГКП и КМАФАнМ.

3. Изучить культуральные и морфологические свойства выросших на питательных средах колоний микроорганизмов. Описать выросшие колонии, приготовить из них фиксированные препараты, окрасить по методу Грама, зарисовать микрокартину. Сделать выводы о доброкачественности исследованных образцов.

Контрольные вопросы

1. По каким микробиологическим показателям оценивают доброкачественность охлажденного, мороженого и соленого мяса?

2. Какие микроорганизмы способны размножаться в охлажденном, а какие в соленом мясе?

3. Какой рассол является доброкачественным?

ТЕМА 3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Колбасные изделия являются достаточно благоприятной средой для развития микроорганизмов различных групп, вызывающих их порчу. К ним относятся молочнокислые термофильные бактерии, протеолитические и липолитические бактерии, мицелиальные грибы и др.

Микробиологический контроль колбасных изделий проводят:

- периодически для проверки соблюдения санитарного и технологического режимов производства, но не реже одного раза в 10 дней;
- по требованию контролирующих организаций;
- в случаях установления использования подозрительного по доброкачественности сырья и вспомогательных материалов;
- нарушения температурного или санитарно-гигиенического режима производства.

Периодические исследования по предупредительному контролю соблюдения санитарного и технологического режимов колбасного производства проводят в следующие сроки:

- для колбас фаршированных, ливерных, кровяных высшего, I и II сортов, зельцев высшего, I и II сортов – не реже одного раза в 15 дней;
- для колбас вареных высшего, I и II сортов, мясных хлебов, сосисок, сарделек – не реже одного раза в 15 дней;
- для колбас ливерных и кровяных III сорта, зельцев III сорта, студней и паштетов – не реже одного раза в 5 дней;
- для колбас полукопченых, варено-копченых и сырокопченых – не реже одного раза в месяц;

• для продуктов из свинины, говядины, баранины, мяса птицы и других видов убойных животных: вареных, запеченных, жареных – не реже одного раза в 15 дней; копчено-вареных, копчено-запеченных, сырокопченых – не реже одного раза в месяц.

Стойкость колбасных изделий при хранении неодинакова и зависит от ряда факторов: содержания поваренной соли, величины pH, степени обезвоживания, консистенции, химического состава фарша и коптильных компонентов.

Наиболее устойчивы при хранении сырокопченые и сыровяленые колбасные изделия, так как они имеют твердую консистенцию и наибольшую концентрацию поваренной соли, активность воды в них минимальна.

При неправильном хранении остаточная микрофлора колбасных изделий быстро размножается. Многочисленные микробы вызывают порчу колбасных изделий: гниение, прогорклость, кислое брожение, плесневение.

Бактериологическое исследование колбасных изделий включает в себя определение общего количества микробов в 1 г продукта (КМАФАнМ) (в сырокопченых колбасах не определяют), выявление бактерий родов *Escherichia, Salmonella, Proteus,* а также коагулазоположительных стафилококков и сульфитредуцирующих анаэробов.

3.1. Отбор и подготовка проб

Пробы для микробиологического исследования отбирают согласно нормативной документации от каждой партии (одного вида, сорта, наименования, выработанных в одной смене и др.).

Пробы хранят при температуре от 4 до 6 °С не более 4 ч с момента отбора.

Для микробиологического исследования составляют объединенную пробу массой 50 г. Объединенную пробу готовят следующим образом: отобранные для исследования изделия помещают в эмалированный тазик, который протирают тампоном, смоченным спиртом, и обжигают над пламенем. Батоны разрезают стерильным скальпелем на две половины, не рассекая оболочки противоположной стороны батона. Пробу отбирают из нескольких участков центральной части и из-под оболочки обеих половин батона.

Из объединенной пробы каждого образца берут в стерильную посуду навеску массой 20±0,1 г, которую помещают в стерильный стакан гомогенизатора, добавляют 80 $см^3$ стерильного физиологического раствора и гомогенизируют. При отсутствии гомогенизатора для приготовления взвеси используют стерильную ступку, растирая 20 г продукта с 2–3 г стерильного песка, постепенно приливая 80 $см^3$ стерильного физиологического раствора.

Взвесь отстаивают при комнатной температуре в течение 15 мин. В 1 $см^3$ приготовленной взвеси содержится 0,2 г исследуемого продукта.

3.2. Определение КМАФАнМ

Навеску исследуемого продукта (масса 10 г) помещают в стерильную фарфоровую ступку и тщательно растирают стерильным пестиком, постепенно приливая 90 $см^3$ стерильного физиологического раствора с учетом разведения материала в соотношении 1:10. После отстаивания при комнатной температуре в течение 15 мин 1 $см^3$ приготовленной взвеси высевают на питательные среды.

Определение общего количества микробов (КМАФАнМ), титра БГКП, выявление бактерий родов *Salmonella* и *Proteus* проводятся по методике, приведенной в разделе 1.3.

3.3. Выявление коагулазоположительных стафилококков

Из первого разведения колбасных изделий делают посев по методу Дригальского на желточно-солевой агар (ЖСА), содержащий 6,5 % NaCl, для выявления лецитиназной активности коагулазоположительных стафилококков. Посевы термостатируют при температуре 37 °С в течение 24 ч. Колонии токсикогенных стафилококков образуют на среде ЖСА «радужный венчик». Из подозрительных колоний готовят мазки и окрашивают их по Граму. Для подтверждения патогенности стафилококков ставят реакцию плазмокоагуляции.

Наличие грамположительных стафилококков, давших положительную реакцию плазмокоагуляции и реакцию на лецитиназу, свидетельствует о присутствии токсикогенных стафилококков.

3.4. Выявление сульфитредуцирующих клостридий

Сульфитредуцирующие клостридии широко распространены в природе, часто обнаруживаются в кишечнике человека и животных. Некоторые штаммы сульфитредуцирующих клостридий (в частности, *Clostridium perfringens*) могут вызвать у человека кишечные заболевания, характеризующиеся как пищевые токсикоинфекции, механизм действия которых обусловлен наличием у этих микроорганизмов энтеротоксинов.

Clostridium perfringens – грамположительные палочки, располагающиеся поодиночке, попарно или в виде цепочки, неподвижные, *in vivo* образуют капсулу. Эндоспоры овальные, расположены центрально, субтерминально или на конце клетки. На плотных средах формирует S- и R-колонии; S-колонии круглые, гладкие, с ровными краями, в начале роста напоминающие капли росы; R-колонии неправильной формы, бугристые, с шероховатыми неровными краями, в глубине агара напоминающие комки ваты.

Определение этой группы бактерий основано на учете специфического роста клостридий в средах, содержащих железа сульфит. При взаимодействии натрия сульфита с железа хлоридом образуется железа сульфат, вызывающий почернение среды (рис. 3.1).

Выявление вегетативных клеток сульфитредуцирующих клостридий в мясных продуктах включает два этапа:

- обнаружение сульфитредуцирующей способности микроорганизмов;
- определение принадлежности выделенных микроорганизмов к клостридиям.

Сульфитредуцирующую способность микроорганизмов определяют путем посева исследуемого продукта на среду Вильсона–Блера или железосульфитную. Если после инкубации чашек Петри на среде выросли темно-серые или черные колонии, вызвавшие почернение среды, их исследуют на принадлежность к клостридиям. Для этого материал из колоний пересевают в пробирки со средой Китта–Тароцци, инкубируют при температуре 37 °С в течение 24–72 ч. При наличии помутнения среды и выделения газа берут культуру со дна пробирки, готовят микроскопические препараты, окрашивают их по Граму и выявляют наличие спор, определяют каталазную активность. Сульфитредуцирующие клостридии не образуют каталазы.

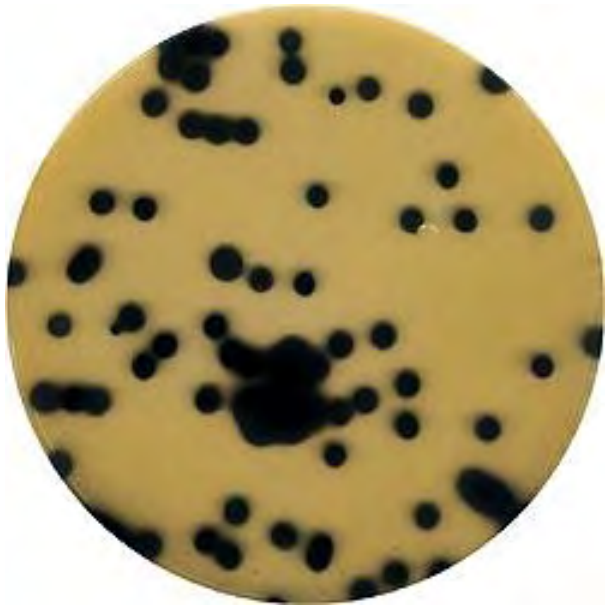


Рис. 3.1. Колонии сульфитредуцирующих клостридий
на железосульфитной среде

Для выявления сульфитредуцирующих клостридий в пробирки, содержащие по 9 $см^3$ расплавленной и охлажденной до 45 °С среды Вильсона–Блера, вносят по 1 $см^3$ десятикратных разведений (от 10^{-1} до 10^{-7}) взвеси исследуемого продукта. Тщательно перемешивают посевной материал, помещают в термостат и культивируют при температуре 46 °С в течение 8–12 ч или при температуре 37 °С в течение 20 ч. Появление на среде черных колоний или почернение среды свидетельствует о присутствии в исследуемом продукте сульфитредуцирующих клостридий.

За положительный титр клостридий принимают то максимальное количество взвеси, в посеве которой произошло почернение среды. Например, если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10^{-2}, то считают, что в 1 г исследуемого продукта содержится 1×10^2 микробных клеток.

В случае отсутствия роста на элективных средах и при наличии роста на средах обогащения посевы из этих сред пересевают в чашки Петри со средой Эндо и инкубируют в термостате с температурой 37 °С в течение 24 ч. В дальнейшем исследование проводят по методике бактериологического исследования мяса.

В табл. 3.1. приведены микробиологические показатели колбасных изделий.

Таблица 3.1

Микробиологические показатели колбасных изделий (ТР ТС 034/2013)

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются				Дрожжи и плесени, КОЕ/г
		БГКП (колиформы)	Сульфитредуцирующие клостридии	*S. aureus*	*E. coli*	
Колбасные изделия сырокопченые, сыровяленые	–	0,1	0,01	1,0	1,0	–
Колбасные изделия полукопченые и варено-копченые	–	1,0	0,01	1,0	–	–
Колбасные изделия для детского питания	1×10^3	1,0	0,1	1,0	1,0	Др.* – 100 Пл.* – 100
Колбасные изделия вареные	$2{,}5\times10^3$	1,0	1,1	1,0	–	

* Др. – дрожжи; * Пл. – плесени.

Задание по теме:

1. Ознакомиться с методами отбора проб колбасных изделий для проведения бактериологического исследования.

2. Провести определение КМАФАнМ и БГКП в колбасных изделиях.

3. Изучить культуральные и морфологические свойства микроорганизмов, выросших на питательных средах. Описать колонии

микроорганизмов, приготовить фиксированные препараты, окрасить их по методу Грама, зарисовать микрокартину.

4. Сделать вывод о доброкачественности исследованных колбасных изделий.

Контрольные вопросы

1. От чего зависит стойкость колбасных изделий при хранении?
2. Как готовят объединенную пробу для микробиологического исследования колбасных изделий?
3. По каким критериям оценивают микробиологическую безопасность колбасных изделий?
4. По каким признакам определяют присутствие в колбасных изделиях сульфитредуцирующих бактерий?
5. Что такое титр БГКП, положительный титр клостридий?
6. Какие признаки характерны для коагулазоположительных стафилококков?

ТЕМА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПОРЧИ МЯСА, МЯСНЫХ И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Порча мясных и молочных продуктов обусловлена развитием в них различных групп микроорганизмов. Порчу продуктов животного происхождения и птицепродуктов вызывают гнилостные, молочнокислые бактерии, микрококки, энтерококки, дрожжи, мицелиальные грибы, актиномицеты, а также возбудители некоторых видов брожений (маслянокислые, уксуснокислые и другие бактерии). Существует несколько форм микробной порчи мяса, из которых наиболее распространенной является гниение. Гниение бывает внутренним и поверхностным. Внутреннее вызывается облигатными и факультативными анаэробами, оно начинается в местах скопления соединительной ткани больших кровеносных сосудов. Поверхностное гниение встречается чаще, чем внутреннее, и вызывается развитием аэробных микроорганизмов.

4.1. Гнилостные бактерии

К основным возбудителям порчи продуктов животного происхождения относят *гнилостные (протеолитические)* бактерии. Эти бактерии вызывают гниение мяса, колбасных изделий, молока и молочных продуктов, рыбы и рыбных продуктов, яиц и яйцепродуктов.

Из составных частей мяса гниению наиболее подвержены мышечная ткань и субпродукты. Соединительная, жировая, костная ткани содержат мало белка и в меньшей степени подвергаются этому процессу.

Гнилостные бактерии (благодаря наличию активных протеаз) расщепляют белки на полипептиды, пептиды, пептоны и аминокислоты. При расщеплении аминокислот образуются органические кислоты, альдегиды, кетоны, амины, аммиак, сероводород, диоксид углерода, индол, скатол, меркаптан и другие вещества. Некоторые из образующихся при гниении веществ придают продуктам неприятный вкус и запах, а многие из них весьма ядовиты.

Между различными видами гнилостных бактерий существуют взаимоотношения по типу метабиоза (смена одних видов другими). На начальных стадиях гниения на поверхности мяса размножаются шаровидные формы бактерий. Затем их сменяют аэробные палочковидные бактерии, а в последующем – анаэробные бактерии.

Гнилостные бактерии по морфологическим и биохимическим признакам делят на четыре группы: *спорообразующие аэробы*; *спорообразующие анаэробы*; *неспорообразующие факультативные анаэробы*; *неспорообразующие аэробы.*

Характеристика наиболее распространенных гнилостных бактерий представлена в табл. 4.1, а их микроскопическая картина – на рис. 4.1–4.7.

Способностью расщеплять белки обладают также энтерококки, микрококки, мицелиальные грибы, дрожжи и актиномицеты. Характеристика этих микроорганизмов рассматривалась в курсе общей микробиологии.

Таблица 4.1

Характеристика гнилостных бактерий

Группы микро-организмов	Признаки				
	Форма и располо-жение клеток	Отно-шение к окраске по Граму	Спорооб-разование	Под-виж-ность	Культу-ральные признаки
Спорообразующие аэробы					
B. subtilis (сенная палочка)	Крупные одиночные палочки и цепочки	+	Споры эллипти-ческие, распо-лагаются центрально	+	На МПБ: формируют поверхност-ную морщини-стую белова-тую пленку
B. licheniformis (картофельная палочка)	Крупные одиночные палочки и цепочки	+	Споры эллипти-ческие, распо-лагаются центрально	+	На МПБ: об-разуют пленки, хлопье-видный оса-док, вызы-вают помут-нение среды
B. megatherium (капустная палочка)	Крупные одиночные палочки и цепочки	+	Споры эллипти-ческие, распо-лагаются центрально	+	На МПБ: об-разуют пленки, хлопье-видный оса-док, вызы-вают помут-нение среды
B. mycoides (грибовидная палочка)	Крупные одиночные палочки и цепочки	+	Споры эллипти-ческие, распо-лагаются центрально	+	на МПБ: образуют поверхност-ную пленку беловатого цвета
B. cereus	Крупные одиночные палочки и цепочки	+	Споры эллипти-ческие, распо-лагаются центрально	+	На МПБ: образуют незначител-ьный осадок, поднимаю-щийся при встряхивании пробирки

Окончание табл. 4.1

Группы микро-организмов	Признаки				
	Форма и располо-жение клеток	Отно-шение к окраске по Граму	Спорооб-разование	Под-виж-ность	Культу-ральные признаки
Неспорообразующие аэробы					
Род *Pseudomonas*: *Ps. fluorescens* (флюоресцирующая палочка), *Ps. aeruginosa* (синегнойная палочка) *Serratia marcescens* (чудесная палочка)	Мелкие одиночные палочки	– – –	–	+ + +	Вызывают помутнение сред с образованием пигмента: зеленовато-желтого, сине-зеленого или красного
Спорообразующие анаэробы					
Род *Clostridium:* *C. putrificum,* *C. sporogenes,* *C. perfringens*	Крупные одиночные палочки и цепочки	+ + +	Споры расположе-ны субтер-минально, имеют вид ракеток или лодочек	+ + +	Вызывают помутнение МПБ, на агаре образуют округ-лые мелкие колонии с зоной гемолиза
Неспорообразующие факультативные анаэробы					
Род *Proteus*	Мелкие палочки, иногда нитевидные	–	–	+	На МПА: ползучий рост в виде вуалеобраз-ного налета
Род *Echerichia*	Мелкие одиночные палочки	–	–	+	На МПА: серые, сред-них разме-ров круглые колонии

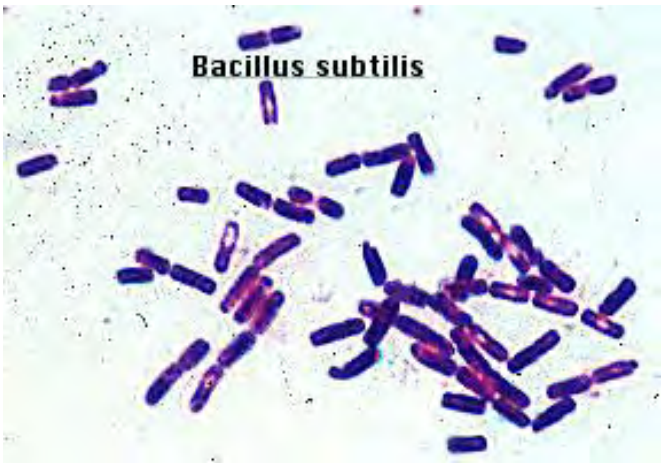


Рис. 4.1. Микроскопический препарат *Bacillus subtilis*

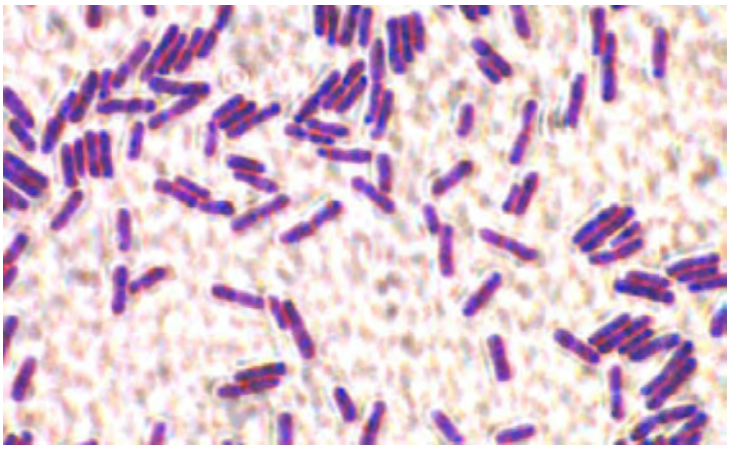


Рис. 4.2. Микроскопический препарат *Bacillus licheniformis*

Рис. 4.3. Микроскопический препарат *Bacillus cereus*

Рис. 4.4. Микроскопический препарат *Pseudomonas fluorescens*

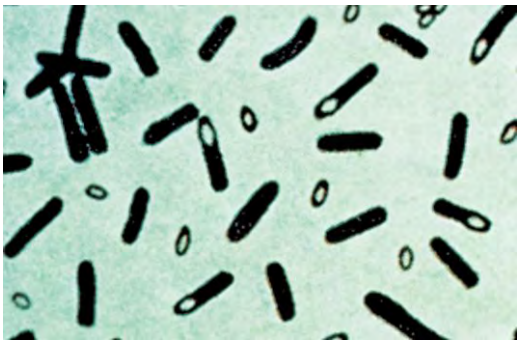


Рис. 4.5. *Clostridium sporogenes*

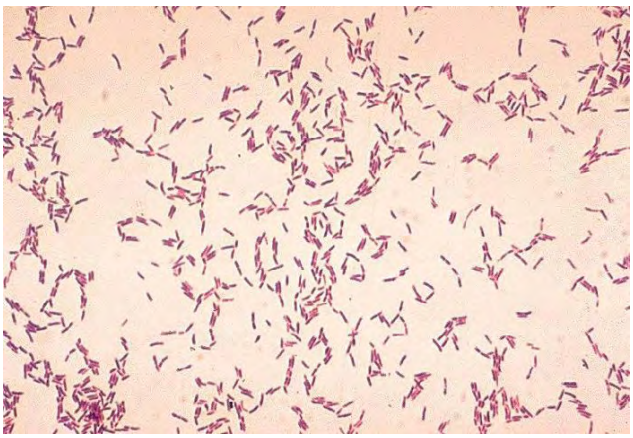


Рис. 4.6. Микроскопический препарат *Proteus vulgaris*

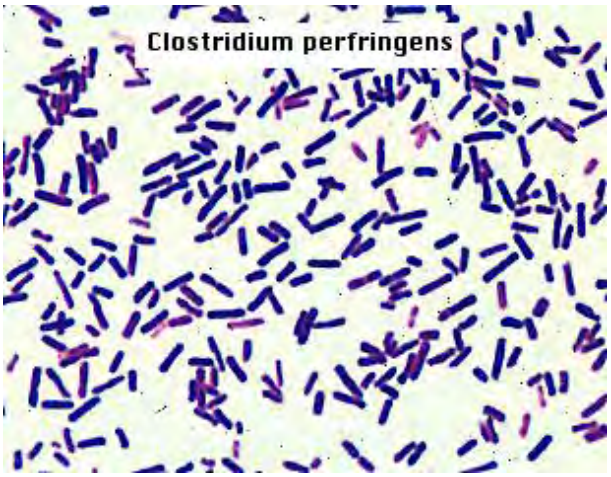


Рис. 4.**7.** *Clostridium perfringens*

Гнилостные бактерии очень широко распространены в природе. Они встречаются в почве, воде, воздухе, кишечнике человека и животных, в пищевых продуктах.

4.2. Молочнокислые бактерии

Молочнокислые бактерии (МКБ) размножаются на свежем мясе крупного рогатого скота и птицы при упаковке его под вакуумом или в модифицированной газовой среде (МГС-упаковка). Для размножения МКБ в мясе весьма важным является потребление ими сахаров. Относительно мяса самыми специфичными являются как облигатно гетероферментативные МКБ родов *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium*, так и факультативно гомоферментативные, в частности *Lactobacillus sakei* (рис. 4.8), *L. curvatus*. Численность облигатно гомоферментативных МКБ значительно меньше, и они редко доминируют в сообществах микроорганизмов порчи. Облигатно гетероферментативные МКБ продуцируют из глюкозы лактат, этанол или ацетат и диоксид углерода. Факультативно гомоферментативные МКБ из глюкозы продуцируют две молекулы лактата, а из пентозы (например, рибозы) – лактат, ацетат и диоксид углерода.

При хранении свежего мяса в вакуумной или МГС-упаковке МКБ снижают его pH. Первым признаком порчи мяса в результате жизнедеятельности МКБ является нетипичный посторонний запах – кислый, кисловатый, сырный. Дальнейшее развитие порчи приводит к образованию газа и выделению слизи внутри упаковки. Позелене-

ние поверхности мясных изделий связано с продуцированием молочнокислыми бактериями пероксида водорода, который с миоглобином образует зеленоватый окисленный порфирин. За позеленение мясных рулетов, сосисок в вакуумной упаковке чаще всего ответственными являются МКБ вида *Weissella viridescens*. Легкое позеленение могут вызывать некоторые штаммы *Lactobacillus sakei*, продуцирующие сероводород, который образует с мышечным пигментом сульфмиоглобин.

Рис. 4.8. Микроскопический препарат *Lactobacillus sakei*

Среди микробиоты охлажденного мяса встречаются психротрофные МКБ, специфичные для мяса убойных животных и мяса птицы. К ним относятся *L. sakei*, *Leuc. carnosum* и *Leuconostoc gelidum* (рис. 4.9).

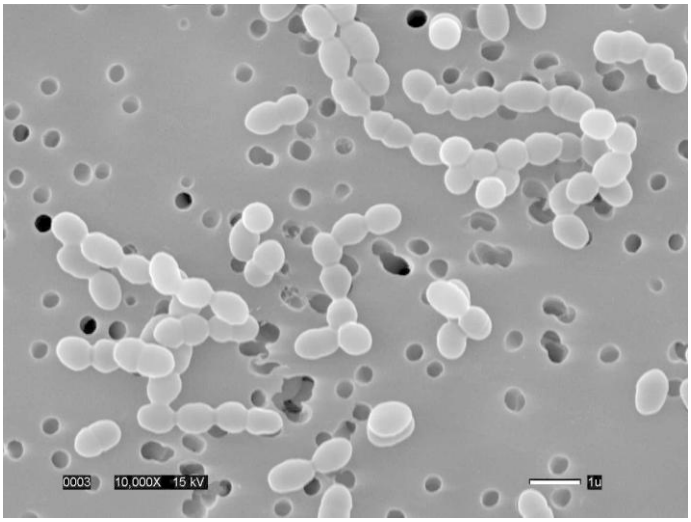


Рис. 4.9. Микроскопический препарат *Leuconostoc gelidum*

Численность этих кислототолерантных бактерий во время анаэробного холодильного хранения мяса увеличивается, и они становятся доминирующими. Для свежего мяса и особенно мяса птицы высокоспецифичными являются МКБ видов *Carnobacterium piscicola* и *Carn. divergensis*.

Происходит порча мяса ферментационного типа, что проявляется появлением кислого запаха, обусловленного накоплением молочной, уксусной и других органических кислот. Этот вид порчи может сопровождаться образованием газа, выделением слизи внутри упаковки и обесцвечиванием мяса при вскрытии упаковки.

4.3. Маслянокислые бактерии

Маслянокислые бактерии относят к роду *Clostridium*. За последние годы описано много новых видов, число которых в роде возросло до 100.

Clostridium butyricum – крупные палочки с закругленными, иногда заостренными концами размером 0,3–2,0×1,5–20,0 мкм, располагаются парами или короткими цепочками (рис. 4.10). Отличительной особенностью этих бактерий является способность накапливать в клетках перед спорообразованием крахмалоподобное вещество – гранулезу, которое окрашивается йодом в синий цвет. По Граму они окрашиваются положительно, подвижны за счет перитрихиально расположенных жгутиков. Образуют овальные или сферические эндоспоры, диаметр которых обычно превышает диаметр клетки.

Маслянокислые бактерии являются облигатными анаэробами. Большинство видов хемоорганотрофные, некоторые могут быть хемоавтотрофными или хемолитотрофными. По отношению к температуре − мезофилы. Споры маслянокислых бактерий термоустойчивы и выдерживают кипячение в течение нескольких минут.

Маслянокислые бактерии – возбудители маслянокислого брожения, в результате которого образуются масляная, уксусная, молочная, пропионовая и муравьиная кислоты, этиловый, бутиловый, пропиловый спирты, а также газообразные продукты – водород и диоксид углерода.

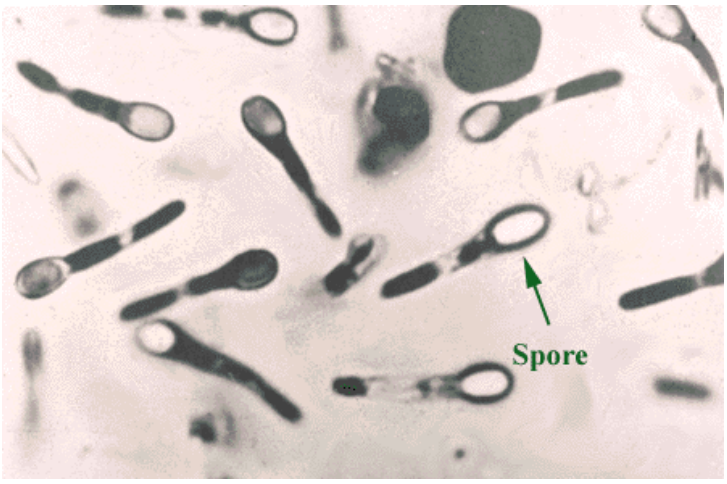


Рис. 4.10. Бактерии вида *Clostridium butyricum*

На мясе и мясопродуктах чаще других встречаются *Clostridium pasteurianum* и *C. butyricum*. Особенностями развития этих микроорганизмов являются бурное газообразование и неприятный запах масляной кислоты. Маслянокислые бактерии вызывают порчу различных мясных и молочных продуктов при их длительном хранении. При размножении бактерий в консервах возникает порок «бомбаж». В молочной промышленности они являются возбудителями порока сыров «позднее вспучивание».

4.4. Дрожжи

Дрожжи обычно составляют незначительную часть микробиоты молочных, мясных и птицепродуктов и, как правило, редко приводят к их порче. Это связано с тем, что дрожжи характеризуются низкой скоростью размножения, поэтому их жизнедеятельность быстро подавляется психротрофными бактериями. Дрожжи могут вызвать порчу лишь в том случае, если размножение бактерий будет подавлено действием таких факторов, как низкая активность воды, низкое значение pH, высокое содержание соли, присутствие химических консервантов или антибиотиков. Многие виды дрожжей более устойчивы к этим факторам, при этом среди них встречаются и виды, способные размножаться при пониженных температурах. Психротрофные виды и штаммы выявлены как среди аспорогенных дрожжей родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Torulaspora*, *Trichosporon*, так и среди аскоспорогенных дрожжей родов *Debaryomyces*, *Yarrowia*

и *Pichia.* Вместе с тем для оптимального развития дрожжам необходим кислород, поэтому они неспособны размножаться при хранении мяса в вакуумной или МГС-упаковке, но их численность возрастает при холодильном хранении с доступом воздуха.

Дрожжевая порча проявляется в выделении слизи на поверхности мяса, образовании постороннего запаха и появлении пигментных пятен вследствие образования колоний (розовых, красных, черных).

Наиболее часто в мясе и птице встречаются дрожжи видов *Candida famata* (рис. 4.11), *Kluyveromyces marxianus* (рис. 4.12). При низких температурах (–3… –5 °С) могут размножаться и так называемые «черные дрожжи» – *Monilia nigra* (рис. 4.13).

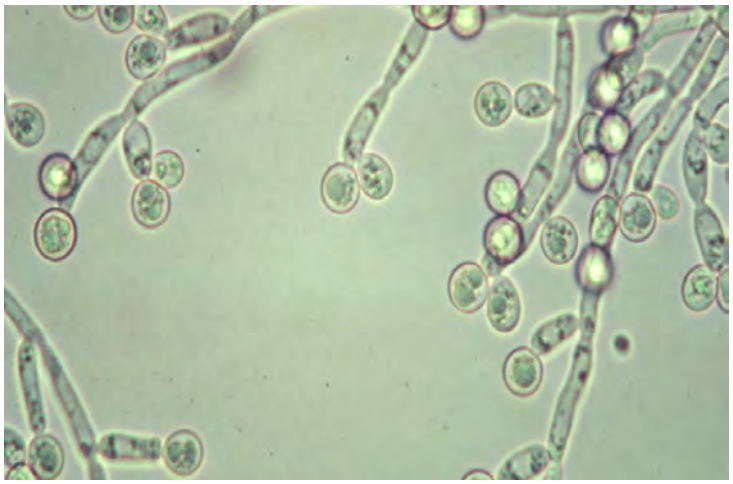


Рис. 4.11. Дрожжи вида *Candida famata*

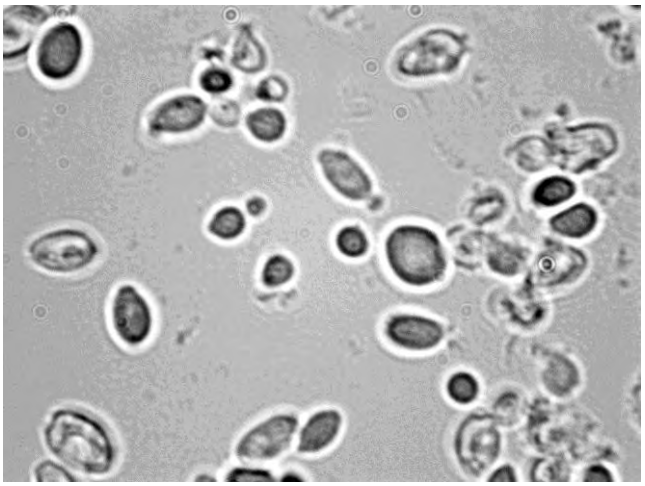


Рис. 4.12. Дрожжи вида *Kluyveromyces marxianus*

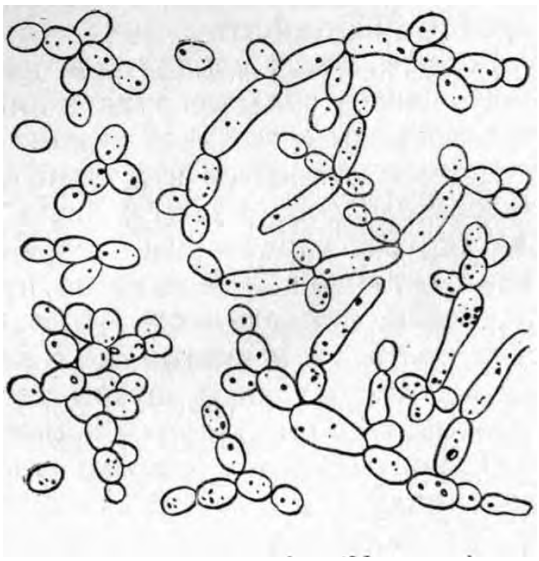


Рис. 4.13. Дрожжи вида *Monilia nigra*

В молочной промышленности дрожжи играют двоякую роль: одни виды принимают участие в производстве ферментированных молочных продуктов в качестве биологических агентов, вызывающих спиртовое брожение, другие виды способствуют порче молочных продуктов.

Дрожжи, присутствующие в молочных продуктах, условно подразделяют на три группы:

- Дрожжи, сбраживающие молочный сахар лактозу. К ним относятся спорогенные (спорообразующие) дрожжи видов *Saccharomyces lactis*, *Zygosaccharomyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Debaryomyces* и аспорогенные (неспорообразующие) дрожжи видов *Torulopsis kefir*, *Torulopsis sphaerica*, *Candida pseudotropicalis var. lactosa* и др.
- Дрожжи, не сбраживающие лактозу, но ферментирующие моносахара. Такие дрожжи могут размножаться в молоке и молочных продуктах совместно с молочнокислыми бактериями, расщепляющими лактозу на глюкозу и галактозу.
- Дрожжи, не ферментирующие лактозу и другие сахара, но вызывающие их окисление. Они не образуют спор и неспособны к спиртовому брожению. К ним, в первую очередь, относятся дрожжи рода *Candida.*

Лактозосбраживающие дрожжи используют в производстве таких продуктов смешанного брожения, как кумыс, тан, айран, мацони, курунга и др. В этих продуктах они формируют специфический вкус, синтезируют витамины, стимулируют рост молочнокислых бактерий.

Некоторые штаммы дрожжей, размножающихся в молочных продуктах, обладают антагонистической активностью по отношению к возбудителю туберкулеза, а также к некоторым условно патогенным микроорганизмам.

Отдельные виды дрожжей участвуют в созревании сыров, находясь в составе микрофлоры сырной слизи.

Дрожжи, попадающие в молочные продукты из внешних источников (так называемые «дикие дрожжи»), могут стать причиной следующих видов порчи:

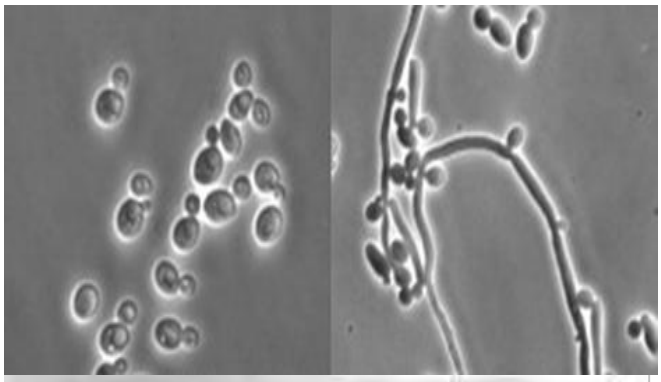
1. Пигментация – появление цветных колоний на поверхности мяса, масла, сыра, творога. Образовывать колонии розового, желтого, черного цвета способны дрожжи рода *Rodotorula* (рис. 4.14).

Рис. 4.14. Дрожжи рода *Rodotorula*

2. Вспучивание творога, сметаны, йогурта, а также сыров на ранней стадии их созревания. Такой вид порчи обусловлен образованием диоксида углерода при спиртовом брожении, вызываемом дрожжами.

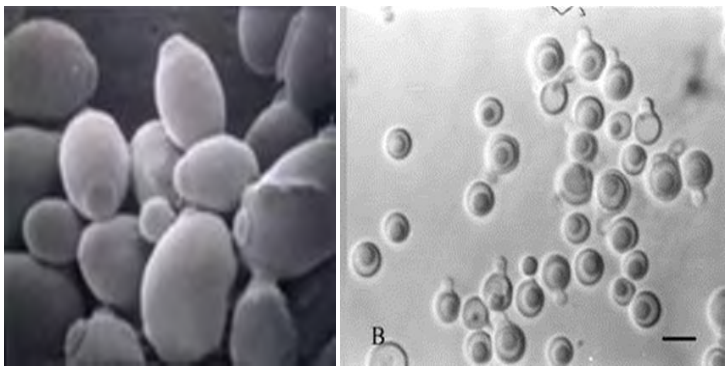
Среди дрожжей, вызывающих порчу йогурта, выделены виды: *Torulopsis candida*, *Kluyveromyces fragilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida crusei*, *Saccharomyces cerevisiae* (рис. 4.15).

а



б

в



г

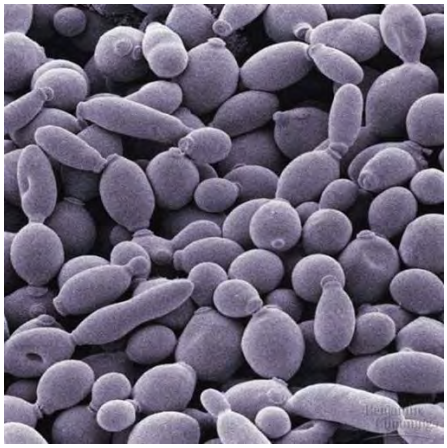


Рис. 4.15. Дрожжи, вызывающие порчу йогурта:
а – *Torulopsis candida*; б – *Kluyveromyces fragilis*;
в – *Candida crusei*; г – *Saccharomyces cerevisiae*

3. Бомбаж сгущенного молока с сахаром вызывают дрожжи, сбраживающие сахарозу.

4. Прогоркание, осаливание, появление неприятного запаха в жиросодержащих продуктах при их холодильном хранении вызывают дрожжи *Yarrowia lipolytica* (рис. 4.16), обладающие липолитической активностью.

Рис. 4.16. Дрожжи *Yarrowia lipolytica*

4.5. Мицелиальные грибы

Развитие плесеней на пищевых продуктах зависит от четырех важнейших факторов: наличия доступных питательных веществ, температуры, значений активной кислотности (pH) и активности воды (a_w), при этом следует учитывать взаимодействие между перечисленными физико-химическими факторами.

Известно, что оптимальная температура роста грибов рода *Aspergillus* находится в диапазоне 25–30 °С, для грибов рода *Penicillium* – в пределах 20 °С. При низких температурах рост мицелиальных грибов обычно подавляется, но существует достаточно большое их число, способных размножаться в условиях холодильного хранения пищевых продуктов при температурах от +5 до –10 ºС. Установлено, что минимальная температура роста плесени *Thamnidium elegans* составляет (– 8…– 10) ºС (рис. 4.17), плесень вида *Cladosporium herbarum* (рис. 4.18) может расти в диапазоне температур (– 5…– 8) ºС.

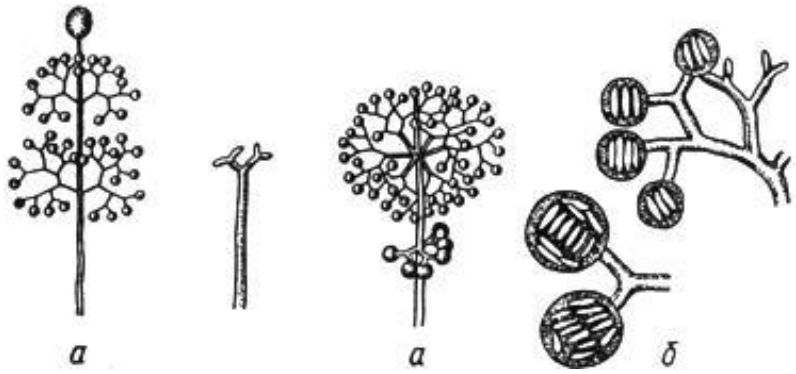


Рис. 4.17. Мицелиальный гриб *Thamnidium elegans*:
а – общий вид; б – спорангиоли

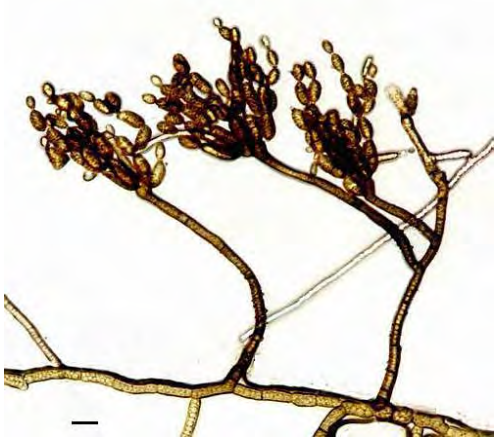


Рис. 4.18. Плесень *Cladosporium herbarum*

При температуре хранения мяса минус 5 °С колонии *Cladosporium herbarum* появляются на 10–19-й день. Этот гриб может расти в глубинных слоях сливочного масла при наличии пустот в монолите, на поверхности сыра образует колонии в виде темных пятен. Обладая высокой протеолитической активностью, *Cladosporium herbarum* не только портит внешний вид продукта, но и вызывает в нем расщепление белка.

Плесень вида *Mucor racemosus* (рис. 4.19) относится к низшим грибам класса зигомицетов. Мукоровые грибы широко распространены в верхнем слое почвы и хорошо размножаются на пищевых продуктах. *Mucor racemosus* может расти на поверхности продуктов при минимальной температуре минус 4 °С.

Гриб *Sporotrichum caris* (рис. 4.20) относится к классу высших несовершенных грибов дейтеромицетов. Минимальная температура роста этого гриба минус 8 °С.

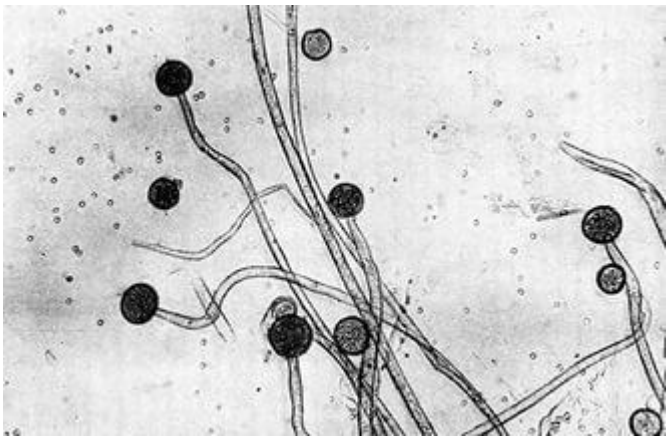


Рис. 4.19. Мицелиальный гриб *Mucor racemosus*

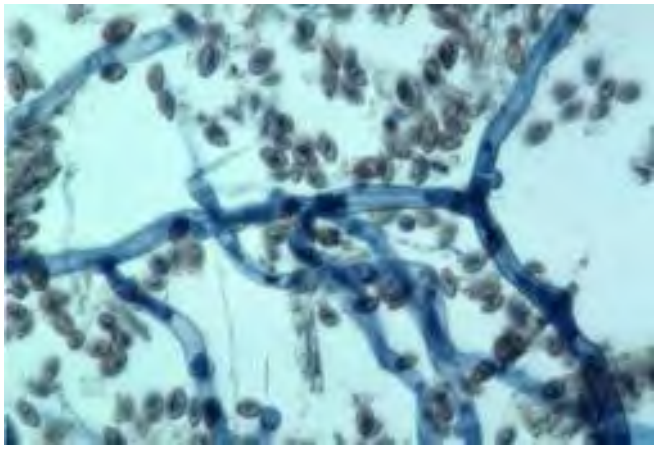


Рис. 4.20. Мицелиальный гриб *Sporotrichum caris*

Молочная плесень *Geotrichum candidum* (рис. 4.21) также относится к классу несовершенных грибов дейтеромицетов. Она часто размножается на поверхности молочных продуктов при их холодильном хранении не ниже 0 °С.

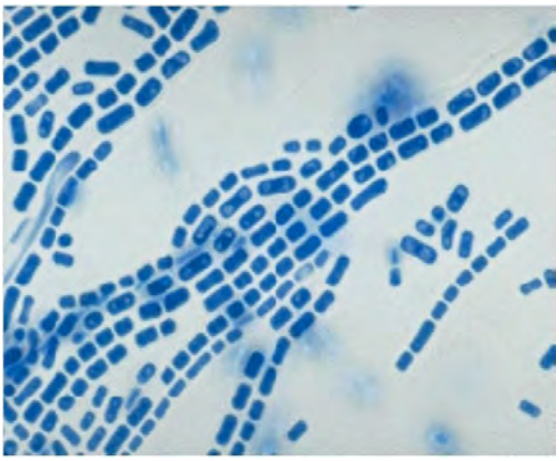


Рис. 4.21. Микроскопический препарат *Geotrichum candidum*

Большинство мицелиальных грибов может расти в широком диапазоне значения pH, поэтому сам по себе этот фактор слабо влияет на их размножение на пищевых продуктах. Гораздо более важным фактором при нейтральных и щелочных значениях pH является активность воды. Предельное значение a_w для роста любого вида микроорганизма составляет около 0,6. Некоторые ксерофитные плесени (*Xeromyces bisporus*) способны к росту даже при a_w 0,60 (табл. 4.2.).

Таблица 4.2

Минимальное значение активности воды для роста некоторых видов плесеней (В. Блекберн, 2008)

Вид плесени	Значение a_w, не более
Rhizopus nigricans	0,94
Penicillium expansum	0,85
Aspergillus flavus	0,81
Aspergillus ochraceus	0,78
Eurotium chevalieri	0,71
Xeromyces bisporus	0,60

Пищевые продукты, на которых размножились плесени, имеют непривлекательный вид, затхлый вкус и запах, поэтому заплесневелые продукты бракуют, что приводит к значительным экономическим потерям.

Задание по теме:

1. Изучить морфологические и культуральные признаки гнилостных бактерий.
2. Приготовить фиксированные окрашенные препараты некоторых видов молочнокислых бактерий – возбудителей порчи мяса и мясных продуктов. Зарисовать микроскопическую картину.
3. Рассмотреть и описать характер колоний МКБ на плотной среде. Привести в тетради основные морфологические и физико-химические признаки молочнокислых бактерий.
4. Приготовить препарат маслянокислых бактерий. Ознакомиться с их характеристикой.

5. Приготовить фиксированные окрашенные препараты дрожжей, вызывающих порчу мясных продуктов.

6. Приготовить окрашенный фиксированный препарат плесени *Geotrichum candidum.*

7. Рассмотреть колонии плесеней, выросших на пищевых продуктах при увеличении 8х, описать их внешний вид, сделать зарисовки.

8. Приготовить препараты «раздавленная капля» некоторых видов плесеней.

Контрольные вопросы

1. Что такое гниение мяса?
2. Какие продукты образуются при расщеплении белков?
3. На какие группы подразделяют гнилостные бактерии?
4. Дайте краткую характеристику гнилостным микроорганизмам, назовите их представителей.
5. При каких условиях на мясных продуктах могут размножаться молочнокислые бактерии?
6. Какие виды молочнокислых бактерий встречаются на мясных продуктах?
7. Назовите морфологические признаки маслянокислых бактерий.
8. Какие продукты жизнедеятельности накапливают в мясе маслянокислые бактерии?
9. Какие виды дрожжей встречаются на мясных продуктах?
10. При каких условиях дрожжи могут размножаться на мясе?
11. Каковы признаки порчи мяса в результате развития дрожжей?
12. От каких факторов зависит размножение плесневых грибов на пищевых продуктах?

ТЕМА 5. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСНЫХ КОНСЕРВОВ

Консервы – это продукты, предназначенные для длительного хранения, расфасованные в герметично упакованную тару, которая защищает их от проникновения микроорганизмов.

Микробиологическое исследование мясных консервов включает в себя анализ сырья и полуфабрикатов, вспомогательных материалов, а также содержимого консервных банок до и после стерилизации.

Микробиологический анализ исходного сырья проводится при повышенной микробной его обсемененности после разделки и мойки, анализ полуфабрикатов и вспомогательных материалов − по мере поступления их на консервное производство.

5.1. Отбор проб

Пробы для анализа содержимого банок отбирают в зависимости от вида и консистенции продукта. Если консервы содержат большое количество заливки или бульона, то для посева берут непосредственно жидкую часть продукта. Если в консервах жидкая фаза отсутствует или имеется в незначительном количестве, то в продукт добавляют стерильную воду в соотношении 1:1 и высевают смыв с продукта без разбавления или из последовательно приготовленных разведений. При фасовке в тару объемом до 0,5 л содержимое банки перекладывают в стерильную посуду (вместимостью 1,5–2,0 л) с таким же содержанием воды, закрывают крышкой и встряхивают в течение 3 мин, после чего отбирают пробу для посева. В зависимости от предполагаемого микробного обсеменения пробу разводят с таким расчетом, чтобы в чашке Петри с питательной средой выросло не более 300 колоний.

5.2. Бактериологическое исследование мясных консервов перед стерилизацией

Микробиологическое исследование банок перед стерилизацией проводят немедленно после закатки банок. Исследование включает в себя определение общего количества микроорганизмов в содержимом банок, выявление спор облигатных анаэробов и термофильных бактерий. Контроль наличия термофильных бактерий – возбудителей плоскокислой порчи – проводится только для консервов, содержащих продукты с нейтральным значением pH.

Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) проводят по методике, приведенной в разделе 1.3.1.

Выявление спор облигатных анаэробов. Из подготовленного для анализа образца стерильной пипеткой или трубкой отбирают 10 $см^3$ продукта, вносят в стерильную пробирку и ставят на кипящую водяную баню на 20 мин. После охлаждения 0,5 $см^3$ прогретого продукта засевают в пробирку с накопительной средой Китта–Тароцци. Посевы культивируют при температуре 37 °С в течение 48 ч. По окончании культивирования отмечают наличие газообразования и анаэробного роста в накопительной среде. При наличии анаэробного роста из накопительных посевов 1–2 капли высевают в чашки Петри, которые заливают 30 $см^3$ расплавленного МПА с 1 % глюкозы. Сразу же после застывания агара на его поверхность пинцетом кладут стерильное предметное стекло так, чтобы под ним не было пузырьков воздуха. Затем чашку переворачивают крышкой вниз и ставят на 48 ч в термостат с температурой 37 °С.

Облигатные анаэробы выявляются на чашке под стеклом в центральной части в виде отдельных колоний или сплошного роста на расстоянии 3–4 мм от края стекла, образуя иногда под ним пузырьки газа. Факультативные анаэробы растут не только под стеклом, но и на всей поверхности среды в чашке.

Выявление спор термофильных бактерий. Из предварительно прогретой при температуре 80–85 °С пробы отбирают 5 $см^3$ взвеси и вносят 25 $см^3$ МПА, содержащего 1% глюкозы и 0,004 % бромкрезолпурпурного (среда должна иметь слабо-фиолетовую окраску). Посевы культивируют при температуре 55 °С в течение 24–48 ч. Изменение окраски среды от фиолетовой до желтой или появление желтых ореолов вокруг колоний свидетельствует о наличии в исследуемой пробе спор термофильных бактерий.

Возбудителями плоскокислой порчи консервов являются термофильные спорообразующие аэробные микроорганизмы следующих видов: *Bacillus stearothermophilus*, *B. aerothermophilus*, *B. coagulans* и другими. Характеристика этих микроорганизмов представлена в табл. 5.1.

Термофильные микроорганизмы, размножаясь в продукте в условиях его хранения при повышенных температурах (40–70 °С), могут разлагать углеводы с образованием органических кислот без выделения газа. Они не вызывают бомбажа банок, но продукт приобретает кислый запах и неприятный кислый вкус.

5.3. Микробиологическое исследование мясных консервов после стерилизации

Готовые консервы после стерилизации подвергают микробиологическому исследованию в следующих случаях:

- при обнаружении в партии банок до стерилизации повышенного количества микроорганизмов или спор облигатных анаэробов;
- при закладке консервов на длительное хранение;
- при отсутствии показателя допустимой бактериальной обсемененности консервов до их стерилизации.

Отобранные для анализа образцы консервов осматривают и проверяют на герметичность в сосудах с горячей водой или в специальных аппаратах. Микробиологическому анализу подвергают только герметичные банки. С целью установления стерильности и выявления жизнедеятельности мезофильных и термофильных микроорганизмов отобранные консервные банки выдерживают в термостате с температурой 37 °С в течение 3 сут (для определения наличия мезофильных микроорганизмов) или при температуре 55 °С в течение 5 сут (для определения наличия термофильных микроорганизмов).

Из остаточной микрофлоры в консервах чаще всего обнаруживаются споры таких аэробных бацилл, как *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. polymyxa*, *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. stearothermophilus*, и анаэробных клостридий (*Clostridium perfringens*, *C. putrificum,* иногда *C. butyricum)*. В консервах редко обнаруживается *C. botulinum*. Споры палочки ботулизма обладают меньшей термоустойчивостью, чем споры других анаэробных клостридий, поэтому гибель *C. botulinum* служит минимальной стандартной нормой при разработке режимов стерилизации мясных консервов.

В результате жизнедеятельности микроорганизмов, сохранивших жизнеспособность после стерилизации, консервы подвергаются микробиологической порче. К основным видам порчи консервов относятся бомбаж, плоскокислая порча, сульфитная порча.

Б о м б а ж – вздутие банки в результате повышения внутреннего давления за счет накопления газов (CO_2, H_2S, NH_3) газообразующими спорообразующими бактериями видов *C. sporogenes*, *C. thermosaccharolyticum*, *C. perfringens*, *C. thermoaceticum* и др. Бомбаж консервов могут также вызвать БГКП и дрожжи, попавшие в готовый продукт при нарушении герметичности тары. Органолептические

свойства консервов в результате накопления продуктов жизнедеятельности микроорганизмов сильно изменяются, наблюдается мацерация ткани, кислый или гнилостный запах, пенообразование. Обычно такие изменения наблюдаются при высоком уровне размножившихся микроорганизмов – 10^7–10^8 клеток в 1 г продукта. Бомбажные консервы по внешним признакам легко отбраковываются.

П л о с к о к и с л а я п о р ч а – изменение органолептических свойств консервов без газообразования. Консервы приобретают неприятный кислый запах и вкус, иногда изменяется цвет продукта. Возбудителями данного вида порчи являются термофильные спорообразующие аэробные бациллы: *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. stearothermophilus*, *B. aerothermophilus*, *B. coagulans* и др. (табл. 5.1.) Эти микроорганизмы разлагают углеводы с образованием различных органических кислот без выделения газа.

С у л ь ф и т н а я п о р ч а – накопление в консервах сероводорода термофильными спорообразующими бактериями вида *Clostridium nigrificans*. Они разлагают серосодержащие аминокислоты с образованием H_2S. При сульфитной порче наблюдается вздутие донышек банки, продукт чернеет и приобретает тухлый запах.

Таблица 5.1

Характеристика некоторых видов бактерий, вызывающих плоскокислую порчу консервов

Название микроорганизмов	Форма и расположение клеток	Окрашивание по Граму	Спорообразование	Подвижность	Образование капсул	Отношение к кислороду
Bacillus stearothermophilus	Крупная палочка	+	Споры располагаются терминально	+	–	Аэроб
Bacillus aerothermophilus	Крупная палочка	+	Споры располагаются субтерминально	+	–	Аэроб
Bacillus coagulans	Крупная палочка	+	Споры располагаются центрально или терминально	+	–	Аэроб

Для выявления жизнедеятельности мезофильных факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов консервы с pH > 4,4 термостатируют при температуре 37±0,5 °С. Консервы в таре вместимостью 1 $дм^3$ и менее выдерживают в термостате в течение 5 сут, консервы вместимостью более 1 $дм^3$ – 10 сут.

Для установления стерильности или выявления жизнедеятельности термофильных аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов консервы в таре любой вместимости термостатируют при температуре 55±0,5 °С в течение 3 сут. По окончании термостатирования консервы выдерживают еще в течение 24 ч при комнатной температуре, после чего отмечают наличие дефектов тары.

Наряду с термостатной выдержкой из консервов, отобранных для анализа, делают посевы на питательные среды, чтобы установить характер остаточной микрофлоры.

По результатам бактериологического анализа на промышленную стерильность делают соответствующие выводы, согласно данным, приведенным в табл. 5.2.

Таблица 5.2

Оценка промышленной стерильности полных консервов (группа А)

Микроорганизмы, выявленные в консервах	Вид консервов	
	Общего назначения	Для детского питания
Спорообразующие МАФАнМ группы *B. subtilis*	Отвечают требованиям промышленной стерильности. В 1 г ($см^3$) продукта должно быть не более 11 клеток этих микроорганизмов	
Спорообразующие МАФАнМ группы *B. cereus* и/или *B. polymyxa*	Не отвечают требованиям промышленной стерильности	
Мезофильные клостридии (за исключением *C. botulinum* и *C. perfringens*)	Отвечают требованиям промышленной стерильности. В 1 г ($см^3$) продукта должно быть не более одной клетки этих микроорганизмов	Не отвечают требованиям промышленной стерильности

Окончание табл. 5.2

Микроорганизмы, выявленные в консервах	Вид консервов	
	Общего назначения	Для детского питания
Неспорообразующие микроорганизмы и/или плесневые грибы, дрожжи	Не отвечают требованиям промышленной стерильности	
Спорообразующие термофильные анаэробные, аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы	Отвечают требованиям промышленной стерильности, но температура их хранения должна быть не выше 20 °С	Не отвечают требованиям промышленной стерильности

Для выявления мезофильных аэробных микроорганизмов из каждой анализируемой консервной банки высевают по 2 $см^3$ в две пробирки с МПБ, содержащим 1 % глюкозы. Посевы культивируют при температуре 37 °С в течение 5 сут. Если по окончании культивирования появились признаки роста аэробных микроорганизмов (помутнение МПБ, образование пристеночного кольца или пленки и осадка), то готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют.

Если в мазках обнаруживают крупные грамположительные палочки или кокки, проводят пересев культуры из пробирок с МПБ в чашки с МПА. Чашки помещают на 48 ч в термостат с температурой 37 °С. Затем выросшие на МПА колонии изучают для установления принадлежности микроорганизмов к определенной группе.

При выявлении в мазках мелких грамотрицательных неспорообразующих палочек материал из колоний пересевают штрихом в чашки на среду Эндо, в пробирки со скошенным агаром по Шукевичу и в чашки на МПА с 1% глюкозы для идентификации микроорганизмов.

Для выявления анаэробов из исследуемой банки высевают по 2 $см^3$ в четыре пробирки со средой Китта–Тароцци, предварительно прогретой на кипящей водяной бане в течение 20–30 мин, а затем охлаждённой до 50 °С. Две пробирки с посевами прогревают при температуре 80 °С в течение 20 мин в целях выявления всех анаэробов. При исследовании на присутствие *C. botulinum* типа Е одну пробирку подогревают до температуры 60 °С в течение 15 мин (при этом сохраняются споры *C. botulinum* типа Е), а другую оставляют непрогретой.

Для выявления *C. botulinum* типа Е посевы выдерживают при температуре 30 °С, а для обнаружения других анаэробов − при температуре 37 °С. Термостатирование проводят в течение 5–10 сут, наблюдение за ростом культур − ежедневно.

Мезофильные анаэробные микробы вызывают помутнение среды с выделением газа и появление постороннего запаха. При обнаружении роста микробов готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. В мазках, содержащих облигатно-анаэробные бактерии, обнаруживают грамположительные спорообразующие палочки.

Для подтверждения принадлежности выявленных спорообразующих мезофильных анаэробных бактерий к роду *Clostridium* проверяют отсутствие у них каталазы. Для определения фермента каталазы у микроорганизмов к культуре добавляют 1–2 $см^3$ 1%-го раствора пероксида водорода. Появление пузырьков газа свидетельствует об образовании кислорода в результате расщепления пероксида водорода каталазой. Если каталаза не выявлена, то считают, что в посевах присутствуют мезофильные облигатно-анаэробные микроорганизмы рода *Clostridium*.

При наличии в среде возбудителя ботулизма отмечают помутнение среды, газообразование, маслянокислый запах. В мазках, окрашенных по Граму, обнаруживают грамположительные крупные палочки со спорами в виде ракеток. Если в консервах *C. botulinum* находился в вегетативной форме, то видимый рост микроорганизмов можно наблюдать в непрогретых пробах.

Примечание. В случае выявления *C. botulinum* консервы считаются непригодными в пищу и уничтожаются. При выявлении клостридий других видов вопрос об использовании консервов решают органы санитарно-эпидемиологической службы.

Задание по теме:

1. Ознакомиться с методами отбора проб и микробиологического исследования консервов до и после стерилизации. Провести посевы из образцов стерилизованных консервов на питательные среды.

2. Изучить культуральные и морфологические свойства микроорганизмов, выросших на питательных средах. Описать колонии микроорганизмов, приготовить из них фиксированные препараты, окрасить по методу Грама, зарисовать микроскопическую картину.

3. Сделать вывод о качестве исследованных консервов.

Контрольные вопросы

1. Как проводится микробиологический контроль мясных консервов до и после стерилизации?

2. Какие микроорганизмы вызывают бомбаж консервов?

3. Перечислите бактерии, вызывающие плоскокислую порчу мясных консервов.

4. Как проводят подтверждение принадлежности выявленных спорообразующих мезофильных анаэробных микроорганизмов к роду *Clostridium*?

5. Как поступают с продукцией в случае выявления *Clostridium botulinum*?

6. Присутствие каких микроорганизмов в готовых консервах свидетельствует о том, что они не соответствуют требованиям промышленной стерильности?

ТЕМА 6. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСА ПТИЦЫ

Птицеперерабатывающие предприятия выпускают мясо птицы в виде потрошеных тушек, обваленное (освобожденное от костей) и измельченное. В розничную торговлю поступают субпродукты (шея, крылья, головы, ноги), а также птичьи потроха (печень, сердце, желудок). Мясо птицы контаминируется микроорганизмами прижизненно, после убоя, ошпаривания, удаления оперения, потрошения и охлаждения. Массивное обсеменение тушек микроорганизмами может происходить в ваннах охлаждения, при этом доминируют бактерии родов *Salmonella* и *Campylobacter*. В процессе хранения среди поверхностной микрофлоры обнаруживаются кишечные палочки, псевдомонады, протеи, клостридии и др.

Бактериологическому исследованию подлежат птицепродукты во всех случаях, предусмотренных действующей нормативно-технической документацией (НТД). При сомнении в свежести мяса птицы хотя бы по одному показателю его направляют на бактериологический анализ. Исследование проводят также в случаях, если обнаружены патолого-анатомические изменения в отдельных органах и тканях птицы. Особое внимание уделяют исследованию мяса птицы

при подозрении на присутствие возбудителей кишечных инфекций, пищевых токсикозов или токсикоинфекций.

6.1. Отбор и подготовка проб

Для проведения бактериологического контроля отбирают по три образца тушек птиц, птичьих полуфабрикатов, субпродуктов. Каждый из них упаковывают в пергаментную бумагу, целлофан или полиэтиленовую пленку, опечатывают, пломбируют и составляют акт в соответствии с НТД. Пробы хранят не более 24 ч при температуре 0–2 °С с момента их отбора до начала исследований.

Для контроля качества тушек или полутушек вырезают из области грудной части, голени и бедра куски в равных количествах общей массой не менее 150 г. Измельчают образец в гомогенизаторе в течение 2,0–2,5 мин (или в фарфоровой ступке) и получают объединенную пробу одной тушки или полутушки. Из объединенной пробы отбирают навеску массой не менее 10 г.

Для исследования микробной обсемененности поверхности тушек пробы отбирают смоченным ватным тампоном с определенной площади при помощи трафарета или путем смыва стерильной жидкостью (физиологический раствор).

Бактериологический анализ птицепродуктов проводят на КМАФАнМ, БГКП, наличие сульфитредуцирующих клостридий (*Clostridium perfringens*), сальмонелл, золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), протея (*Proteus*) (см. разделы 1.3.2.–1.3.5).

6.2. Определение КМАФАнМ

Для определения КМАФАнМ из подготовленной навески измельченного продукта или смыва с поверхности тушки готовят исходное и ряд последующих десятикратных разведений до такой степени, чтобы можно было учесть предполагаемое количество микроорганизмов в 1 г исследуемого продукта или на 1 $см^3$ поверхности тушки. Из последних разведений (10^{-5}–10^{-6}) высевают по 1 $см^3$ суспензии одновременно в две чашки Петри, после чего их заливают расплавленным МПА с температурой не выше 45±1 °С. Питательную среду тщательно перемешивают и после застывания агара чашки помещают в термостат с температурой 37±1 °С. После инкубации под-

считывают число выросших на чашких колоний и определяют КМАФАнМ с учетом засеянных разведений.

Задание по теме:

1. Определить микробную обсемененность поверхности тушки птицы.
2. Определить наличие БГКП на поверхности тушки птицы.

Контрольные вопросы

1. Как проводят отбор проб мяса птицы и их подготовку для бактериологического контроля?
2. Какие группы микроорганизмов учитывают при микробиологическом исследовании мяса птицы?
3. Каким образом происходит контаминация тушек птицы микроорганизмами?

ТЕМА 7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЯИЦ И ЯЙЦЕПРОДУКТОВ

7.1. Микрофлора яиц в скорлупе

Яйца птицы по своему составу являются хорошим субстратом для размножения различных групп микроорганизмов и относятся к скоропортящимся продуктам. В связи с этим яйца необходимо хранить в условиях, которые обеспечивали бы замедленное протекание в них физико-химических и микробиологических процессов.

Скорлупа защищает яйца от проникновения микроорганизмов. Составляющие яйца обладают разной степенью устойчивости к микробам. Более устойчив к разложению белок, что объясняется содержанием в нем бактерицидных веществ: лизоцима, овидина, кональбумина, овомукоида, овомуцина и диоксида углерода. Микроорганизмы могут попадать в яйца как эндогенным, так и экзогенным путем.

Эндогенная контаминация появляется при заболевании птиц туберкулезом, сальмонеллезом, возбудители которых проникают из яичника или яйцевода внутрь яйца. Яйца водоплавающей птицы особенно опасны в отношении заболевания сальмонеллезом; в их яйце-

воде часто обнаруживаются бактерии паратифозной группы: *Salmonella. pullorum*, *S. gallinarium*, *S. enteritidis*, *S. dublin*, *S. newport*, *S. typhimurium*, *S. livingstone* и др. Поэтому реализация утиных и гусиных яиц и их использование на предприятиях общественного питания запрещены.

Экзогенная контаминация поверхности яиц происходит уже после кладки. Основными источниками микроорганизмов являются помет, почва, перья. Степень обсемененности яиц микроорганизмами зависит от условий содержания птицы. В частности, незагрязненные яйца содержат на 1 см^2 поверхности не более 10^1–10^2 микроорганизмов, тогда как на загрязненных яйцах количество микроорганизмов может достигать 10^5–10^6. Состав поверхностной микрофлоры яиц весьма разнообразен. Чаще всего обнаруживаются БГКП, протеи, псевдомонады, аэробные спорообразующие палочки, микрококки, споры мицелиальных грибов. Эти микроорганизмы попадают на яйцо, в основном, при прохождении его через клоаку.

Яйца птицы могут быть контаминированы и патогенными микроорганизмами. Через яйца и яичные продукты передаются возбудители сальмонеллеза, птичьего туберкулеза, кокковых интоксикаций, кампилобактериоза, псевдомоноза.

Яйца с загрязненной поверхностью не допускаются к реализации, их необходимо мыть. Скорость проникновения микроорганизмов в яйца зависит от их свежести, температуры и влажности воздуха, вида микроорганизмов. Нарушение температурно-влажностного режима хранения яиц приводит к тому, что микрофлора с поверхности яйца через поры проникает внутрь вначале на подскорлупные оболочки, а затем в белок и желток. Защитные факторы бактерицидности инактивируются, что приводит к порче яиц. Основными видами порчи яиц являются гниение и плесневение.

Гниение чаще всего вызывают грамотрицательные неспорообразующие бактерии родов *Pseudomonas*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Acinetobacter/Moraxella* и некоторые другие. В результате размножения флюоресцирующих псевдомонад (*Pseudomonas fluorescens*) белок яйца становится мутным, разжиженным и в дальнейшем приобретает зеленоватый оттенок, переходящий в темно-зеленый цвет (зеленая гниль). При попадании внутрь яйца других видов бактерий с высокой протеолитической активностью, таких как *Aeromonas*, *Proteus*, *Escherichi*a, белок яйца разжижается,

а желток становится черным (черная гниль). Из-за накопления газов, образуемых гнилостными бактериями, скорлупа разрывается и содержимое яйца освобождается, издавая тухлый запах. Размножение в яйце гнилостных аэробных грамположительных бацилл (*Bacillus subtilis*, *B. mycoides* и др.) приводит к тому, что оболочка желтка разрушается, желток соединяется с белком, образуя мутную жидкую массу. При овоскопии такие яйца не просвечиваются, и этот вид порчи получил название «тумак бактериальный». Бактерии, образующие красный или розовый пигмент (*Serratia marcescens*, *Micrococcus roseus*), и некоторые дрожжи вызывают окрашивание содержимого яйца в розовый цвет (розовая гниль). Смешанную гниль вызывают БГКП, аэробные бациллы, протеи, псевдомонады и другие микроорганизмы, обладающие активными протеазами. В этом случае белок яйца разжижается, становится серым, приобретает гнилостный запах.

Плесневение. Хранение яиц в помещениях с высокой влажностью приводит к развитию на их поверхности плесени. Чаще всего плесневение яиц вызывают грибы родов *Penicillium*, *Cladosporium*, *Sporotrichum*. Грибы рода *Penicillium* образуют точечные пятна желтого, зеленого или голубого цвета; *Cladosporium* – пятна темно-зеленого и черного цвета; *Sporotrichum* – пятна красного и розового цвета. Мицелиальные грибы размножаются на подскорлупной оболочке и около воздушной камеры. Начальная стадия размножения плесеней характеризуется образованием темного пятна, видимого при овоскопии. В дальнейшем мицелий гриба разрастается, размеры пятна увеличиваются, белок и желток смешиваются, и яйцо полностью утрачивает прозрачность. Такой вид порчи яиц называют «тумак плесневелый».

7.2. Микрофлора меланжа и яичного порошка

Меланж представляет собой смесь яичного белка и желтка в естественной пропорции, хорошо размешанную, освобожденную от скорлупы и замороженную в специальной таре. Для приготовления меланжа используют яйца только I категории. Нельзя использовать утиные, гусиные и известкованные куриные яйца, а также яйца, поступающие от предприятий, неблагополучных по инфекционным заболеваниям птиц.

Меланж – это скоропортящийся продукт, поэтому при его производстве необходимо строго соблюдать санитарно-гигиенические условия и после оттаивания перерабатывать в течение 2–3 ч.

Микрофлора меланжа представлена микрококками, сарцинами, протеями, псевдомонадами, колиформными бактериями, аэробными бациллами, спорами плесневых грибов. Иногда в меланже присутствуют патогенные микроорганизмы – сальмонеллы и золотистый стафилококк. Кроме сальмонелл, большую обеспокоенность может вызывать контаминация яиц такими психротрофными патогенными микроорганизмами, как *Listeria monocytogenes* и *Yersinia enterocolitica.* Они могут размножаться при температуре 3–5 ºС как в сыром, так и в пастеризованном меланже. Присутствие *L. monocytogenes* в яйцепродуктах считается потенциально опасным, так как эти бактерии относительно термостойки.

С целью уменьшения возможности попадания патогенных микроорганизмов и снижения общей бактериальной обсемененности меланжа рекомендуется яйца до разбивания обрабатывать дезинфицирующими веществами. Иногда проводят кратковременную пастеризацию меланжа при температуре 65–70 ºС с выдержкой в течение 1–2 мин.

Яичный порошок сразу после высушивания имеет влажность от 4 до 8 %. В нем остаются в жизнеспособном состоянии аэробные бациллы, микрококки, стафилококки, споры мицелиальных грибов.

В процессе хранения яичного порошка микроорганизмы, сохранившие свою жизнеспособность при сушке, не размножаются и постепенно отмирают. Степень отмирания зависит от условий хранения. Так, при температуре 18–20 ºС отмирает больше микроорганизмов, чем при температуре 1–2 ºС. Наиболее интенсивное отмирание микробов наблюдается в первые 2–3 мес хранения сухих яичных продуктов. Однако полной гибели всех вегетативных форм бактерий не происходит даже после 2–3 лет хранения.

7.3. Отбор проб

Санитарно-микробиологическое исследование яиц проводят по эпидемиологическим показаниям при вспышках инфекционных заболеваний птиц и подозрении на контаминацию яиц патогенными микроорганизмами, а также по требованию Госсанэпиднадзора.

Для анализа яиц из разных мест партии методом случайной выборки отбирают яйца в количестве 30 шт., в некоторых случаях – не менее 5–10 шт. Яйца, предназначенные для микробиологического исследования, упаковывают в чистую тару и транспортируют, избегая вторичной контаминации.

Для микробиологического исследования меланжа отбирают 1 % от общего числа банок одной партии, но не менее 6 шт. Перед вскрытием запаянной металлической банки на ее поверхность кладут пропитанный спиртом тампон и поджигают его. С соблюдением правил асептики из каждой взятой для исследования банки отбирают кусочки неоттаявшего меланжа и переносят в стерильную посуду (колбы, банки). После размораживания содержимое колбы тщательно перемешивают и отбирают для анализа среднюю пробу меланжа массой 50–55 г.

При контроле яичного порошка, расфасованного в пакеты, от каждой партии отбирают из разных мест по три упаковочные единицы, а расфасованного в банки – по одной единице. По каждой партии подготавливают объединенную пробу массой 0,5 кг, которую тщательно перемешивают, помещают в стерильные стеклянные банки с притертыми пробками и отправляют в лабораторию на исследование.

7.4. Бактериологическое исследование яиц и яйцепродуктов

Бактериологическое исследование яиц и яйцепродуктов включает в себя определение КМАФАнМ, наличие БГКП, протея, сальмонелл, золотистого стафилококка, при необходимости *Bacillus cereus*.

Общую бактериальную обсемененность поверхности яиц определяют путем посева конкретного объема смыва или его десятикратных разведений в чашки Петри с МПА. После инкубации чашек при температуре 30 ºС в течение 72 ч подсчитывают все выросшие поверхностные и глубинные колонии, определяют среднее арифметическое число колоний по двум чашкам одного разведения, умножают на величину разведения и делят на площадь поверхности яиц:

$$\text{КМАФАнМ} = n\ 10^m / S, \quad \text{КОЕ/см}^2,$$

где n – среднеарифметическое число колоний, выросших на чашках Петри; m – число десятикратных разведений; S – площадь поверхности яиц ($см^2$), определяемая по формуле

$$S = 3{,}14\ BP/2,$$

где B – ширина яйца, см; P – длина окружности, см.

Определение КМАФАнМ внутреннего содержимого яйца. Поверхность скорлупы обмывают с помощью щеточки теплой мыльной водой, затем яйцо на 10 мин погружают в этанол и обжигают на пламени горелки. На остром конце яйца делают отверстие диаметром 1 см, пробивая скорлупу профламбированным инструментом (пинцетом или скальпелем). Содержимое одного или нескольких яиц, помещенное в колбу с шариками, гомогенизируют до однородной массы, которую подогревают на водяной бане при температуре 20 ºС. Затем 10 см^3 яичной массы вносят в колбу с 90 см^3 стерильного физиологического раствора, получая разведение 10^{-1}, из которого готовят последующие разведения и далее проводят определение КМАФАнМ, как это описано в разделе 1.3.1.

Определение БГКП. Для выявления БГКП высевают 1 см^3 разведения 10^{-1} исследуемой пробы в 5 см^3 среды Кесслера, посевы помещают в термостат с температурой 37±1 ºС на 24 ч, после чего устанавливают наличие или отсутствие признаков размножения этих бактерий.

Для определения БГКП в сухих молочных продуктах готовят разведения до 10^{-3}, в меланже – до 10^{-4}, которые также засевают в пробирки со средой Кесслера.

Определение Staphylococcus aureus. Метод определения золотистого стафилококка в яйцепродуктах основан на высеве самого продукта или его разведений в селективные питательные среды. Особенностями золотистого стафилококка являются его способность расти на средах с повышенным содержанием натрия хлорида, коагулировать плазму крови, образовывать кислоту при расщеплении маннита и мальтозы в аэробных условиях.

Навеску сухого яичного продукта массой 1 г (для жидких яичных продуктов – 1 см^3) высевают в пробирку с 9 см^3 солевого бульона. Посевы инкубируют в термостате с температурой 37±1 ºС в течение 24 ч, после чего материал из пробирок пересевают в чашки Петри с подсушенным желточно-солевым агаром (см. прил. п.1.8). Чашки выдерживают в термостате с температурой 37±1 ºС в течение 18–24 ч. Затем в целях выявления пигментов чашки выдерживают на свету при комнатной температуре еще в течение 18–24 ч. Колонии *Staphylococcus aureus* на желточно-солевом агаре имеют форму выпуклых

дисков диаметром 2–4 мм желтого, кремового, лимонного или золотистого цвета с радужным кольцом вокруг них. Из колоний, характерных для *S. aureus*, готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. В случае присутствия в препарате грамположительных кокков, расположенных в виде виноградных гроздьев, материал из подозрительных колоний отсевают в чашки Петри на МПА. Посевы ставят в термостат с температурой 37±1 ºС на 18–24 ч. Из выросших подозрительных на *S. aureus* колоний ставят реакцию плазмокоагуляции. Для этого в две пробирки вносят по 0,5 $см^3$ разведенной кроличьей плазмы; в одну пробирку вносят петлей материал из колонии, другая пробирка служит контролем – её не засевают. Пробирки ставят в термостат с температурой 37±1 ºС, через 2–4 ч пробирки просматривают, учитывая результат, и оставляют их до утра при комнатной температуре для окончательного учета. Реакция плазмокоагуляции зависит от степени активности фермента коагулазы, выделяемого золотистым стафилококком, и характеризуется следующим образом:

- сгусток плотный, при наклоне пробирки неподвижен (оценка в четыре плюса);
- сгусток имеет небольшой отсек, при наклоне пробирки подвижен, плотная коагуляция плазмы (три плюса);
- сгусток в виде взвешенного мешочка, неполная коагуляция плазмы с образованием подвижного сгустка в центре плазмы (два плюса).

Материал из колоний, выросших на желточно-солевом агаре и подозрительных на *S. aureus*, пересевают петлей в чашки Петри на агаризованную среду с маннитом (или мальтозой) и феноловым красным. Положительным считается результат, если вокруг колонии на среде с маннитом образуется желтая зона, четко контрастирующая с пурпурно-красным фоном среды.

При наличии в мазках из характерных колоний на желточно-солевом агаре грамположительных кокков, расположенных в виде гроздьев, установлении положительной реакции плазмокоагуляции, ферментации маннита с образованием кислоты дается положительный ответ на присутствие в 1 г (или 1$см^3$) яичного продукта *Staphylococcus aureus*.

Методы выявления сальмонелл и бактерий рода *Proteus* описаны в разделах 1.3.3. и 1.3.4.

В табл. 7.1. приведены критерии микробиологической безопасности яичных продуктов.

Таблица 7.1

Микробиологические показатели яиц и яичных продуктов

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой не допускается наличие			
		БГКП	*S. aureus*	*Proteus*	Патогенных, в том числе сальмонелл
Яйцо куриное столовое	5×10^3	0,01	–	–	25
Меланж яичный замороженный	5×10^5	0,1	1	1	25
Яичный порошок	1×10^5	0,1	1	1	25

На каждую партию яиц и яйцепродуктов предприятием-изготовителем выдается санитарно-ветеринарное заключение об их безопасности и качестве.

Задание по теме:

1. Определить КМАФАнМ яичного порошка.
2. Определить бродильный титр БГКП меланжа.
3. Определить наличие протея в меланже.

Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы вызывают порчу яиц?
2. Чем обусловлена стойкость внутреннего содержания яйца к различным микробам?
3. По каким микробиологическим показателям проводят исследование яиц и яйцепродуктов?
4. Как отбирают пробы для микробиологического исследования яиц, меланжа, яичного порошка?
5. Как определяют *S. aureus* в яйцепродуктах?
6. Каковы характерные особенности золотистого стафилококка?
7. Какие виды порчи яиц Вы знаете?

ТЕМА 8. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ РЫБЫ

8.1. Микрофлора рыбы

Основная задача микробиологического контроля рыбы и продуктов из нее заключается в изучении видового состава и свойств бактерий, встречающихся на рыбе и рыбных продуктах, их влиянии на технологические процессы переработки рыбы, а также разработка эффективного санитарно-гигиенического контроля предприятий, анализ воды, оборудования, инвентаря, тары, личной гигиены сотрудников. Санитарно-микробиологический контроль рыбного производства подразделяется на основной (профилактический) и дополнительный.

Основной микробиологический контроль включает в себя исследование поступающего сырья, вспомогательных материалов, готовой продукции, а также санитарного состояния производства. Он проводится систематически, в сроки, определяемые нормативно-техническими документами производства и контролирующими организациями в порядке, предусмотренном законом.

Дополнительный микробиологический контроль производства проводится в случае стойкой повышенной обсемененности готового продукта микроорганизмами с целью обнаружения и устранения источника контаминации, а также, если предполагается наличие в продукте возбудителей пищевых токсикозов и токсикоинфекций. Микробиологический контроль осуществляет производственная лаборатория, а при её отсутствии – сторонние аттестованные организации.

Мясо рыб имеет рыхлую консистенцию, поскольку в нем меньше соединительных тканей, чем в мясе теплокровных животных. Это способствует распространению микроорганизмов в теле рыбы. Количественный и видовой состав микрофлоры свежевыловленной рыбы зависит от ее вида, характера водоема, сезона года, района, техники лова и других факторов.

Мышечный сок и мышечная ткань свежевыловленной здоровой рыбы считаются стерильными. Значительные количества бактерий обнаруживаются в покровной слизистой оболочке, на наружных жабрах и в желудочно-кишечном тракте. Количество бактерий на этих участках может составлять от 10^3 до 10^6 на 1 см^2.

Слизь, покрывающая поверхность рыбы, не только содержит микроорганизмы, но и служит благоприятной средой для их развития.

В теплых водах на поверхности рыбы присутствуют мезофильные микробы – различные виды бацилл, коринебактерий, микрококков. В покровной слизистой оболочке могут содержаться светящиеся бактерии, например, *Photobacterium phosphoreum*.

В умеренных и холодных водах доминируют психрофильные и психротрофные микроорганизмы. В речной и морской водах количество психрофилов на 1 $см^2$ кожи рыбы колеблется от 10^2 до 10^4. Они представлены, главным образом, бактериями родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium.* Встречаются также микрококки, коринебактерии, реже спорообразующие палочки рода *Bacillus*, а также дрожжи и актиномицеты. Осетровые рыбы иногда бывают контаминированы палочкой ботулизма – *C. botulinum.* В прибрежных морских водах и во внутренних водных бассейнах поверхность рыбы может быть контаминирована бактериями из семейства *Enterobacteriaceae* родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus.*

В связи с ухудшением экологической обстановки в разных странах мира, сбросом бытовых и промышленных сточных вод в природные водоемы резко возросла опасность заражения рыб патогенными бактериями – шигеллами и сальмонеллами, что требует особенного внимания к санитарной обработке рыбы и изменению ее микрофлоры при хранении. Пресноводные рыбы могут длительное время сохранять сальмонеллы в своем организме. Массовая эндогенная контаминация рыб сальмонеллами видов *S. enteritidis* или *S. typhimurium* вызывает у них псевдомембранозные воспаления кишечника.

Энтеропатогенные штаммы стафилококков выделяются обычно во время переработки рыбы, так как эти микроорганизмы составляют около 40 % микрофлоры рук и носоглотки обслуживающего персонала. Чтобы предотвратить обсеменение рыбы стафилококками, температура хранения рыбы должна быть не выше 10 ºС.

На морской рыбе иногда встречается галофильный вибрион – *Vibrio parahaemolyticus* – возбудитель гастроэнтеритов и отравлений по типу токсикоинфекций.

В жабрах и кишечнике рыб всегда присутствует большое количество разнообразных микроорганизмов. В 1 г содержимого кишечника свежеуснувшей рыбы насчитывается до 10^5 – 10^8 клеток

микроорганизмов. Это различные гнилостные бактерии, в том числе спорообразующие: *C. sporogenes*, *C. perfringens*, *C. bifermentans.*

На наружных жабрах и слизистой оболочке рта свежевыловленной рыбы могут также присутствовать дрожжи, но в дальнейшем при хранении они подавляются бактериями. Выделенные дрожжи были отнесены к родам *Debaryomyces*, *Torulopsis, Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Cryptococcus*.

Микробиологическое исследование свежей рыбы начинают с приготовления препаратов-отпечатков (бактериоскопический метод), а затем проводят бактериологический анализ.

Свежеуснувшая рыба быстро подвергается микробной порче, которая происходит тем быстрее, чем выше температура ее хранения и чем больше на рыбе микроорганизмов. На поверхности рыбы активно размножаются гнилостные аэробные бактерии, которые поглощают кислород и в результате создают условия для развития анаэробов, при этом процесс гниения смещается вовнутрь. Развитие гнилостной микрофлоры приводит к сдвигу pH в щелочную сторону, что способствует размножению многих других микроорганизмов. Поэтому после вылова рыбу следует быстро охладить. При резком понижении температуры тела рыбы размножение большинства микроорганизмов приостанавливается. Так, если при 18 ºС количество бактерий через одни сутки возрастает до 10^8 – 10^9 в 1 г рыбы, то при температуре около 0 ºС рост микроорганизмов задерживается на 24–48 ч, после чего на поверхности охлажденной рыбы и на жабрах начинается размножение психрофильных микроорганизмов. Главными возбудителями порчи рыбы являются бактерии рода *Pseudomonas*. Через 10 сут доля псевдомонад возрастает до 50 % от общего количества, а через 18 сут – до 96 %. Вызывая гнилостный распад белка, псевдомонады образуют значительные количества летучих соединений, в том числе триметиламин, обладающий неприятным запахом, а также газы – H_2S, NH_3. Псевдомонады характеризуются не только высокой скоростью роста, но и повышенной ферментативной активностью по отношению к белкам и липидам.

Для охлаждения рыбы часто используется лед в сочетании с хлоридом натрия, которые, в свою очередь, могут быть источниками обсеменения рыбы посторонними микроорганизмами.

Более длительное хранение обеспечивает замораживание рыбы. Если быстро подвергнуть замораживанию свежевыловленную

рыбу, то вся микрофлора располагается на поверхности ее тела, тогда как в толще мышц микроорганизмов еще нет. Хранение такой замороженной рыбы при температуре не выше минус 12–15 ºС позволяет длительное время сохранять ее качество (несколько месяцев) и значительно снизить количество микроорганизмов.

В процессе замораживания и длительного холодильного хранения часть микроорганизмов отмирает, но некоторые из них сохраняют свою жизнеспособность, находясь в состоянии анабиоза. При этом, чем выше скорость замораживания и ниже температура хранения, тем большее количество микроорганизмов останется жизнеспособным.

На замороженной рыбе обнаруживают преимущественно различные микрококки, спорообразующие и неспорообразующие формы палочковидных бактерий, споры мицелиальных грибов. Допустимое содержание сапрофитных микроорганизмов на замороженной рыбе до 10^5 КОЕ/г.

8.2. Бактериоскопическое исследование свежей рыбы

Отбор проб. Пробы для микробиологического исследования отбирают согласно нормативной документации от каждой партии (одного вида, сорта, наименования и др.). Количество единиц упаковки, подлежащих вскрытию, устанавливается действующими НТД производства (не менее 5 % или 5 единиц от общего количества в партии). Перед отбором пробы необходимо осмотреть всю партию, вскрыть отдельные единицы упаковки, дать органолептическую оценку продукта и затем отобрать пробу. Пробы для микробиологических анализов отбирают стерильным инструментом в стерильную посуду. Пробы мелкой рыбы, нерыбных объектов морского промысла, ястыков, молок и т.д. отбирают в количестве 3–10 шт. из разных мест исследуемой партии и составляют среднюю пробу. Средняя проба формируется путем измельчения, перемешивания и растирания отобранных образцов.

Навеску отбирают в количестве 1 г из средней пробы и постепенно добавляют к ней 9 $см^3$ жидкости (изотонический раствор хлорида натрия), получая исходное разведение 10^{-9}. Взвесь хорошо перемешивают или взбалтывают и оставляют при комнатной температуре на 3–5 мин. Затем исследуют надосадочную жидкость. При необходи-

мости готовят последующие разведения, используя каждый раз новую пипетку.

Крупную рыбу и крупные экземпляры нерыбных объектов морского промысла отбирают в количестве не более 3 шт. От каждого экземпляра из нескольких мест вырезают кусочки с кожей и мышцами, не затрагивая кишечник, площадью около 4 $см^2$, толщиной 4–5 мм и помещают в колбу для формирования средней пробы. Рыбу и объекты морского промысла после разделки и мойки отбирают и вырезают небольшими кусочками массой не более 300 г.

Каждый образец упаковывают отдельно в пергаментную бумагу, ставят дату, место взятия проб, вид рыбы, указывая причину и цель исследования, и отправляют в лабораторию.

Для скоропортящихся продуктов, к которым относятся рыба и рыбные продукты, интервал времени между отбором проб и микробиологическим анализом составляет не более 6 ч в диапазоне температур от 0 до +4 °С. Такое исследование проводят отдельно для поверхности рыбы и для её внутренних тканей.

К поверхности исследуемой рыбы прикладывают профламбированное предметное стекло и прижимают его в течение 1 мин. Стекло осторожно снимают, подсушивают, препарат фиксируют в пламени горелки и окрашивают по методу Грама. На препарат-отпечаток наносят каплю иммерсионного масла и просматривают его под микроскопом с иммерсионным объективом (увеличение 90х) не менее чем в тридцати полях зрения.

Из глубины мышц тоже готовят препарат-отпечаток. Для этого кожу посередине спины рыбы освобождают от чешуи и прижигают раскаленным скальпелем. Стерильными ножницами и пинцетом вырезают кусочек мяса рыбы на глубине 1,0–1,5 см общей площадью около 2 $см^2$. Вырезанным кусочком делают несколько отпечатков. На предметное стекло кусочек прикладывают на 1 мин разными гранями, после чего обрабатывают препарат вышеизложенным способом.

При микроскопировании подсчитывают отдельно число клеток бактерий (кокков и палочек) и дрожжей в каждом просмотренном поле зрения, результатом является среднее значение общего количества клеток по тридцати полям зрения. Отмечают также наличие или отсутствие в поле зрения следов распада мышечной ткани.

Результаты микроскопирования оценивают согласно данным, представленным в табл. 8.1.

Таблица 8.1

Оценка результатов бактериоскопического анализа рыбы

Характеристика рыбы	Микроскопическая картина
Свежая	Отсутствуют микробные клетки или видны единичные кокки и дрожжи (до 10 клеток); следов распада мышечной ткани нет
С частично измененной свежестью	Не более 30 клеток кокков, дрожжей или палочковидных клеток; заметны следы распада мышечной ткани (ядра мышечных волокон в состоянии распада, исчерченность мышечных волокон слабо различима)
Несвежая	Более 30 микробных клеток с преобладанием грамотрицательных палочковидных форм; наблюдается значительный распад мышечной ткани, почти полное исчезновение ядер и исчерченности мышечных волокон

8.3. Бактериологическое исследование свежей, охлажденной и мороженой рыбы

Бактериологический метод включает в себя исследование рыбы на общую микробную обсемененность, содержание бактерий группы кишечной палочки, присутствие сальмонелл, бактерий группы протея, энтерококков.

При бактериологическом исследовании каждую пробу освобождают от жировой и соединительной тканей, погружают в спирт, затем вырезают стерильными ножницами из глубины различных мест кусочки размером 2,0×1,5×2,5 см. Все вырезанные кусочки измельчают стерильными ножницами. Для посева составляют средние пробы по 15 г.

Определение КМАФАнМ. При исследовании свежей рыбы готовят разведения пробы от 10^{-1} до 10^{-4}.

Для посева 0,1 г продукта (разведение 10^{-1}) готовят первое десятикратное разведение взвеси: стерильной пипеткой набирают 1 $см^3$ взвеси, переносят её в пробирку с 9 $см^3$ стерильного физиологического раствора (1 $см^3$ полученного раствора содержит 0,1 г продукта).

Для посева 0,01 г продукта (разведение 10^{-2}) готовят второе десятикратное разведение: стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки с первым разведением, набирают 1 см^3 и переносят в пробирку с 9 см^3 стерильного физиологического раствора (1 см^3 полученного раствора содержит 0,01 г продукта).

Для посева 0,001 г продукта готовят третье десятикратное разведение (10^{-3}): стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки со вторым разведением, набирают 1 см^3 и переносят в пробирку с 9 см^3 стерильного физиологического раствора (1 см^3 полученного раствора содержит 0,001г продукта).

Для посева 0,0001 г продукта готовят четвертое десятикратное разведение (10^{-4}): стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки с третьим разведением, набирают 1 см^3 и переносят в пробирку с 9 см^3 стерильного физиологического раствора (1 см^3 полученного раствора содержит 0,0001г продукта).

В табл. 8.2 приведены показатели микробиологической безопасности рыбы.

Таблица 8.2

Микробиологические показатели рыбы свежей, охлажденной и мороженой

Объект контроля	КМАФАнМ КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Примечание
		БГКП (колиформы)	*S.aureus*	Патогенные, в том числе сальмонеллы и *Listeria monocytogenes*	
Рыба-сырец и рыба живая	5×10^4	0,01	0,01	25	*V.parahaemolyticus* – не более 100 КОЕ/г для морской рыбы
Рыба охлажденная и мороженая	1×10^5	0,001	0,01	25	

По 1 см^3 каждого разведения засевают в чашки Петри с заранее маркированной крышкой и заливают 10–15 см^3 расплавленным и остуженным до 40–45 °С мясопептонным агаром (МПА). Сразу по-

сле заливки агара содержимое чашек Петри тщательно перемешивают путем легкого покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде на 72 ч в термостат при температуре 30 °С.

По окончании культивирования подсчитывают количество колоний, выросших на чашках с МПА. При этом используют лупу с увеличением в 4–10 раз или специальный прибор для подсчета колоний. При большом числе колоний и их равномерном распределении в агаре на дно чашки Петри наносят четыре или более одинаковых секторов, подсчитывают число колоний в двух–трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки.

8.4. Микробиология соленой рыбы

Посол является наиболее распространенным способом консервирования рыбы. По чувствительности к хлориду натрия микроорганизмы условно подразделяют на три группы:

1. *Галофобные*. К этой группе относятся микроорганизмы, жизнедеятельность которых подавляется при концентрации хлорида натрия 5–6 %. Это, в первую очередь, большинство гнилостных бактерий, молочнокислые бактерии, кишечные палочки, некоторые патогенные бактерии родов *Salmonella*, *Vibrio*. При содержании в среде около 6 % хлорида натрия подавляется размножение бактерий родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*, однако они сохраняют свою жизнеспособность.

2. *Галотолерантные* (факультативные галофилы). Эти микроорганизмы могут расти при концентрации соли от 6 до 15 %. Высокой устойчивостью к действию соли характеризуются стафилококки. Их размножение подавляется лишь при концентрации соли в среде 16–18 %. Значительной устойчивостью к хлориду натрия обладают плесневые грибы. В частности, рост *Aspergillus niger* подавляется при 17 %, *Penicillium glaucum* – при 19–20 % хлорида натрия.

3. *Галофильные* (облигатные галофилы). Для размножения этой группы микроорганизмов оптимальная концентрация соли находится в интервале 3–6 %. Они способны расти в концентрированных солевых растворах или непосредственно в самой соли. Предполагают, что повышенное осмотическое давление или пониженная актив-

ность воды в питательной среде стимулируют рост этих микроорганизмов. К этой группе относится *Micrococcus roseus*, который придает красно-розовую окраску соленой сельди.

В табл. 8.3 приведены значения концентрации хлорида натрия, при которых рост определенных микроорганизмов подавляется.

Таблица 8.3

Концентрация хлорида натрия, ингибирующая рост разных видов микроорганизмов

Название микроорганизов	Концентрация соли, %, при которой приостанавливается рост микроорганизов
Lactococcus lactis	2,0–5,0
Lactobacillus bulgaricus	2,0–3,0
Escherichia coli	5,0–8,0
Clostridium botulinum	5,0–10,0
Clostridium perfringens	5,7–7,4
Proteus vulgaris	7,5–10,0
Staphilococcus aureus	7,0–15,0
Bacillus subtilis	10,0–15,0
Дрожжи	10–12
Плесневые грибы	12–14

Консервирующее действие соли зависит от ее концентрации, температуры среды, pH среды, присутствия в среде консервантов.

Различают следующие способы посола:

- теплый, охлажденный и холодный;
- насыщенный и ненасыщенный;
- сухой, смешанный и мокрый (тузлучный).

При теплом посоле концентрация соли 15–20 % достигается в мясе рыб в течение суток; при охлажденном посоле – более суток, холодный посол используется для крупных и жирных рыб.

При насыщенном посоле концентрация соли в тузлуке должна быть более 20 %.

При сухом посоле рыба перемешивается с кристаллами соли, при мокром и тузлучном погружается в солевой раствор, при смешанном способе рыба сначала перемешивается с солью, а затем сразу же добавляется раствор соли.

Последний способ находит все более широкое применение, так как при таком посоле образуется система рыба-соль-тузлук, в которой хорошо идет перемещение NaCl из тузлука в ткани рыбы и одновременно осмотический перенос воды из клеток рыбы в тузлук. Перемещение в двух направлениях идет до тех пор, пока не наступит равновесная концентрация соли в тузлуке и мышечной ткани.

Во время посола рыба теряет воду и поглощает соль. В течение первых 10–15 сут в тузлуке увеличивается содержание микроорганизмов, их количество снижается через 2–3 месяца.

В среднем тузлуке общее микробное число составляет 10^2–10^4 микробных клеток в 1 $см^3$. В слабосоленой рыбной продукции при повышении температуры хранения общее количество микроорганизмов возрастает и может составить от 10^3 до 10^8 клеток в 1 г продукции. Качественный состав микрофлоры такой рыбы весьма разнообразен. Это галофильные бактерии родов *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacte*r, а также дрожжи и плесневые грибы. Могут также встречаться возбудители пищевых отравлений – золотистый стафилококк, сальмонеллы, энтерококки.

При сильном сухом посоле 90 % микрофлоры представлено бактериями рода *Micrococcus*. Остальные 10 % – бактерии родов *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Sarcina.*

8.5. Микрофлора пресервов

Основным консервирующим фактором в пресервах является поваренная соль, содержание которой допускается от 3 до 10 %. Для предохранения пресервов от порчи в них добавляют антисептик (бензойную кислоту или бензоат натрия) в концентрации 0,1 % от массы рыбы. Бензоат натрия подавляет, главным образом, гнилостные бактерии и в меньшей степени плесневые грибы. Молочнокислые бактерии и дрожжи малочувствительны к действию антисептика. В некоторые пресервы вместо бензоата натрия добавляют уксусную кислоту, которая усиливает действие поваренной соли.

Микробная порча пресервов

1. Образование слизи в рассоле. Причиной порока является полимеризация сахарозы, в результате чего образуется соединение оптически левого вращения – леван, или соединение оптически правого вращения – декстран. В рассоле слизь состоит, главным образом,

из левана. Ответственными за образование левана являются грамотрицательные палочки, а за образование декстрана – *Leuconostoc mesenteroides ssp. dextranicum.*

2. Газообразование. В пресервах мелкой упаковки наблюдается газообразование, вызываемое развитием гетероферментативных молочнокислых бактерий или лейконостоков (*Leuconostoc citrovorum*).

Патогенные микробы в пресервах

Благодаря развитию молочнокислых бактерий продукт подкисляется, поэтому *C. botulinum* размножается очень редко. Контаминация пресервов сальмонеллами не имеет какого-либо значения, так как существующие концентрации соли (до 8 %) препятствуют размножению этих микробов. *S. aureus* обладает высокой устойчивостью к соли. Контаминация пресервов золотистым стафилококком происходит, в основном, от обслуживающего персонала. Размножение золотистого стафилококка и образование им энтеротоксина может происходить при концентрации соли до 10 %. Для того чтобы подавить образование токсина *S. aureus* в пресервах, их необходимо хранить при температуре ниже 10 ºС.

Задание по теме:

1. Провести бактериоскопический анализ свежей рыбы. Сделать заключение о свежести исследованных проб рыбы.

2. Провести бактериологический анализ рыбы-сырца. Сделать посевы на питательные среды для определения общего количества микробов (КМАФАнМ) и титра бактерий группы кишечных палочек (БГКП).

Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы присутствуют на поверхности свежей рыбы, в жабрах, кишечнике?

2. Какие микроорганизмы доминируют на охлажденной рыбе при ее хранении?

3. На какие группы подразделяют микроорганизмы по отношению к хлориду натрия?

4. Перечислите способы посола рыбы.

5. Назовите виды порчи пресервов.

ТЕМА 9. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕХНОЛОГИИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

В биотехнологии ферментированных молочных продуктов используют разные группы микроорганизмов: молочнокислые, пропионовокислые, уксуснокислые бактерии, бифидобактерии, дрожжи, мицелиальные грибы. Наиболее важную роль играют молочнокислые бактерии.

9.1. Молочнокислые бактерии

Молочнокислые бактерии (МКБ) расщепляют углеводы с образованием преимущественно молочной кислоты, благодаря чему они и объединены в одну группу. Кроме молочной кислоты эти бактерии накапливают и другие метаболиты: уксусную кислоту, этанол, диоксид углерода, летучие вещества (ацетальдегид, диацетил, жирные кислоты).

Морфология. По форме клеток МКБ бывают шаровидной и палочковидной формы. Они грамположительны, неподвижны, не образуют спор и капсул (в молодых культурах некоторые штаммы формируют слизистую капсулу). Исключение составляет один род – *Sporolactobacillus*, клетки которого подвижны и образуют эндоспоры.

Физиолого-биохимические признаки. По отношению к кислороду МКБ являются факультативными анаэробами. Молочнокислые бактерии – единственная группа микроорганизмов, лишенных каталазы, но способная расти в присутствии кислорода воздуха. Функцию каталазы у них выполняет фермент лактопероксидаза. У МКБ отсутствуют гемсодержащие ферменты, поэтому энергию они получают только в процессе молочнокислого брожения, которое условно разделяют на гомоферментативное и гетероферментативное. При гомоферментативном брожении основным метаболитом является молочная кислота; при гетероферментативном кроме молочной кислоты образуются также диоксид углерода, этанол и/или уксусная кислота.

Температурный диапазон жизнедеятельности лактобактерий довольно широк: мезофильные виды растут при оптимальной температуре 25–32 °С; минимальной температурой для них является 10 °С.

Для термофильных видов оптимальная температура роста колеблется в пределах 38–45 °С, а минимальная – от 20 до 22 °С. Имеются сведения, что некоторые молочнокислые бактерии способны расти при температуре 3–5 °С.

В настоящее время в группу молочнокислых бактерий входят 13 родов, в том числе:

• Шаровидные: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactosphaera*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.

• Палочковидные**:** *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Paralactobacillus.*

Шаровидные молочнокислые бактерии. Из шаровидных МКБ в молочной промышленности используются лактококки подвидов *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*; стрептококки *подвида Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*; лейконостоки подвидов *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* и *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum***,** свойства которых приведены ниже.

Lactococcus lactis subsp. lactis (молочнокислый стрептококк, сокращенно *Lac. lactis*). Клетки сферические или овальные размером 0,5–1,2×0,5–1,5 мкм, соединенные попарно (диплококки) или в виде коротких цепочек (рис. 9.1, а). Оптимальная температура роста развития 28–32 °С.

Активные штаммы этого вида свертывают молоко за 4–6 ч, образуя ровный плотный сгусток. Предельная кислотность (определяется через 5–7 сут инкубации в молоке при оптимальной температуре) достигает 120–125 °Т. *Lac. lactis ssp. lactis* восстанавливает и свертывает лакмусовое молоко, разлагает аргинин с образованием аммиака, не растет в средах с 6,5 %-м NaCl и в щелочной среде с pH 9,5. Штаммы этого вида входят в состав заквасок для кисломолочных напитков, творога, сметаны, кислосливочного масла, сыров с низкой температурой второго нагревания.

Отдельные штаммы *Lac. lactis* синтезируют бактериоцин низин, обладающий антагонистической активностью по отношению к большинству грамположительных бактерий (стафилококков, микрококков, бацилл, клостридий, лактобактерий и др.). На грамотрицательные бактерии низин не оказывает ингибирующего влияния. Низин используется в консервной промышленности для подавления развития спорообразующих бактерий.

Lactococcus lactis subsp. cremoris (сливочный стрептококк – *Lac. cremoris*). Клетки шаровидные, располагаются в виде коротких и длинных цепочек (рис. 9.1, б). Оптимальная температура роста 25–30 °С, при температуре 39–40 °С рост прекращается. Молоко свертывается за 6–8 ч, образуя плотный сгусток слегка вязкой или сметанообразной консистенции, что обусловлено способностью сливочного стрептококка синтезировать полисахариды. Предельная кислотность в молоке составляет не более 110–115 °Т.

Штаммы этого вида не образуют аммиак из аргинина, не растут в средах с 4 %-м NaCl и с pH 9,5. Сливочный стрептококк используется в закваскaх для сметаны, кислосливочного масла и других кисломолочных продуктов.

Некоторые штаммы этого подвида синтезируют бактериоцин лактококцин.

Lactococcus lactis subsp. diacetylactis (ароматобразующий стрептококк – *Lac. diacetylactis*). Клетки расположены в виде диплококков и коротких цепочек (рис. 9.1, в). Оптимальная температура роста 25–30 °С. Имеет довольно слабую кислотообразующую активность, молоко свертывает за 16–18 ч, предельная кислотность не превышает 70–100 °Т. Сгусток молока плотный, часто с наличием пузырьков газа (CO_2), имеет приятный специфический запах, обусловленный накоплением диацетила. Штаммы этого вида расщепляют лактозу и цитраты с образованием диоксида углерода, диацетила и ацетоина. В утилизации цитратов участвуют два фермента – цитратпермеаза, транспортирующая цитрат в клетку через цитоплазматическую мембрану, и цитратлиаза, расщепляющая цитрат на ацетат и оксалоацетат. Фермент диацетилредуктаза, присутствующий в клетках, восстанавливает диацетил до ацетоина, что приводит к снижению аромата. Этот процесс можно замедлить путем быстрого охлаждения ферментированных молочных продуктов.

Ароматобразующий стрептококк входит в состав заквасок для большинства ферментированных молочных продуктов.

Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris (*Leuc. cremoris*). Клетки шаровидные или линзовидные размером 0,5–0,7×0,7–1,2 мкм, соединены попарно или в короткие цепочки (рис. 9.1, г). Оптимальная температура роста 22–25 °С, минимальная – около 5 °С. Молоко не свёртывает, так как обладает низкой протеиназной активностью. Лейконостоки способны расти в молоке при добавлении в него рос-

товых факторов (дрожжевого или кукурузного экстракта). Предельная кислотность не превышает 40–50 °Т. После снижения pH среды до 5,0–4,5 образует диацетил, поэтому данный вид используют в многовидовых закваскaх для производства сыров и кислосливочного масла в сочетании с *Lac. lactis* и *Lac. cremoris.*

Streptococcus salivarius subsp. thermophilus (термофильный стрептококк – *S. thermophilus*). Клетки имеют овальную или шаровидную форму диаметром 0,7–1,0 мкм, часто соединены в длинные цепочки (рис. 9.1, д). Активные штаммы свертывают молоко за 3,5–4 ч при оптимальной температуре 40–42 °С. Температурный диапазон роста – 20–50 °С. *S. thermophilus* относительно термоустойчив, он может выдерживать температуру 75 °С в течение 15 мин, поэтому входит в состав остаточной микрофлоры пастеризованного молока.

Предельная кислотность в молоке не превышает 100–115 °Т. Термофильный стрептококк чувствителен к содержанию в среде натрия хлорида и антибиотиков: он перестает расти в среде, содержащей 4 % NaCl и 0,01 МЕ/см^3 пенициллина.

Некоторые штаммы термофильного стрептококка образуют диацетил и способны синтезировать экзополисахариды, что приводит к формированию вязкого слизистого сгустка.

Термофильный стрептококк вводят в состав заквасок для производства ряженки, варенца, йогурта, сыров с высокой температурой второго нагревания.

Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum (*Leuc. dextranicum*) морфологически схож с *Leuc. cremoris*. Свертывает молоко при оптимальной температуре 22–25 °С в течение 3–4 сут. Предельная кислотность составляет 70–80 °Т.

Размножение лейконостоков стимулирует добавление в среду марганца, что приводит также к повышенному синтезу метаболитов: диацетила, уксусной кислоты, диоксида углерода.

Лейконостоки входят в состав естественной микрофлоры кефирного грибка и играют большую роль в формировании его вкуса и запаха.

Многие штаммы *Leuc. dextranicum* синтезируют из сахарозы полисахарид декстран, образующий слизь.

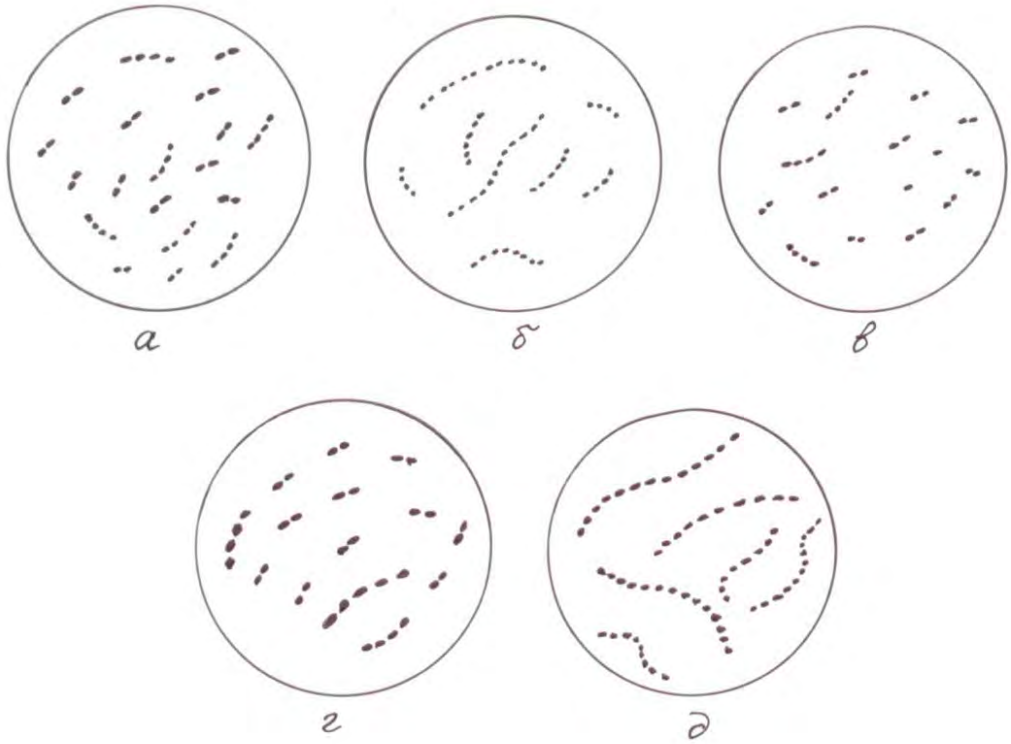


Рис. 9.1. Шаровидные молочнокислые бактерии:
а – *Lac. lactis*; б – *Lac. cremoris*; в – *Lac. diacetylactis*;
г – *Leuc. cremoris*; д – *S. thermophilus*

Палочковидные молочнокислые бактерии включены в семейство *Lactobacillaceae*, род *Lactobacillus*, который подразделяют на три подрода: *Thermobacterium* (термобактерии), *Streptobacterium* (стрептобактерии) и *Betabacterium* (бетабактерии по Орла-Йенсену).

По типу брожения лактобациллы распределены на три группы:

I – облигатно гомоферментативные (термобактерии);

II – факультативно гетероферментативные (стрептобактерии);

III – облигатно гетероферментативные (бетабактерии).

В молочной промышленности используют следующие виды лактобацилл (рис. 9.2, а–и):

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus (болгарская палочка, сокращенно *L. bulgaricus).* Форма клеток в молоке – длинные и короткие палочки размером 5–20×0,8–1,0 мкм (рис. 9.2, а). При окрашивании препаратов из молока метиленовым синим в клетках часто наблюдаются зёрна полифосфатов, иногда неравномерно окрашенные участки цитоплазмы. Оптимальная температура развития 40–45 °С. Молоко свертывает за 4–6 ч. Предельная кислотность молока дости-

гает 200–300 °Т. Сгусток молока может иметь колющуюся или сильно вязкую слизистую консистенцию. Штаммы болгарской палочки образуют ацетальдегид, придающий сгустку характерный фруктовый запах. Болгарская палочка чувствительна ко многим антибиотикам, присутствующим в сыром молоке, но устойчива к бактериофаговой инфекции.

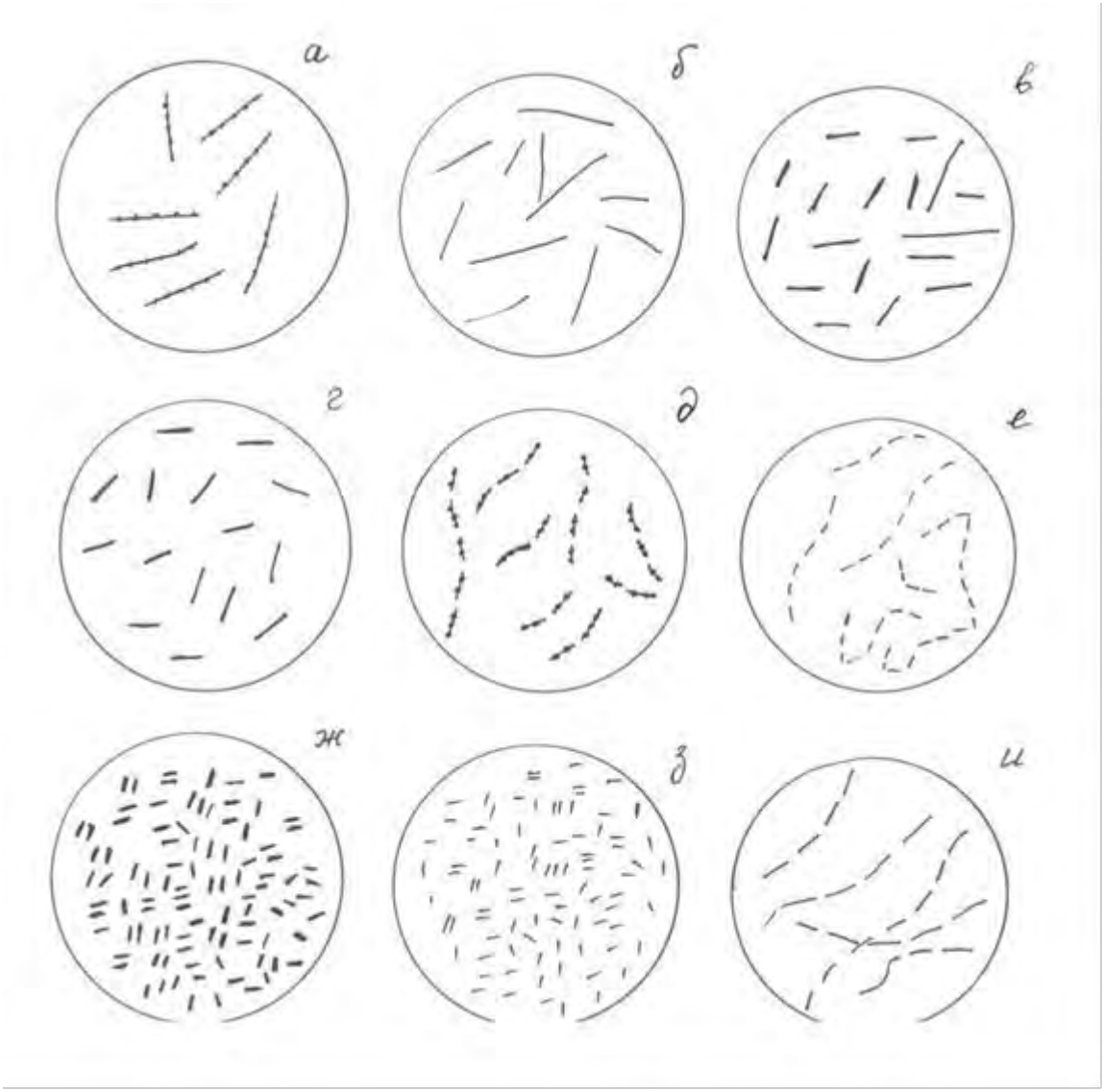


Рис. 9.2. Палочковидные молочнокислые бактерии:
а – *L. bulgaricus*; б – *L. acidophilus*; в – *L. lactis*; г– *L. helveticus*;
д – *L. rhamnosus*; е – *L. plantarum*; ж – *L. fermentum*; *з* – *L. brevis*;
и – *L. casei*

Штаммы болгарской палочки входят в состав заквасок для производства йогурта, простокваш южной, болгарской, мечниковской.

Lactobacillus acidophilus (ацидофильная палочка). Форма клеток в молоке: длинные и короткие палочки размером 3–40 мкм, толщиной 1,0–1,5 мкм (рис. 9.2, б). У некоторых штаммов так же, как и у болгарской палочки, в клетках наблюдается «зернистость». Оптимальная температура развития 37–38 °С. Молоко свертывает за 5–8 ч, предельная кислотность молока – 260–280 °Т. Некоторые штаммы образуют слизистый сгусток.

Ацидофильная палочка является нормальным представителем кишечной микрофлоры человека и теплокровных животных. Поэтому она устойчива к щелочной реакции среды (pH 8,3), наличию в среде фенола (0,3–0,4 %), желчи (20 %).

Ацидофильная палочка обладает высокой антагонистической активностью по отношению к гнилостной, условно-патогенной и патогенной микрофлоре. Она подавляет рост сальмонелл, шигелл, золотистого стафилококка, эшерихий и др. Это объясняется тем, что ацидофильная палочка синтезирует несколько бактериоцинов: ацидофилин, лактоцидин, ацидоцин В, лактоцины В и F. Поэтому *L. acidophilus* относят к ценным пробиотическим культурам.

Молочнокислые палочки данного вида применяют для приготовления ацидофилина, ацидофильного молока, детских кисломолочных продуктов.

Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis (молочнокислая палочка – *L. lactis*). По морфологическим и биохимическим признакам схожа с болгарской палочкой (рис. 9.2, в). Оптимальная температура развития 40–42 °С. Предельная кислотность молока, сквашенного *L. lactis*, составляет 160–200 °Т. Используется в производстве сыров с высокой температурой второго нагревания.

Lactobacillus helveticus (швейцарская палочка). Палочки длиной 2–6 мкм, толщиной 1,0–1,5 мкм, располагаются одиночно или короткими цепочками (рис. 9.2, г). Оптимальная температура роста 42–45 °С. Молоко свертывает за 5–6 ч, предельная кислотность 300–350 °Т. Штаммы *L. helveticus* можно выделить из сычуга телят. Данный вид используется в заквасках для сыров с высокой температурой второго нагревания.

Lactobacillus casei subsp. rhamnosus (*L. rhamnosus*) имеет вид коротких или длинных палочек толщиной 1,5 мкм, соединенных в цепочки (рис. 9.2, д). Часто обнаруживается зернистость клеток. Оптимальная температура роста около 30 °С. В отличие от *L. casei* спосо-

бен расти при температуре 45 °С, размножаться в среде с содержанием 6 %-го NaCl и 20 %-й желчи. По сравнению с мезофильными лактококками протеолитическая активность *L. rhamnosus* в 2 раза выше. Предельная кислотность в молоке 80–180 °Т. Используется в закваскахдля производства сыров: эмментальского, эдам, честер и других. Встречается в разных видах сыров в качестве сопутствующей микрофлоры.

Lactobacillus plantarum (*L. plantarum*). Палочки разной длины, соединенные в длинные и короткие цепочки (рис. 9.2, е). Оптимальная температура роста около 30 °С, предельная кислотность при развитии в молоке достигает 180 °Т. В молочной промышленности этот вид играет положительную роль при созревании сыров, так как может размножаться после сбраживания лактозы заквасочной микрофлорой и при концентрации NaCl до 6 %. Кроме того, палочка плантарум образует пероксид водорода и синтезирует бактериоцин и плантарицин – вещества, подавляющие рост маслянокислых бактерий и кишечной микрофлоры, что предотвращает развитие пороков сыров – раннее и позднее вспучивание. *L. plantarum* используется также в составе заквасок для приготовления силоса, квашеной капусты.

Lactobacillus fermentum (*L. fermentum*) – толстые короткие палочки длиной 0,5–0,9 мкм (рис. 9.2, ж).

Lactobacillus brevis. (*L. brevis*). Мелкие палочки с закругленными концами размером 0,7–1,0×2–4 мкм (рис. 9.2, з).

Lactobacillus casei subsp. casei (*L. casei*) – палочки с прямоугольными концами размером 0,7–1,1×2–4 мкм, располагающиеся чаще всего цепочками (рис. 9.2, и). Оптимальная температура роста 28–32 °С, при температуре 45 °С рост прекращается.

Lactobacillus buchneri (*L. buchneri*) **–** палочки с закругленными концами, размером 0,7–1,0×2–4 мкм.

Палочки видов *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. buchneri* относятся к группе облигатно гетероферментативных молочнокислых бактерий (бетабактерий). Они не свертывают молоко, однако при добавлении к нему дрожжевого автолизата образуют сгусток, предельная кислотность которого может достигать 150–160 °Т. Сбраживают глюкозу с образованием молочной кислоты, CO_2, этанола и незначительного количества летучих кислот. Образуют DL-изомеры молочной кислоты.

Бетабактерии участвуют в созревании сыров с низкой температурой второго нагревания, способствуя формированию рисунка и запаха сыра. Они также встречаются в строме кефирного грибка.

9.2. Бифидобактерии

Бифидобактерии включены в семейство *Actinomycetaceae*, род *Bifidobacterium*. Являются представителями нормальной микрофлоры кишечника человека и животных. Обладают высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам.

Морфология. Форма клеток – мелкие, иногда ветвящиеся палочки Y- или V- формы, прямые или изогнутые, булавовидные или лопатовидные (рис. 9.3). Микробные клетки располагаются одиночно, парами, палисадом, розетками, редко – цепочками. Размеры клеток 0,5–1,3x1,5–8 мкм. Бифидобактерии положительно красятся по Граму, не образуют эндоспор, неподвижны. Некоторые штаммы способны образовывать микрокапсулу.

Рис. 9.3. Бифидобактерии

Бифидобактерии – строгие анаэробы. Оптимальная температура их роста 36–40 °С, температурные пределы роста 20–50 °С. Оптимальное значение pH среды 6–7, при pH ниже 4,5 рост бифидобактерий приостанавливается. При сбраживании углеводов бифидобактерии образуют молочную и уксусную кислоты в соотношении 2:3. В коровьем молоке бифидобактерии размножаются медленно, поскольку оно не является естественной средой их обитания. Для культивирования бифидобактерий в лабораторных условиях используют печеночно-цистеиновую среду Блаурока или гидролизатно-молочную среду (ГМС). После лабораторного культивирования они способны

свертывать молоко через 10–12 ч. Предельная кислотность молока достигает 120–130 °Т.

Штаммы бифидобактерий используют для производства детских, лечебных и диетических кисломолочных продуктов (биойогурта, бифилакта, бифидокефира, ацидобифилина и др.).

9.3. Пропионовокислые бактерии

Пропионовокислые бактерии относят к семейству *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*. Типовой вид этого рода – *Propionibacterium freudenreichii*.

Propionibacterium freudenreichii – мелкие, неподвижные, неспорообразующие, грамположительные полиморфные палочки размером 0,5–0,8×1–5 мкм. Клетки бывают кокковидными, удлиненными, раздвоенными или разветвленными (встречаются булавовидные формы); располагаются одиночно, парами, в виде букв V или Y (рис. 9.4).

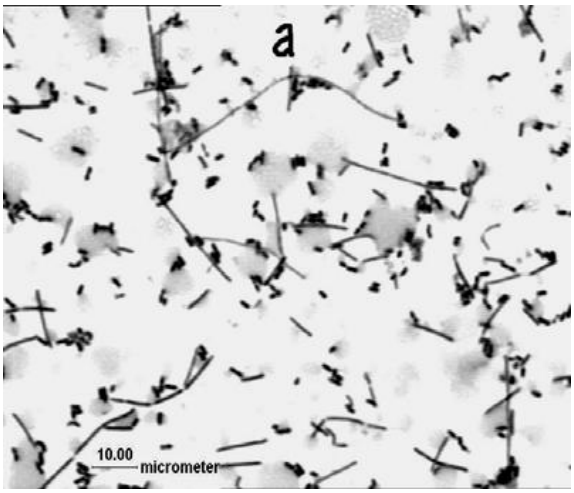


Рис. 9.4. *Propionibacteriun freudenreichii*

По отношению к кислороду воздуха – факультативные анаэробы. Максимальный рост наблюдается при оптимальной температуре 30–37 °С и значении pH около 7,0.

В молоке пропионовокислые бактерии развиваются медленно и свертывают его через 5–7 дней. Предельная кислотность молока может достигать 160–170 °Т.

Пропионовокислые бактерии используют в сыроделии при производстве сыров с высокой температурой второго нагревания.

После окончания молочнокислого брожения в сырах начинается стадия развития пропионовокислых бактерий. Последние в ходе пропионовокислого брожения накапливают пропионовую и уксусную кислоты и диоксид углерода. Летучие кислоты придают сырам специфический вкус и запах, а диоксид углерода формирует рисунок сыра.

9.4. Уксуснокислые бактерии

Уксуснокислые бактерии (ацетобактерии) относят к роду *Acetobacter*, включающему семь видов. Типовой вид – *Acetobacter aceti*. ***Acetobacter aceti*** – мелкие, прямые или изогнутые палочки размером 0,6–0,8×1,0–3,0 мкм. Встречаются также нитевидные, эллипсовидные или имеющие вздутия формы клеток. Располагаются одиночно или цепочками (рис. 9.5). Грамотрицательные, подвижные за счет перитрихиально или латерально расположенных жгутиков, эндоспор и капсул не образуют.

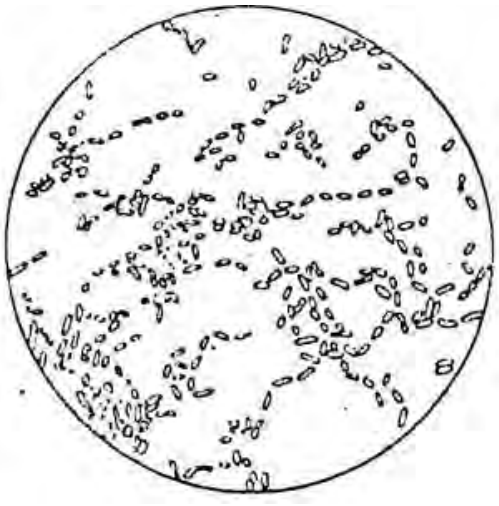


Рис. 9.5. Бактерии вида *Acetobacter aceti*

По отношению к кислороду воздуха эти бактерии являются облигатными аэробами. По типу питания они хемоорганотрофы. Окисляют этанол до уксусной кислоты, лактат и ацетат – до CO_2 и H_2O. Наилучшими источниками углерода для роста служат этанол, глицерол и лактат; лактозу и крахмал не гидролизуют.

Колонии бактерий вырастают только на поверхности питательной среды, на жидких питательных средах они образуют пленку. В молоке развиваются плохо и кислоты не образуют.

Оптимальная температура развития 30 °С, оптимум pH 5,4–6,3. Уксуснокислые бактерии входят в состав кефирных грибков, играя положительную роль в симбиозе входящих в него микроорганизмов. Однако их присутствие в сметане, твороге, простоквашах может вызвать нежелательный запах, привкус уксусной кислоты и ослизнение продукта.

Задание по теме:

1. Приготовить фиксированные окрашенные препараты разных видов молочнокислых бактерий, рассмотреть их под микроскопом с объективом 90х и зарисовать микроскопическую картину.

2. Приготовить фиксированный окрашенный препарат чистой культуры бифидобактерий, рассмотреть его под микросокопом с объективом 90х и зарисовать микроскопическую картину.

3. Рассмотреть готовые препараты пропионовокислых и уксуснокислых бактерий и зарисовать их микроскопическую картину.

Контрольные вопросы

1. На какие группы подразделяют молочнокислые палочки по типу сбраживания углеводов?

2. Как молочнокислые бактерии относятся к кислороду воздуха?

3. Каким способом молочнокислые бактерии получают энергию?

4. Какие продукты метаболизма образуются при гомо- и гетероферментативном молочнокислом брожении?

5. Какие бактериоцины синтезируют молочнокислые бактерии?

6. Охарактеризуйте морфологию бифидобактерий.

7. Дайте характеристику морфологии бифидобактерий.

8. В каких молочных продуктах используются пропионовокислые бактерии?

9. Какова роль уксуснокислых бактерий в молочных продуктах?

ТЕМА 10. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА

10.1. Микробиологический контроль зерна

Микроорганизмы зерна представлены разными видами бактерий, дрожжей, мицелиальных грибов. Среди них различают сапрофитные, фитопатогенные и патогенные для человека микроорганизмы. Микроорганизмы, размножающиеся на поверхности растений и не причиняющие им вреда, называются эпифитными.

Эпифитную микрофлору свежеубранного зерна составляют бактерии вида *Ervinia herbicola* (до 70–95 % от общего количества бактерий). В меньших количествах присутствуют бактерии вида *Pseudomonas fluorescens*. При закладке на хранение сильно запыленного зерна или собранного в жаркий сухой период существенно возрастает доля спорообразующих бактерий видов *Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *B. licheniformis*, *B. megatherium* и др. На поврежденном зерне могут присутствовать бактерии родов *Micrococcus*, *Sarcina*, *Lactobacillus*, *Proteus*.

Дрожжи, встречающиеся на поверхности зерна, относятся к родам *Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis* и не оказывают существенного влияния на качество злаков, однако при повышении влажности они способствуют самосогреванию зерна и появлению так называемого «амбарного» запаха.

Мицелиальные грибы всегда являются сопутствующей микрофлорой зерна. Их развитие приводит к уменьшению массы сухих веществ зерна и существенному снижению его качества. Среди плесневых грибов различают *полевые грибы* и *грибы хранения*.

К первой группе относятся грибы родов *Alternaria*, *Fusarium*, *Helmintosporium*. Мицелий этих грибов проникает в зародыш зерна в стадии молочной спелости и затем в эндосперм. В результате их развития образуются щуплые, пятнистые зерна с черным зародышем. Вторая группа грибов обнаруживается на хранящемся зерне и не встречается на свежеубранном. К ней принадлежат грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Thamnidium* и др.

Фитопатогенные микроорганизмы паразитируют на растениях, вызывая различные их заболевания. Мицелиальные грибы вызывают

такие заболевания зерна, как спорынья, головня, фузариоз. (Подробное описание этих возбудителей дано в учебном пособии, часть I).

Определение общего количества микроорганизмов в зерне

Отбор проб. С помощью специальных приборов – щупов отбирают точечные пробы зерна. Точечная проба – это проба зерна, отобранная от партии за один прием из одного места. Точечные пробы осматривают на предмет однородности. Если они достаточно однородны, то их смешивают, составляя объединенную пробу. Далее из объединенной пробы выделяют среднюю пробу с помощью делителя или вручную.

Проведение анализа. Из средней пробы зерна отвешивают навеску массой 10 г в стерильных чашках или бюксах и быстро их закрывают. Навеску переносят в колбу с 90 $см^3$ стерильной воды. Колбу тщательно встряхивают в течение 5 мин вручную или на специальном лабораторном аппарате. Из полученного таким образом первого разведения готовят последующие. Разведение 10^{-2} используют для определения мицелиальных грибов, а разведения 10^{-3} и 10^{-4} – для определения бактерий. Высев разведений производят параллельно в две стерильные чашки Петри глубинным способом (по 1 $см^3$ на дно пустой стерильной чашки, которую потом заливают остуженным питательным агаром) или поверхностным способом (по 0,2–0,5 $см^3$ на поверхность застывшего агара в чашке Петри). Для определения бактерий используют мясопептонный агар, а для определения дрожжей – сусло-агар или среду Сабуро. Засеянные чашки термостатируют при температуре 25–30 °С в целях определения бактерий и при температуре 22–25 °С – для определения дрожжей и мицелиальных грибов. Через 48 ч подсчитывают число выросших колоний, готовят из них микроскопические препараты для выяснения представителей доминирующей микрофлоры исследуемого зерна.

10.2. Микробиологический контроль муки

Содержание микроорганизмов в муке обычно зависит от их исходного количества в зерне, способа очистки зерна, сорта муки и условий ее хранения. В сухой муке микроорганизмы находятся в состоянии анабиоза, так как для их развития требуется наличие свободной воды. При длительном хранении муки в хороших услови-

ях общее количество микроорганизмов постепенно уменьшается за счет отмирания неспорообразующих форм бактерий. При увлажнении муки на 1–2 % выше допустимой нормы жизнедеятельность микробов восстанавливается, они начинают размножаться и мука подвергается микробиологической порче: происходит ее прокисание, прогоркание, плесневение.

Определение общего количества микроорганизмов в муке

Каждая партия муки, поступающая на предприятие, сначала подвергается органолептической оценке. В случае обнаружения постороннего плесневого запаха, кисловатого или прогорклого вкуса готовят навеску муки и определяют общее количество микроорганизмов по методике, аналогичной анализу зерна.

Определение количества спорообразующих бактерий в муке

Спорообразующие бактерии видов *Bacillus subtilis* (сенная палочка), *Bacillus licheniformis* (картофельная палочка), *Bacillis mycoides* (грибовидная палочка) и некоторые другие вызывают порчу хлебобулочных изделий из пшеничной муки, называемую картофельной болезнью. При выпечке хлеба вегетативные клетки этих бактерий погибают, а их споры сохраняют свою жизнеспособность при температуре мякиша 95–97 °С. Для определения спор бактерий в муке используют микробиологический метод или метод пробных выпечек.

Микробиологический метод. Из средней пробы муки взвешивают навеску массой 10 г и размешивают ее, затем переносят в колбу с 90 $см^3$ стерильной воды, получая таким образом разведение 10^{-1}. Подготовленную пробу тщательно перемешивают и прогревают в водяной бане с температурой 90–95 °С в течение 10 мин. Затем содержимое колбы охлаждают и приготавливают из него разведение 10^{-2}. Из разведений 10^{-1} и 10^{-2} отбирают пипеткой по 1 $см^3$ и высевают глубинным способом в чашки Петри, используя в качестве питательной среды мясопептонный агар или дрожжевой агар с 2 % сахарозы (pH среды 7,0–7,2). Чашки выдерживают в термостате при температуре 25–30 °С в течение 2–3 сут, после чего подсчитывают число выросших на них колоний. При содержании в 1 г муки менее 200 спорообразующих бактерий она считается нормальной, от 200 до 1000 – сомнительной, а свыше 1000 – сильно контаминированной этими микроорганизмами.

Метод пробных выпечек. Пшеничную муку с мая по октябрь исследуют на присутствие в ней спорообразующих бактерий. Из ис-

следуемой муки замешивают на дрожжах тесто и изготавливают из него три одинаковых по массе формовых хлебца. После выпечки хлеб охлаждают, пробные образцы заворачивают в увлажненную плотную бумагу, помещают их в эксикатор и выдерживают в термостате при температуре 37 °С. Через 24 ч первый образец вынимают из термостата, надрезают и органолептически устанавливают наличие признаков заболевания его картофельной болезнью (специфический запах, липкий мякиш, появление серебристых нитей при разламывании). Через каждые последующие 24 ч надрезают второй и третий хлебцы. При наличии признаков порчи через 72 ч мука считается доброкачественной. В случае порчи пробного хлебца через 24 ч мука сильно контаминирована спорообразующими бактериями и допускается в производство с определенными ограничениями.

10.3. Микробиологический контроль прессованных дрожжей

Микроскопирование. Качество прессованных дрожжей оценивают по величине и однородности клеток и наличию посторонних микроорганизмов в микроскопическом препарате. Одну петлю дрожжей вносят в пробирку с небольшим количеством стерильной воды и размешивают. Каплю полученной суспензии наносят на предметное стекло, смешивают с метиленовым синим, накрывают покровным стеклом и рассматривают с иммерсионным объективом. Определяют морфологическое состояние дрожжевых клеток, процент мертвых клеток, наличие клеток несовершенных дрожжей и бактерий. В хороших дрожжах количество посторонних микроорганизмов не должно превышать 10–15 %.

Определение процентного содержания дрожжей сахаромицетов и посторонних микроорганизмов

В случае снижения подъемной силы или стойкости прессованных дрожжей проводят определение их микробиологического состава и степень контаминации посторонними микроорганизмами. Для этого используют упрощенный или усложненный метод (метод ЛО ВНИИХПа).

Упрощенный метод. Готовят десятикратные разведения навески прессованных дрожжей массой 1 г (10^{-5}–10^{-7}) и высевают по 1 $см^3$ в чашки, используя в качестве питательной среды сусло-агар с мелом и нистатином для выявления кислотообразующих бактерий. После

термостатирования при температуре 30 ºС в течение 48–72 ч чашки просматривают и подсчитывают число колоний с зонами просветления на белом фоне среды. Число колоний умножают на соответствующее разведение.

Усложненный метод предусматривает посев дрожжей на несколько элективных сред для выявления разных групп вредных микробов. Схема посева по методу ЛО ВНИИХПа представлена в табл. 10.1.

Таблица 10.1

Схема посева приготовленных разведений прессованных дрожжей на элективные среды (по 0,1 см^3 в каждую чашку)

Группа микроорганизмов	Питательная среда	Разведение
Общее количество дрожжей и грибов	Сусло-агар (8 % СВ)	10^{-7}–10^{-8}
Количество несовершенных дрожжей	Синтетическая среда с лизином (см. прил. п.1.2.)	10^{-6} –10^{-8}
Общее количество бактерий	Дрожжевой агар с 4 % сахарозы и нистатином	10^{-5}–10^{-7}
Количество молочнокислых бактерий	Сусло-агар (12 % СВ) с мелом и нистатином или среда МРС (см. прил. п. 1.3) с сорбиновой кислотой	10^{-5}–10^{-7}
Количество лейконостоков	Дрожжевой агар с сахарозой и нистатином	10^{-4}–10^{-6}
Количество гнилостных бактерий	Молочный агар с нистатином	10^{-3}–10^{-5}
Количество спорообразующих бактерий	Мясопептонный агар (высев из прогретых проб)	10^{-3}–10^{-5}
Количество бактерий группы кишечных палочек	Синтетическая среда с индикатором	10^{-3}–10^{-5}

Согласно этому методу, из пробы прессованных дрожжей, взятой из середины бруска, берут навеску массой 1 г и вносят ее в колбу со 100 см^3 стерильной воды. После тщательного размешивания из полученного разведения 10^{-2} делают ряд последующих разведений (10^{-3}–10^{-8}).

Соответствующие разведения высевают в чашки Петри на указанные в табл. 10.1 питательные среды. После термостатирования чашек с посевами при оптимальной для каждой группы микроорганизмов температуре подсчитывают число выросших колоний. Общее количество колоний дрожжей сахаромицетов принимают за 100 % и определяют процентное содержание посторонних дрожжей, мицелиальных грибов, гнилостных, молочнокислых, спорообразующих бактерий и кишечных палочек.

Присутствие в дрожжах бактерий вида *Proteus vulgaris* определяют методом Шукевича – посевом капли 1-го и 2-го разведений дрожжей в конденсационную воду скошенного мясопептонного агара в пробирках. Посевы ставят в термостат с температурой 37 ºС на 24–48 ч. Палочку протея обнаруживают по тонкому полупрозрачному налету, застилающему всю поверхность агара и поднимающемуся по стенке пробирки.

В доброкачественных прессованных дрожжах допускается присутствие посторонних дрожжей не более 10 %, молочнокислых бактерий – в пределах 15–35 %, гнилостные бактерии, протеи и бактерии группы кишечной палочки не должны присутствовать.

10.4. Микробиологический контроль теста

В тесте помимо дрожжей сахаромицетов и молочнокислых бактерий, вносимых с прессованными жидкими дрожжами и заквасками, могут встречаться посторонние микроорганизмы. Их условно подразделяют на три группы:

1. Микроорганизмы сапрофиты, не влияющие на процесс брожения теста. К ним относятся микрококки и сарцины, присутствующие в муке.

2. Микроорганизмы, нарушающие нормальный ход брожения теста и ухудшающие качество готового хлеба. Это, главным образом, несовершенные дрожжи родов *Candida* (*Candida utilis*, *C. mycoderma*, *C. guilliermondi*, *C. crusei*), *Torulopsis*, а также некоторые виды бактерий – *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus coagulans*. Источниками несовершенных дрожжей являются мука, прессованные дрожжи, молочная сыворотка. Несовершенные грибы понижают мальтазную активность прессованных дрожжей, ухудшают их подъемную силу,

конкурируют за питательные вещества с бродильной микрофлорой. В ржаных заквасках, контаминированных грибами рода *Candida*, появляются неспецифический запах и горьковатый привкус. Развитие *B. coagulans* может привести к накоплению кислоты, повлению сырного запаха. *Leuconostoc mesenteroides* накапливает полисахариды, что приводит к образованию слизи в жидких заквасках с заваркой.

3. Микроорганизмы, вызывающие микробиологическую порчу готовых изделий.

Качественный состав микрофлоры теста определяют путем высева разведений проб на элективные среды аналогично методу ЛО ВНИИХПа (см. табл. 10.1). В процессе созревания теста следят за газообразующей способностью дрожжей, степенью их размножения, активностью молочнокислых бактерий.

Газообразующую способность дрожжей в тесте, мальтазную активность и осмочувствительность дрожжей определяют в микрогазометрическом приборе И.К. Елецкого.

Степень размножения дрожжей определяют в счетной камере Горяева: исследуемый материал предварительно обрабатывают по методу Гуторова раствором щелочи с последующей окраской метиленовым синим. Количество дрожжевых клеток по мере созревания теста увеличивается. Так, при замесе теста количество дрожжевых клеток в 1 г теста составляет около 70 млн, в конце процесса созревания – 112–117 млн; при использовании жидких дрожжей количество дрожжевых клеток в тесте намного меньше и составляет около 20–25 млн в 1 г.

Определение активности молочнокислых бактерий

Активность молочнокислых бактерий определяют по методу Г.М. Смирновой и М.П. Юргенсон, наблюдая за скоростью восстановления сине-зеленой краски янус-грюн или метиленового синего. Для этого 20 г теста смешивают с 40 $см^3$ воды, нагретой до температуры 40 °С. Из смеси отбирают две пробы по 10 мл. В одну пробирку (опытную) добавляют 1 $см^3$ 0,05 %-го водного раствора янус-грюн (или метиленового синего). Вторая пробирка служит контролем. Пробирки помещают в термостат с температурой 40 ºС. Активность молочнокислых бактерий определяют по времени, необходимому для обесцвечивания краски: низкая – 90–100 мин, высокая – 35–50 мин, очень высокая – 7–25 мин.

10.5. Контроль заквасок, используемых в хлебопечении

В хлебопекарной промышленности для улучшения хлебопекарных свойств и повышения качества продукции при изготовлении пшеничного и ржаного хлеба используют закваски на основе чистых культур молочнокислых бактерий или их комбинаций.

К микроорганизмам заквасок должны предъявляться следующие требования:

• они должны хорошо размножаться в мучных средах;

• должны иметь определенный уровень ферментативной активности;

• быть стабильными при непрерывном культивировании;

• обладать антагонистической активностью по отношению к технически вредной микрофлоре;

• синтезировать определенные витамины.

Микробиологический состав заквасок для производства изделий из пшеничной и ржаной муки различен, в их состав, как правило, входят различные штаммы дрожжей, молочнокислых, пропионовокислых бактерий.

Закваски для пшеничного теста

Использование заквасок в технологии хлеба из пшеничной муки позволяет предупредить развитие картофельной болезни, повысить пищевую и биологическую ценность готовых изделий, улучшить их органолептические показатели.

В табл. 10.2. приведен микробиологический состав заквасок, используемых для хлебобулочных изделий из пшеничного теста.

Таблица 10.2

Микробиологический состав заквасок для пшеничного теста

Закваска	Микробиологический состав	Соотношение штаммов	Общая кислотность, град.
Пшеничная мезофильная	*L. casei* С-1 *L. plantarum* А 63 *Saccharomyces cerevisiae* «Фр-3»		10–12
Комплексная	*L.casei* С-1 *L. brevis* В-78 *L. fermenti* 34 *P. freudenreichii ssp. shermanii* ВКМ–103 *S. cerevisie* 69	0,5 0,25 0,25 0,02 1,0	8–12

Окончание табл. 10.2

Закваска	Микробиологический состав	Соотношение штаммов	Общая кислотность, град.
Ацидофильная	*S. cerevisiae* NP17, *L. acidophilus* 146		9–12
Пропионовокислая	*P. freudenreichii ssp. schermanii* ВКМ 103	–	12–14
Витаминная	*Burella armenioka* Сб-206 *S. cerevisiae* Фр-3 *L. acidophilus* 146 *P. schermanii* ВКМ-103	1,0 1,0 0,5 0,2	7–10
Эргостериновая	*S. cerevisiae* 576 (гибрид) *L. casei* С1 *L. plantarum* 30 *L. plantarum* А 63		8–10

Пшеничная мезофильная закваска применяется с целью интенсификации процесса газообразования в тесте, сокращения продолжительности брожения, улучшения качественных показателей готовых изделий из пшеничной муки. Эту закваску готовят путем выращивания дрожжей в осахаренной заварке совместно с мезофильными молочнокислыми бактериями при температуре 28–32 °С.

Комплексная закваска рекомендуется к применению в следующих случаях: для улучшения качества изделий из муки со слабой клейковиной, для обеспечения микробиологической чистоты изделий с добавлением пшеничных отрубей, при ускоренном способе приготовления теста. Закваска готовится на водно-мучной среде при соотношении воды и муки 3:1 и температуре культивирования в пределах 30–32 °С.

Ацидофильная закваска применяется для улучшения качества изделий из муки с крепкой и крошащейся клейковиной, в ускоренных технологиях приготовления теста, в производстве сдобных изделий с высоким содержанием сахара и жира.

Пропионовокислая закваска используется с целью предупреждения развития картофельной болезни и плесневения хлеба. Входящие в состав закваски пропионовокислые бактерии обладают способностью синтезировать витамин B_{12}, который принимает участие в процессе кроветворения.

Витаминная закваска рекомендуется для улучшения качества изделий из муки со слабой клейковиной, а также для повышения

биологической ценности хлебобулочных изделий за счет обогащения продукта β-каротином, который синтезируют дрожжи *Burella armenioka* Сб-206. Закваску готовят на мучной осахаренной заварке влажностью 82–85 % при температуре 22–25 °С в течение 5–6 ч.

Эргостериновая закваска позволяет повысить биологическую ценность готовых изделий за счет увеличения содержания в них эргостерина (до 0,2–0,3 мг/100 г), синтезируемого гибридным штаммом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 576. Закваску готовят путем совместного культивирования дрожжей и молочнокислых бактерий при температуре 30–32 °С с циклическим отбором и возобновлением через каждые 4 ч. Применение эргостериновых заквасок рекомендуется в экологически неблагополучных регионах.

Закваски для ржаного теста

При приготовлении ржаного теста в начале процесса необходимо вносить в том или ином виде специфические кислотообразующие бактерии и дрожжи в необходимом соотношении. Необходимое соотношение дрожжей и кислотообразующих бактерий достигается приготовлением ржаного теста на различных заквасках.

Тесто для ржаного хлеба можно готовить на:

• густой закваске;

• жидкой закваске без заварки;

• жидкой закваске с заваркой;

• концентрированной бездрожжевой молочнокислой закваске (КМКЗ).

Густая закваска используется для приготовления теста из ржаной обойной и обдирной муки, а также из смеси разных сортов ржаной и пшеничной муки. Густая закваска должна иметь влажность 48–50 %, подъемную силу до 25 мин, кислотность 13–14 град, если готовится из ржаной обойной муки или 11–14 град – из ржаной обдирной муки. Закваску готовят на чистых культурах молочнокислых бактерий: *Lactobacillus plantarum* 63, *L. brevis* 5, *L. brevis* 78 в сочетании со штаммом дрожжей *Candida milleri* «Чернореченский», выращенным на солодовом сусле. Для выведения густой закваски используют также лактобактерин, представляющий собой высушенную сублимационным методом биомассу смеси вышеуказанных штаммов молочнокислых бактерий и чистую культуру дрожжей *Candida milleri* «Чернореченский» в виде смыва с поверхности скошенного сусло-агара. При выведении густой закваски с небольшой массой (до 5 кг)

три дозы сухого лактобактерина разводят в 30 $см^3$ стерильной воды с предварительной активацией в течение 3–4 ч при температуре 33–35 °С в питательной смеси из 0,45 кг муки и 0,5 $дм^3$ воды. Активированный лактобактерин тщательно смешивают с суспензией дрожжей (10 $см^3$), смытой из пробирки со скошенным сусло-агаром, или с суспензией прессованных дрожжей (1 г в 10 $см^3$ воды). Микроорганизмы вносят в питательную смесь из 1,8 кг муки и 2,19 $дм^3$ воды для получения 5 кг закваски I фазы, затем II и III фаз разводочного цикла с соблюдением технологических параметров. Выброженную закваску III фазы переносят в дежу и накапливают до нужного количества путем освежений.

Жидкая закваска без заварки используется для приготовления теста из ржаной и смеси разных сортов ржаной и пшеничной муки. Эта закваска должна иметь влажность 70–75 %, кислотность 9–13 град при подъемной силе до 35 мин. Технология закваски подразделяется на два цикла – многоступенчатый разводочный и производственный. В разводочном цикле жидкую закваску выводят с применением смеси чистых культур дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Л-1 и *Candida milleri* «Чернореченский» в сочетании со смесью жидких культур *Lactobacillus plantarum* 30, *L. rhamnosus* 26, *L. brevis* 1, *L. fermentum* 34 или сухого лактобактерина для жидких хлебных заквасок из смеси этих же штаммов. Выведение жидкой закваски можно начинать с большой массы непосредственно в цехе или с небольшой массы (5 кг в I фазе) в лаборатории.

В разводочном цикле закваску готовят на водно-мучной среде при соотношении ржаной муки и воды 35:60. Температура брожения поддерживается в пределах 28–30 °С; продолжительность процесса составляет 2,5–3 ч, конечная кислотность закваски – 8,0–8,4 град, подъемная сила – 30–35 мин. В этом цикле вместо жидких культур молочнокислых бактерий можно использовать сухой лактобактерин для жидких заквасок. В производственном цикле часть закваски используется для приготовления ржаного теста, а оставшуюся часть направляют для производства новой порции закваски. Далее в производственном цикле используется полунепрерывный способ культивирования микроорганизмов закваски, при котором через каждые 3–4 ч отбирают определенный объем закваски с кислотностью 9–13 град и добавляют такой же объем свежей питательной среды.

Жидкая закваски с заваркой. Технология этой закваски отличается от технологии жидкой закваски без заварки тем, что для ее разведения готовят питательную смесь из муки и заварки, затем в нее вносят вышеуказанные культуры микроорганизмов и после перемешивания оставляют для брожения на 7–9 ч до достижения кислотности 7–9 град. Разводочный цикл состоит из трех фаз, после чего следует производственный цикл приготовления закваски. Готовая закваска с заваркой должна иметь влажность 80–85 %, кислотность 9–12 град, подъемную силу до 30 мин.

Концентрированная молочнокислая закваска (КМКЗ) готовится в разводочном цикле с применением смеси штаммов молочнокислых бактерий: *L. plantarum* 30, *L. rhamnosus* 26, *L. brevis* 1, *L. fermentum* 34 или сухого лактобактерина для жидких ржаных заквасок. Закваска должна иметь влажность 60–70 %, температуру 37–41 °С, кислотность 18–24 град. Тесто готовят в две стадии (КМКЗ → тесто) или в три стадии (КМКЗ → опара → тесто). При замесе теста на КМКЗ в качестве биологических разрыхлителей используют прессованные или жидкие дрожжи. Приготовление теста на концентрированной молочнокислой бездрожжевой закваске рекомендуется для предприятий с двухсменным режимом работы или для малых пекарен, вырабатывающих хлеб из ржаной муки или смеси разных сортов ржаной и пшеничной муки всего несколько часов в сутки.

10.6. Микробиологический контроль хлебобулочных изделий

Обнаружение контаминации поверхности хлеба бактериями кишечной палочки (БГКП). На поверхность хлеба накладывают стерильный трафарет размером (10×10 см) и внутреннюю поверхность квадрата протирают ватным тампоном, смоченным в стерильной воде. Тампон помещают в пробирку со стерильной водой, из которой делают высев на поверхность среды Эндо в чашке Петри. Наличие БГКП на поверхности хлеба не допускается.

Определение спорообразующих бактерий в хлебе. Из мякиша пшеничного хлеба стерильным ланцетом вырезают кусочек массой 10–20 г, помещают его в стерильную колбу, заливают 100 $см^3$ стерильной воды и в течение 5 мин тщательно встряхивают. Из полученной взвеси готовят десятикратные разведения (10^{-1}–10^{-3}), после

чего по 1 $см^3$ каждого разведения высевают в пробирки с мясопептонным бульоном. Посевы выдерживают в термостате при температуре 37±1 °С в течение 48 ч.

Изделия из пшеничного теста режут на ломти толщиной 2–3 см, раскладывают их в чашки Петри и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,15 МПа в течение 20 мин. После охлаждения на поверхность ломтей наносят по 10 $см^3$ культуры микроорганизмов, выросших в мясопептонном бульоне. Чашки с ломтями помещают в эксикаторы, на дно которых наливают воду и ставят их на двое суток в термостат с температурой 37±1 °С. При наличии в исследуемом хлебе аэробных спорообразующих бактерий наблюдается ослизнение и потемнение ломтей и присутствие специфического запаха. Оценку хлеба производят следующим образом: хлеб с титром 10^{-1} контаминирован спорообразующими бактериями слабо; с титром 10^{-2} – средне; с титром 10^{-3} – сильно.

Задание по теме:

1. Провести определение общего количества микроорганизмов в зерне и в муке.
2. Провести определение спорообразующих бактерий в муке микробиологическим методом.
3. Провести микробиологический контроль прессованных дрожжей.
4. Подсчитать в камере Горяева число мертвых и почкующихся клеток в прессованных дрожжах.
5. Определить степень размножения дрожжей в тесте путем подсчета их клеток в камере Горяева.
6. Определить активность молочнокислых бактерий в тесте методом Смирновой и Юргенсон.
7. Ознакомиться с закваскими, применяемыми в хлебопечении, рассмотреть их микроскопические препараты.

Контрольные вопросы

1. Перечислите виды бактерий – представителей эпифитной микрофлоры зерна.
2. Какие мицелиальные грибы относят к полевым грибам зерна, а какие к грибам хранения?

3. Какие методы используются для определения спор бактерий в муке?

4. Какие посторонние микроорганизмы выявляют в прессованных дрожжах?

5. Какие показатели используют для микробиологического контроля теста?

6. Какие требования предъявляются к закваскам для хлеба?

7. Назовите закваски для пшеничного теста и их видовой состав.

8. Назовите закваски для ржаного теста и их видовой состав.

9. Как проводят микробиологический контроль готовых хлебобулочных изделий?

ТЕМА 11. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КОНДИТЕРСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

11.1. Микрофлора сырья, используемого в кондитерском производстве

Основными источниками контаминации кондитерских изделий микроорганизмами являются сырье и полуфабрикаты. В кондитерском производстве используют разнообразное сырье: молоко цельное и сгущенное, сливки, сливочное масло, творог, маргарин, муку, яйца, меланж, яичный порошок, сахар-песок, фруктово-ягодные полуфабрикаты, какао-бобы, орехи, масличные семена и др. Микроорганизмы в кондитерском производстве играют отрицательную роль, за исключением дрожжей сахаромицетов, используемых для приготовления кексов, галет, сдобных булочек. Все сырье исследуют на микробиологическую обсемененность по основным показателям, приведенным в табл. 11.1. От этих показателей зависит стойкость кондитерских изделий при хранении и безопасность при употреблении в пищу.

Видовой состав микрофлоры сырья и полуфабрикатов весьма разнообразен.

В пастеризованном молоке и сливках могут присутствовать молочнокислые бактерии (МКБ): лактококки (*Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lac. lactis ssp. cremoris*), стрептококки (*Streptococcus thermophilus*), энтерококки (*Enterococcus faecalis*), лактобациллы (*Lactobacillus delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*) и некоторые другие. Их размножение может привести к появлению кисловатого привкуса в готовом продукте. Кроме МКБ, в молочных продуктах обнаруживаются

гнилостные бактерии как неспорообразующие (*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*), так и спорообразующие (*Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *B. cereus*, *B. polymyxa*). Гнилостные бактерии вызывают глубокий протеолиз белков молока с образованием горьких продуктов распада, появлением неприятного вкуса и запаха, выделением газов.

В сгущенном молоке обнаруживаются осмотолерантные микрококки, которые обладают активными липазами, расщепляющими молочный жир с образованием жирных кислот, придающих продукту прогорклый привкус, а также протеазами, которые расщепляют белок, вызывая появление сырного вкуса. Сгущенное молоко может быть контаминировано мицелиальными грибами видов *Penicillium glaucum Catenularia fuligimea.* Последние образуют на поверхности продукта комочки шоколадно-коричневого цвета, так называемые «пуговицы».

Таблица 11.1

Микробиологические показатели, по которым контролируют сырье, используемое в кондитерском производстве

Продукт, группа продуктов	КМАФАнМ КОЕ/г, не более	Масса продукта (см^3, г), в которой не допускаются				Дрожжи и плесени, не более КОЕ/г
		БГКП	Патогенные, в том числе сальмонеллы	*S. aureus*	*L. monocytogenes*	
Молоко, сливки пастеризованные	1×10^5–2×10^5	0,01	25	1,0	25	–
Молоко сгущенное с сахаром	2×10^4–4×10^4	1,0	25	–	–	–
Молоко, сливки сухие	5×10^4	0,1	25	1,0	–	–
Масло сладкосливочное	1×10^5	0,01	25	0,1	25	100 в сумме
Маргарин	1×10^5	0,01	25	–	–	Др. – 5×10^2; Пл. – 50
Яйцо куриное столовое	1×10^3	0,01	25	–	–	–
Меланж	5×10^5	0,1	25	1,0	–	–
Яичный порошок	1×10^5	0,1	25	1,0	–	–
Какао порошок	1×10^5	0,01	25	–	–	–
Сахар песок	1×10^3	1,0	25	–	–	Др. – 10 Пл. – 10
Крахмал	1×10^4	0,01	25	–	–	–

Масло сладкосливочное не является благоприятной средой для развития микроорганизмов, так как содержит незначительное количество свободной воды, а молочный жир малодоступен для большинства бактерий, кроме липолитических. Микроорганизмы могут размножаться лишь в плазме масла. Количество плазмы в масле незначительно, она распределена в нем в виде мелких капель, размеры которых зависят от степени вработки ее в пласт масла. Размеры капель составляют от 1 до 10 мкм. Развитие микроорганизмов может происходить лишь в сравнительно крупных каплях. В каплях плазмы, размер которых менее 1 мкм, микроорганизмы не размножаются. Посторонняя микрофлора сладкосливочного масла может быть представлена психротрофными бактериями родов *Pseudomonas*, *Achromobacter*, энтерококками, спорообразующими аэробными бациллами. В масле обнаруживаются также дрожжи рода *Candida* и мицелиальные грибы: на поверхности – *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, в глубинных слоях – *Cladosporium herbarum*.

Сахар-песок обычно контаминирован спорами мезофильных (*Bacillus subtilis*, *B. megarherium*, *B. licheniformis*) и термофильных бактерий (*B. stearothermophilus*, *Clostridium thermosaccharolyticum*), осмофильными дрожжами, слизеобразующими молочнокислыми бактериями (*Leuconostoc mesenteroides* и *Leuc. dextranicum*), спорами мицелиальных грибов (*Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Penicillium glaucum*, *Rhizopus nigricans*). При влажности сахара-песка менее 0,15 % количество микроорганизмов в нем невелико – от 10^1 до 10^3 КОЕ/г. При повышении влажности продукта, например, до 1,3 % число микроорганизмов может возрасти до 10^4 КОЕ/г.

В табл. 11.2 представлены критерии микробиологической безопасности некоторых кондитерских изделий.

Таблица 11.2

Микробиологические показатели кондитерских изделий

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой не допускаются			Дрожжи, КОЕ/г, не более	Плесени, КОЕ/г, не более
		БГКП	*S. aureus*	Патогенные, в том числе сальмонеллы		
Торты и пирожные с отделками:						
с сливочным кремом	5×10^4	0,01	0,01	25	100	50
белковосбивной	1×10^4	0,01	0,01	25	50	150
фруктовоягодной	1×10^4	0,01	0,1	25	50	50
заварным кремом	1×10^4	0,01	1,0	25	10	10

Окончание табл. 11.2

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой не допускаются			Дрожжи, КОЕ/г, не более	Плесени, КОЕ/г, не более
		БГКП	*S. aureus*	Патогенные, в том числе сальмонеллы		
Шоколад	5×10^4	0,1	–	25	50	50
Конфеты глазированные	5×10^4	1,0	–	25	50	50
Рулеты бисквитные	1×10^4	1,0	1,0	25	50	100
Печенье с начинкой	1×10^4	0,1	0,1	25	50	100

11.2. Микробиологический контроль сахара-песка

Отбор проб. Пробы сахара отбирают в полиэтиленовые пакеты или в стерильные стеклянные банки с притертыми крышками щупом, изготовленным из нержавеющей стали. В тканевые мешки с сахаром, попавшие в выборку, щуп вводят непосредственно через ткань мешка и отбирают пробу из двух разных мест. В мешки с сахаром, расфасованным в полиэтиленовые или бумажные мешки, щуп вводят после их расшивания при соблюдении условий, исключающих вторичную контаминацию из внешней среды. Масса точечной пробы должна составлять не менее 25 г. Точечные пробы объединяют в одну (масса объединенной пробы должна быть не менее 1 кг), тщательно перемешивают и делят на две части. Одну пробу передают в лабораторию для исследований, а вторую оставляют для повторного испытания в случае разногласий при оценке качества сахара.

В лаборатории полиэтиленовые пакеты перемешивают, переворачивая их или вращая круговыми движениями. Пакеты вскрывают профламбированными ножницами. После вскрытия пакета или банки сахар перемешивают стерильной ложкой или шпателем и немедленно отбирают навеску поблизости от горелки. В сахаре определяют КМАФАнМ, термофильные бактерии, а также количество дрожжей и плесеней.

Определение КМАФАнМ. Готовят серию десятикратных разведений (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} и т.д.). Для этого берут навеску сахара массой

10 г с точностью до второго десятичного знака и переносят ее в колбу с 90 $см^3$ стерильной воды, взбалтывают до полного растворения и получают первое развдение (10^{-1}). Следующие разведения готовят, перенося стерильной пипеткой по 1 $см^3$ в пробирки с 9 $см^3$ стерильной воды. Из приготовленных разведений отбирают по 1 $см^3$ исследуемого раствора сахара и вносят в две пустые стерильные чашки Петри параллельно для каждого разведения. Чашки не позднее чем через 15 мин заливают расплавленным и охлажденным до 45 °С МПА и осторожно перемешивают на столе круговыми движениями. После застывания агара чашки помещают в термостат с температурой 30±1 °С, инкубируют в течение 72 ч. После инкубации колонии подсчитывают в каждом из параллельных посевов одного разведения. По результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое значение количества колоний во всех посевах.

Если колоний немного, то их количество считают во всей чашке, отмечая каждую подсчитанную колонию. При обильном росте дно чашки Петри делят на 4 или 8 секторов, подсчитывают число колоний в одном секторе, а затем делают пересчет на всю чашку.

Определение термофильных бацилл. Из каждой отобранной пробы навеску сахара в количестве 20 г помещают в стерильную мерную колбу емкостью 250 $см^3$ и заливают ее стерильной водой, доводя объем раствора до 100 $см^3$. Раствор быстро доводят до кипения, кипятят в течение 5 мин, доводят стерильной водой до метки 100 $см^3$ и охлаждают. Для определения термофильных бацилл (*B. Thermoliquefaciens*, *B. stearothermophilus*, *B. aerothermophilus*) питательной средой является МПА с добавлением 1 %-й глюкозы и 0,004 %-й бромкрезола пурпурного.

Из подготовленного сахарного раствора стерильной пипеткой отбирают 2 $см^3$, выливают в стерильную чашку Петри и заливают расплавленной и охлажденной до 45 °С питательной средой. После застывания агара чашки Петри выдерживают в термостате с температурой 55 °С в течение 36–48 ч. Изменение окраски среды от фиолетовой до желтой или появление желтых ореолов вокруг колоний указывает на присутствие в сахаре-песке спор термофильных бацилл.

Определение дрожжей и плесневых грибов. Из приготовленных разведений стерильной пипеткой отбирают по 1 $см^3$ исследуемого раствора сахара и вносят параллельно в две пустые стерильные чашки Петри. Чашки заливают расплавленным сусло-агаром с темпе-

ратурой около 45 °С. Содержимое чашек перемешивают круговыми движениями и после застывания агара помещают вверх дном в термостат с температурой 24–30 °С на 120 ч. После инкубации проводят подсчет выросших колоний.

11.3. Микробиологический контроль готовых кремовых изделий

Крем используется для изготовления тортов и пирожных. Обычно изготавливают сливочный, белковый, заварной кремы. Сливочные кремы разделяют на четыре основные группы: сливочный основной, «Шарлотт», «Гляссе» и сливочно-сметанный. Появился также крем «Новый», состоящий из сливочного масла и молочно-сахарного сиропа в соотношении 1:1,2. Наиболее микробиологически устойчивым являются сливочный крем, содержащий мало влаги и много сахара в жидкой фазе, и крем «Новый». Наименее микробиологически устойчивыми являются крем «Шарлотт» (из-за повышенного содержания влаги, наличия яиц и молока) и заварной крем. В состав заварного крема входит мука, богатая разнообразной микрофлорой. Чаще всего заварной крем подвергается молочнокислому закисанию.

Химический состав кремов благоприятен для размножения многих микроорганизмов, поэтому срок хранения изделий с кремом строго ограничен. Источниками контаминации крема могут быть сырье (молоко, сливки, сахар, масло, яйца), оборудование и инвентарь, руки и одежда обслуживающего персонала, а также грызуны и мухи. В образцах крема обнаружены бактерии группы кишечной палочки, гнилостные неспорообразующие бактерии, спорообразующие палочки, молочнокислые бактерии, микрококки, дрожжи. Присутствие патогенных стафилококков (*S. aureus*) в креме особенно опасно, так как в результате их жизнедеятельности образуется энтеротоксин, вызывающий пищевые отравления.

Крем анализируют путем микроскопирования и чашечным методом для определения КМАФАнМ.

Микроскопирование. Крем подогревают на водяной бане при температуре 40–45 °С. Из расплавленной фракции готовят тонкий мазок, который обезжиривают смесью спирта и эфира (1:1), окрашивают по Граму и рассматривают с объективом 90×. Особое внимание

уделяют присутствию грамположительных кокков и грамотрицательных палочек.

Определение КМАФАнМ. Из расплавленного в теплой воде крема готовят разведения (10^{-1}–10^{-3}). Из указанных разведений высевают по 1 $см^3$ в две параллельные чашки Петри и заливают их расплавленным МПА с температурой не выше 45 °С. Чашки выдерживают в термостате с температурой 37±1 °С в течение 24–48 ч, после чего подсчитывают число выросших колоний.

При обнаружении на чашках подозрительных колоний образцы крема высевают на дифференциально-диагностические среды, например, стафилококки на желточно-солевой или молочно-солевой агар.

Определение БГКП. Образцы крема и их разведения засевают в пробирки с поплавками, заполненные средой Кесслера. Пробирки ставят в термостат с температурой 37±1 °С на 24 ч. После инкубации отмечают пробирки, в поплавках которых появился пузырек газа. БГКП не допускаются в 0,01 $см^3$ крема.

Задание по теме:

1. Ознакомиться с микроорганизмами – контаминантами сырья, используемого в кондитерской промышленности.

2. Определить КМАФАнМ сахара-песка.

3. Провести микробиологический анализ кондитерских изделий.

Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы чаще всего встречаются в цельном молоке, сливках, сгущенном молоке, сладкосливочном масле?

2. Какие виды крема являются более устойчивыми к микробиологической порче?

3. Какие группы микроорганизмов определяют в изделиях с кремом?

4. Какие микроорганизмы чаще всего контаминируют сахар-песок?

5. Как определяют в сахаре термофильные бактерии?

6. По каким показателям осуществляют санитарно-микробиологический контроль кондитерских изделий с кремом?

ТЕМА 12. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПИВОВАРЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

12.1. Посторонние микроорганизмы в пивоварении

В пивном сусле и пиве способны размножаться лишь определенные виды микроорганизмов, приспособившиеся к специфическим условиям пивоваренного производства. Основными контаминантами засевных дрожжей, сусла и пива являются: грамположительные бактерии родов *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Streptococcus*, *Kocuria* и грамотрицательные бактерии родов *Acetobacter*, *Zymomonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Obesumbacterium*. Кроме бактерий вредителями пивоваренного производства являются дикие дрожжи (их подробная характеристика дана в учебном пособии «Общая и пищевая микробиология», 2016, часть I).

Бактерии рода *Lactobacillus* попадают в пиво с суслом, засевными дрожжами, недостаточно чистой водой. Наиболее часто в пиве встречаются лактобациллы видов ***L. brevis*** (толерантный к хмелю), ***L. diastaticus*** (обладающий активными амилазами и ответственный за гидролиз декстринов в пиве), а также *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. coryneformis*, *L. buchneri.*

Порча пива, вызываемая лактобациллами, характеризуется появлением «шелковистого помутнения», иногда перед этим появляется маслянистый запах диацетила. Образующаяся при брожении молочная кислота придает пиву кислый вкус.

Молочнокислые бактерии рода ***Pediococcus*** (ранее их называли пивными сарцинами из-за расположения кокков в виде тетрад) образуют в пиве опалесцирующую муть, мелкозернистый осадок, неприятный вкус и медовый запах. Среди педиококков в пиве доминирует вид *Pediococcus damnosus*, который наиболее стоек к антисептическому действию хмеля. В результате размножения педиококков может увеличиться вязкость пива, при этом за образование слизи ответственны педиококки вида *P. acidilactici*, образующие сложные внеклеточные гетерополисахариды, в состав которых входят глюкоза, манноза и нуклеиновая кислота.

Гетероферментативные молочнокислые бактерии рода ***Leuconostoc*** редко встречаются на пивоваренных предприятиях. Выделен-

ный из пива вид *Leuc. mesenteroides* способен вызывать ослизнение пива за счет биосинтеза полисахарида декстрана.

Бактерии родов *Micrococcus*, *Sarcina*, *Streptococcus*, *Kocuria* широко распространены на пивоваренных предприятиях и в отдельных случаях могут привести к порче пива. Многие виды этих микроорганизмов способны выживать в пиве в течение длительного времени.

Некоторые виды микрококков, обнаруживаемые в пивоварении, относят к роду ***Kocuria.*** В частности, *Kocuria kristinae* – анаэробный грамположительный микрококк, характеризующийся кисло- и хмелеустойчивостью. Некоторые штаммы этого вида микрококков в анаэробных условиях могут привести к появлению фруктового аромата и неспецифического вкуса пива.

Уксуснокислые бактерии традиционно подразделяют на роды ***Acetobacter*** и ***Gluconobacter***. Это важная группа грамотрицательных палочек, способных в аэробных условиях окислять спирт в уксусную кислоту. Они попадают в пиво из сусла с засевными дрожжами. *Acetobacter aceti* и *Gluconobacter oxydans* характеризуются стойкостью к антисептическому действию хмеля, толерантны к этиловому спирту и кислой среде. Уксуснокислые бактерии портят пиво, придавая ему кислый вкус, посторонние привкусы и ароматы, вызывают появление мути и образование слизи.

Род ***Zymomonas***. В род *Zymomonas* входит лишь один вид – *Zymomonas mobilis*. Клетки бактерий этого вида представляют собой короткие толстые палочки размером 1,0–1,4×2,0–6,0 мкм, грамотрицательные. Располагаются преимущественно парами, некоторые штаммы способны образовывать цепочки, розетки, у многих штаммов наблюдаются нитевидные (гифоподобные) клетки. Большинство штаммов неподвижны; клетки подвижных штаммов имеют от одного до четырех полярных жгутиков. Характерной особенностью бактерий рода *Zymomonas* является интенсивное сбраживание глюкозы и фруктозы по пути Энтнера–Дудорова с образованием спирта и диоксида углерода. Кроме того, в небольших количествах накапливаются уксусная и молочная кислоты, ацетальдегид, ацетон, глицерин. Около половины штаммов *Zymomonas* может размножаться при концентрации этанола в среде до 10 % об., а штамм *Z. mobilis* BS057 выдерживает концентрацию этанола 12–13 % об., которая достигается в процессе высокоплотного пивоварения. Пиво, контаминированное *Zymomonas,* имеет привкус гнилых яблок или фруктов.

Бактерии семейства ***Enterobacteriaceae***. В данное семейство входит более 30 родов, из которых на пивоваренных предприятиях встречаются следующие: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Obesumbacterium*, *Rhanella* и *Serratia.*

Obesumbacterium proteus по своим свойствам близок к *Hafnia alvei* и, таким образом, входит в семейство *Enterobacteriaceae*. *O. proteus* часто обнаруживают в засевных дрожжах в виде коротких толстых палочек. Этот вид хорошо растет в охмеленном и неохмеленном сусле, толерантен к этанолу и может размножаться в широком диапазоне pH – от 4,4 до 9,0. В ходе брожения он размножается вместе с культурными дрожжами и тормозит процесс ферментации. В результате его жизнедеятельности в пиве возрастает содержание метилсульфида, диметилсульфида, *n*-пропанола, изобутанола, бутандиола и диацетила. Пиво, приготовленное с применением засевных дрожжей, контаминированных *O. proteus*, имеет побочный вкус и аромат пастернака и фруктов.

Rhanella aquatilis переименован из вида *Enterobacter agglomerans*. Его клетки имеют вид палочек размером 0,5–0,7×2,0–3,0 мкм. Подвижны при температуре 25 °С, но при 37 °С их подвижность снижается. *Rhanella aquatilis* сбраживает глюкозу с образованием кислоты и газа. Хорошо размножается в охмеленном и неохмеленном сусле и аккумулируется в повторно используемых дрожжах.

Пиво, контаминированное *Rhanella aquatilis*, содержит ненормально высокий уровень диацетила (до 0,7 мг/дм^3) и диметилсульфида (до 143 мкг/дм^3). Напиток имеет побочный фруктовый, молочный и сернистый вкус и аромат.

Кроме аэробных и факультативно анаэробных бактерий, вызывающих порчу пива, микробиологами пивоваренных производств были обнаружены и строго анаэробные бактерии: *Pectinatus cerevisiiphilus* и *P. frisingensis*, *Selenomonas lacticifex*, *Zymophilus raffinovorans*, *Megasphaera cerevisiae.*

Pectinatus cerevisiiphilus. Клетки имеют вид слегка изогнутых палочек размером 0,7–0,9×3–30 мкм с закругленными концами. Подвижны за счет жгутиков, расположенных в виде гребешка на вогнутой стороне клетки. Грамотрицательны, эндоспор не образуют. Строгий анаэроб. Оптимальная температура роста около 30 °С. Сбраживает сахара с образованием уксусной, пропионовой и в небольших количествах молочной и янтарной кислот. Колонии на агаризованной

среде круглые, плотные, белого или светло-бежевого цвета, блестящие, непрозрачные.

В пиве, контаминированном бактериями рода *Pectinatus*, содержится большое количество сероводорода, придающего напитку запах тухлых яиц.

Selenomonas lacticifex. Клетки штаммов этого вида представляют собой изогнутые палочки размером 0,9–1,1×3,0–6,0 мкм, часто с зауженными концами, располагаются парами или короткими цепочками. Обладают подвижностью кувыркательного типа за счет наличия жгутиков (до 16 шт.), расположенных в виде пучка на вогнутой стороне клетки. Грамотрицательны, не образуют эндоспор. Строгие анаэробы. Глюкозу сбраживают с образованием уксусной и пропионовой кислот, диоксида углерода и/или молочной кислоты. Колонии, выросшие на модифицированном MRS-агаре, округлой формы, диаметром 2–3 мм, гладкие, непрозрачные, желтоватого цвета.

Zymophilus raffinovorans. Клетки этого микроорганизма имеют вид прямых или слегка изогнутых грамотрицательных палочек размером 0,7–0,9×3,0–15 мкм. Подвижны, хотя в процессе нескольких пассажей подвижность может быть утрачена. Строгий анаэроб. На среде MRS вырастают округлые, гладкие непрозрачные колонии размером 1–2 мм, желтоватого цвета. Глюкозу сбраживают с образованием уксусной и пропионовой кислот, иногда молочной в следовых количествах.

Megasphaera cerevisiae. Клетки данного вида имеют вид удлиненных кокков диаметром 1,3–1,6 мкм, располагаются парами или иногда в цепочках. Грамотрицательные, неподвижные, не образуют эндоспор. Строгие анаэробы, каталазо- и оксидазоотрицательные. Оптимальная температура роста 28 °С. В пиве штаммы *Megasphaera* продуцируют значительное количество масляной кислоты, в меньших количествах уксусную, изовалериановую, валериановую, копроновую кислоты и ацетоин. При контаминации пива бактериями рода *Megasphaera* в нем появляются неприятный запах и помутнение. Штаммы *Megasphaera cerevisiae* чувствительны к этиловому спирту, поэтому они встречаются преимущественно в слабоалкогольном непастеризованном пиве.

12.2. Контроль качества засевных дрожжей

Основными показателями качества засевных дрожжей являются морфологическое состояние клеток, биологическая чистота и физиологические свойства.

Отбор пробы. Пробу промытых, хорошо размешанных засевных дрожжей отбирают в стерильную колбочку чистой стеклянной трубочкой, опуская ее до дна ванночки. Колбочку сразу же закрывают ватной пробкой и подписывают штамм дрожжей и их генерацию.

Морфологическое состояние клеток определяют путем микроскопирования. Клетки должны быть одинакового размера, иметь тонкую оболочку, однородную или мелкозернистую цитоплазму с небольшими вакуолями. Наличие значительного количества морфологически измененных клеток, особенно в сочетании с пониженной бродильной активностью, свидетельствует о дегенерации культуры дрожжей. Если в препарате отсутствуют почкующиеся клетки, дрожжи имеют зернистую цитоплазму, крупные вакуоли, то это свидетельствует о том, что культура старая.

Определение биологической чистоты дрожжей. На предметное стекло наносят каплю 10 %-го раствора KOH или 50 %-й уксусной кислоты и вносят в нее каплю исследуемой дрожжевой суспензии. Это способствует расщеплению белков и жировых частиц и облегчает просмотр препарата. В поле зрения должно быть не более 50 клеток. Просматривают около 20 полей зрения, среди культурных дрожжей отмечают отличающиеся от них клетки диких дрожжей и бактерии (палочки, кокки, педиококки). Пригодными для производства считают засевные дрожжи, содержащие не более 0,5 % диких дрожжей и не более 1 % бактерий.

Количество бактерий в засевных дрожжах можно определить чашечным методом путем посева соответствующих разведений (10^{-1}; 10^{-2}; 10^{-3} и т.д.) на сусло-агар, дрожжевой агар, содержащий 1 % глюкозы, 1 % мела и антибиотик (нистатин или актидион).

Для обнаружения диких дрожжей используют питательные среды, содержащие вещества, ингибирующие рост культурных дрожжей. Дикие дрожжи, относящиеся к роду *Saccharomyces*, высевают на среду с кристаллвиолетом. Дикие дрожжи, не относящиеся к роду *Saccharomyces*, определяют посевом разведений на синтетическую среду с лизином.

Физиологическое состояние дрожжей определяют по содержанию в них гликогена. Одну каплю суспензии дрожжей наносят на предметное стекло, вносят в нее расттвор йода и накрывают сверху покровным стеклом. Через 5–6 мин препарат рассматривают под микроскопом. В упитанных дрожжах 70–75 % клеток содержат гликоген. Если в препарате обнаруживается меньшее количество клеток с гликогеном, то это свидетельствет об их старости, длительном хранении под слоем воды в ванночках или о недостаточно хорошем питании.

Определение конечной степени сбраживания. Сусло разливают в колбы, стерилизуют, охлаждают и определяют в нем исходное содержание сухих веществ. Затем в колбы в зависимости от их объема вносят по 10 % хорошо отпрессованных дрожжей и тщательно взбалтывают. Колбы помещают в термостат с температурой 25±1°С на двое суток, после чего снова определяют содержание СВ.

Конечную степень сбраживания определют по формуле

$$\upsilon = [(P–P_1) \times 100] / P,$$

где υ – конечная степень сбраживания; P – начальное содержание СВ в сусле, %; P_1 – конечное содержание СВ после брожения, %.

Конечную степень сбраживания в засевных дрожжах определяют дважды в месяц, особенно при использовании нового сырья.

12.3. Определение качества готового пива

В готовом пиве определяют общее количество микроорганизмов, БГКП и его биологическую стойкость в товарной упаковке.

Определение БГКП в пиве проводят бродильным методом не реже одного раза в месяц путем посева в питательную среду или методом мембранных фильтров.

Бродильный метод. Пиво перед исследованием нейтрализуют стерильным 10 %-м раствором натрия двууглекислого до pH 7,2–7,4. По 1 см^3 пива засевают в три пробирки с 9 см^3 среды Кесслера. Посевы помещают в термостат с температурой 37±0,5 °С на 24 ч. Если нет признаков роста, дают заключение об отсутствии в исследуемом пиве БГКП. При наличии газа в поплавках в среде Кесслера необходимо сделать штрихом высев материала из забродивших пробирок на поверхность среды Эндо в чашке Петри. Чашки помещают в термостат с температурой 37±0,5 °С на 24 ч. Из выросших на среде Эндо ти-

пичных колоний (темно-красных с металлическим блеском или без него) готовят фиксированные препараты и окрашивают их по Граму. Присутствие в препарате мелких грамотрицательных палочек свидетельствует о наличии в пиве БГКП.

Метод мембранных фильтров. Для проведения исследования выбирают фильтры, размеры пор которых позволяют осадить на них основное количество микроорганизмов (диаметр пор 0,45 нм). Из каждой отобранной для анализа упаковки 100 $см^3$ пропускают через предварительно простерилизованный мембранный фильтр. По окончании фильтрации фильтр промывают стерильной водой, затем фламбированным пинцетом осторожно помещают на поверхность среды Эндо в чашке Петри. После инкубации при температуре 37±0,5 °С в течение 24 ч отмечают рост характерных колоний БГКП или их отсутствие.

Биологическую стойкость пива определяют по времени его помутнения. Для этого отбирают по две бутылки пива от каждого разлитого сорта и помещают в термостат с температурой 20 °С. Ежедневно бутылки просматривают и отмечают время (в сутках) помутнения пива, выпадения осадка, появления пленки и других признаков порчи. В случае появления помутнения раньше срока, предусмотренного стандартом, осадок или пленку микроскопируют с целью установления группы микроорганизмов, вызвавших порчу пива.

Задание по теме:

1. Определить морфологическое состояние клеток засевных дрожжей.
2. Определеить биологическую чистоту засевных дрожжей.
3. Определить конечную степень сбраживания засевных дрожжей.
4. Ознакомиться с определением БГКП в пиве методом мембранных фильтров.

Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы являются вредителями пивоваренного производства? Как они влияют на качество пива?
2. Как определяют качество засевных дрожжей по морфологическому состоянию клеток?
3. Как определяют конечную степень сбраживания сусла дрожжами?
4. Как определяют биологическую стойкость пива?
5. Какими методами определяют БГКП в пиве?

ВАРИАНТЫ КОНТРОЛЬНЫХ РАБОТ

для студентов заочной формы обучения

Часть I

Для направлений 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья и 19.03.03 Продукты питания животного происхождения

(номер варианта соответствует двум последним цифрам шифра)

01, 21, 41, 61, 81

1. Микроорганизмы про- и эукариоты, их сходство и различия.
2. Спиртовое брожение, его химизм и характеристика возбудителей.
3. Санитарно-показательные микроорганизмы, предъявляемые к ним требования.
4. Цикл развития вирулентного бактериофага. Формы существования бактериофага: зрелый, вирулентный, умеренный.

02, 22, 42, 62, 82

1. Строение бактериальной клетки. Функции клеточных структур.
2. Гомоферментативное молочнокислое брожение, его химизм, характеристика возбудителей.
3. Патогенные микроорганизмы, их свойства.
4. Влияние концентрации субстрата и продуктов метаболизма на удельную скорость роста микроорганизмов (уравнения Моно и Иерусалимского).

03, 23, 43, 63, 83

1. Строение и функции клеточной стенки бактерий. Влияние лизоцима и пенициллина на клеточную стенку бактерий.
2. Гетероферментативное молочнокислое брожение, его химизм, характеристика возбудителей.
3. Рост микроорганизмов в зависимости от влажности среды. Понятие об активности воды. Устойчивость различных микроорганизмов к высушиванию. Высушивание как способ консервирования пищевых продуктов.
4. Роль пищевых продуктов в распространении инфекционных заболеваний. Зооантропонозные заболевания, передающиеся через пищевые продукты (туберкулез, бруцеллез, сибирская язва).

04, 24, 44, 64, 84

1. Строение и функции цитоплазматической мембраны микробной клетки.

2. Пропионовокислое брожение, его химизм, характеристика возбудителей.

3. Влияние высоких и низких температур на микроорганизмы. Механизм их действия на микробную клетку.

4. Принципы систематики бактерий.

05, 25, 45, 65, 85

1. Низшие грибы – фикомицеты, особенности их строения и размножения. Роль фикомицетов в производстве органических кислот.

2. Кривая роста культуры микроорганизмов в периодических условиях. Факторы, влияющие на продолжительность лаг-фазы. Основные параметры периодической культуры: удельная скорость роста, время генерации, экономический коэффициент роста.

3. Отношение микроорганизмов к кислороду воздуха. Окислительно-восстановительные ферменты микробной клетки.

4. Вирусы и бактериофаги, их особенности и строение.

06, 26, 46, 66, 86

1. Высшие грибы – аскомицеты, их строение и способы размножения.

2. Аэробное дыхание микроорганизмов. Локализация дыхательных ферментов в микробной клетке.

3. Влияние реакции среды (pH) и окислительно-восстановительного потенциала (E_h) на микроорганизмы.

4. Образование эндоспор у бактерий: основные стадии формирования споры, строение зрелой споры, химический состав споры.

07, 27, 47, 67, 87

1. Устойчивость спор бактерий к неблагоприятным условиям внешней среды. Факторы, определяющие устойчивость спор.

2. Разложение микроорганизмами азотсодержащих соединений (гниение). Продукты распада белковых веществ. Характеристика гнилостных бактерий.

3. Микрофлора воды. Санитарно-гигиеническая оценка качества питьевой воды. Понятие о микробном числе, коли-титре и коли-индексе.

4. Понятие о наследственности и изменчивости. Генотип и фено-тип.

08, 28, 48, 68, 88

1. Формы и размеры бактерий. Поверхностные структуры бактериальной клетки: капсула, жгутики, пили.

2. Неполные окисления. Образование органических кислот бактериями (уксусная) и грибами (лимонная, щавелевая, янтарная, и др.).

3. Влияние концентрации растворенных веществ (осмотическое давление) на микроорганизмы. Тургор, плазмолиз, плазмоптиз.

4. Генетические рекомбинации у микроорганизмов. Трансформация.

09, 29, 49, 69, 89

1. Потребности микроорганизмов в питательных веществах. Факторы роста. Типы питания микроорганизмов.

2. Муравьинокислое (смешанное) брожение, его химизм, характеристика возбудителей.

3. Механизм влияния низких температур на микроорганизмы. Характеристика микроорганизмов, способных расти при низких температурах.

4. Пищевые отравления – токсикозы. Характеристика возбудителей отравлений. Мероприятия по предупреждению токсикозов.

10, 30, 50, 70, 90

1. Микрофлора человека. Микроорганизмы комменсалы. Роль нормальной микрофлоры человека в поддержании иммунного статуса макроорганизма.

2. Маслянокислое брожение, его химизм, характеристика возбудителей.

3. Влияние на микроорганизмы лучистой энергии.

4. Механизм поступления питательных веществ в микробную клетку. Роль ферментов пермеаз и транслоказ в переносе молекул питательных веществ через цитоплазматическую мембрану.

11, 31, 51,71, 91

1. Строение и химический состав дрожжевой клетки.

2. Анаэробное дыхание микроорганизмов (восстановление нитратов, сульфатов, карбонатов).

3. Формы взаимоотношений между микроорганизмами. Практическое использование симбиоза и антагонизма в пищевой промышленности.

4. Методы консервирования, стерилизации и дезинфекции, применяемые в пищевой промышленности.

12, 32, 52,72, 92

1. Способы размножения дрожжей.

2. Три формы спиртового брожения по Нойбергу. Эффект Пастера.

3. Влияние на микроорганизмы ультразвука и токов СВЧ.

4. Антропонозные заболевания, возникающие при употреблении контаминированных пищевых продуктов (холера, дизентерия, брюшной тиф).

13, 33, 53, 73, 93

1. Сущность окрашивания бактерий по Граму. Различия в строении клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий.

2. Разложение жиров микроорганизмами. Характеристика процессса и возбудителей.

3. Заболевания, передающиеся через пищевые продукты, характеристика возбудителей (листериоз, иерсиниоз, лептоспироз, кампилобактериоз).

4. Химические вещества-антисептики. Механизм их действия на микробную клетку.

14, 34, 54, 74, 94

1. Стадии спорообразования у бактерий. Строение зрелой споры. Характеристика спорообразующих бактерий.

2. Влияние концентрации питательных веществ и продуктов метаболизма на скорость роста микроорганизмов.

3. Патогенные микроорганизмы, их основные свойства. Факторы, обусловливающие патогенность и вирулентность микроорганизмов.

4. Селекция микроорганизмов. Сущность генной инженерии.

15, 35, 55, 75, 95

1. Причины, обусловливающие высокую устойчивость бактериальных спор к неблагоприятным факторам внешней среды. Роль спорообразующих бактерий в пищевой промышленности. Прорастание спор в благоприятных условиях.

2. Антимикробные вещества, механизм их действия на микробную клетку. Дезинфицирующие вещества, антибиотики, консерванты.

3. Распространение микроорганизмов в воздухе. Качественный и количественный состав микрофлоры воздуха жилых и производственных помещений. Роль воздушной сферы в контаминации пищевых продуктов патогенными микроорганизмами.

4. Цикл развития умеренного бактериофага. Лизогенные культуры, их роль в распространении бактериофагов в природе.

16, 36, 56, 76, 96

1. Характеристика отдельных видов мицелиальных грибов, вызывающих порчу пищевых продуктов.

2. Питательные потребности микроорганизмов в источниках углерода, азота, микро- и макроэлементах, факторах роста. Питательные среды, их характеристика. Микроорганизмы прототрофы и ауксотрофы.

3. Генетические рекомбинации у микроорганизмов. Трансдукция.

4. Размножение микроорганизмов в периодических условиях. Кривая роста, ее параметры.

17, 37, 57, 77, 97

1. Размножение бактерий. Репликация бактериальной хромосомы перед делением клетки.

2. Формы изменчивости микроорганизмов. Мутации.

3. Иммунитет, его виды и факторы.

4. Характеристика бактерий группы кишечных палочек (БГКП).

18, 38, 58, 78, 98

1. Классификация грибов-микромицетов.

2. Пищевые отравления – токсикоинфекции. Характеристика возбудителей отравлений. Мероприятия по предупреждению токсикоинфекций.

3. Микрофлора почвы. Роль почвы в загрязнении пищевых продуктов микроорганизмами.

4. Понятие об инфекции. Пути передачи инфекции.

19, 39, 59, 79, 99

1. Химический состав клеток микроорганизмов. Элементарный состав клеток. Важнейшие органические соединения клеток и их функции.

2. Характеристика отдельных видов мицелиальных грибов, вызывающих порчу пищевых продуктов. Использование микромицетов в производстве органических кислот, антибиотиков, ферментных препаратов.

3. Положение микроорганизмов в природе. Участие микроорганизмов в круговороте веществ. Полезные и вредные микроорганизмы, их роль в пищевой промышленности.

4. Подвижность бактерий.

20, 40, 60, 80, 00

1. Роль ферментов в метаболизме микроорганизмов. Общая характеристика ферментов дрожжевой клетки.

2. Чистые культуры микроорганизмов. Методы их выделения из различных источников.

3. Генетические рекомбинации у микроорганизмов – конъюгация.

4. Способы культивирования микроорганизмов. Поверхностное и глубинное, периодическое и непрерывное культивирование, создание аэробных и анаэробных условий при культивировании микроорганизмов.

ЧАСТЬ II

Для направления 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья

(номер варианта соответствует последней цифре шифра зачетной книжки)

Вариант 1

1. Эпифитная микрофлора зерна.
2. Болезни овощей: ризоктониоз, альтернариоз, фомоз.
3. Характеристика дрожжей, вызывающих порчу пива.

Вариант 2

1. Фитопатогенная микрофлора зерна. Спорынья, головня.
2. Болезни овощей: белая гниль, серая гниль, ризоктониоз, кагатная гниль свеклы.
3. Характеристика грамположительных и грамотрицательных бактерий, вызывающих порчу пива.

Вариант 3

1. Микрофлора муки. Виды порчи муки.
2. Микробиология растительных консервов. Микробиологический контроль сырья и вспомогательных материалов. Остаточная микрофлора консервов.
3. Физиологические свойства пивных дрожжей.

Вариант 4

1. Болезни плодов и ягод: монилиоз и парша яблок и груш.
2. Микробиология производства вин.
3. Характеристика дрожжей – возбудителей брожения теста.

Вариант 5

1. Консервирование овощей на основе молочнокислого брожения. Квашение капусты. Пороки квашеной капусты.
2. Микроорганизмы – вредители винного производства. Дикие дрожжи.
3. Закваски для ржаного и пшеничного теста.

Вариант 6

1. Консервирование овощей на основе молочнокислого брожения. Соление огурцов. Пороки соленых огурцов.
2. Болезни вина, вызываемые микроорганизмами.
3. Характеристика дрожжей, используемых в пивоварении.

Вариант 7

1. Микрофлора пшеничного и ржаного теста.
2. Контроль микробиологической стабильности консервов.
3. Микроорганизмы и сырье, используемые в производстве спирта.

Вариант 8

1. Вредные микроорганизмы и источники контаминации в производстве спирта.
2. Микробиологическая порча хлеба: плесневение, меловая болезнь.

13. Бактериальные гнили овощей: мокрая, бурая, кислая. Мероприятия по сохранению качества овощей при хранении.

Вариант 9

1. Картофельная болезнь хлеба, характеристика возбудителей, их источники.
2. Микробиология производства кваса.
3. Контроль микробиологической стабильности растительных консервов.

Вариант 10

1. Мероприятия по предупреждению картофельной болезни хлеба.
2. Болезни картофеля: парша обыкновенная, порошистая парша, серебристая парша, бугорчатая парша, фитофтороз, фузариоз.
3. Остаточная микрофлора растительных консервов. Виды микробиологической порчи консервов.

Для направления 19.03.03 Продукты питания животного происхождения

Вариант 1

1. Микрофлора свежего и мяса. Экзогенная и эдогенная контаминация мяса микроорганизмами.
2. Микробиология вареных колбасных изделий.
3. Пастеризация молока, ее эффективность. Остаточная и вторичная микрофлора пастеризованного молока. Микробиологический контроль пастеризованного молока.

Вариант 2

1. Виды микробной порчи мяса. Гниение мяса. Характеристика гнилостных бактерий.
2. Микрофлора сырого молока. Источники контаминации сырого молока посторонними микроорганизмами.
3. Микрофлора свежей рыбы, источники ее контаминации.

Вариант 3

1. Изменение микрофлоры мяса при посоле.
2. Микрофлора соленой рыбы и пресервов.
3. Пороки сырого молока, вызываемые микроорганизмами.

Вариант 4

1. Микробиология сырокопченой и сыровяленой колбасы.
2. Микробиологическое исследование свежей рыбы: определение КМАФАнМ, БГКП, *S. aureus*, сальмонелл.
3. Контроль качества молока, поступающего на перерабатывающие предприятия.

Вариант 5

1. Способы предохранения охлажденного мяса от микробной порчи.
2. Микробиология мяса птицы.
3. Изменение микрофлоры сырого молока при различных режимах хранения.

Вариант 6

1. Микрофлора яиц, меланжа и яичного порошка.
2. Молочнокислые бактерии, вызывающие порчу мясных продуктов.
3. Консерванты, используемые для предохранения пищевых продуктов от микробной порчи.

Вариант 7

1. Микрофлора свежей рыбы.
2. Микробиологические критерии безопасности вареных колбасных изделий: определение КМАФАнМ, БГКП, *S. aureus*, сульфитредуцирующих бактерий, патогенных бактерий, *Listeria monocytogenes*.
3. Функциональные продукты, пробиотики, пребиотики.

Вариант 8

1. Виды микробной порчи мяса, характеристика возбудителей.
2. Организация микробиологического контроля колбасного производства.
3. Микрофлора рыбы холодного и горячего копчения.

Вариант 9

1. Бактериологическое исследование мясных консервов до и после стерилизации.
2. Влияние различных факторов на размножение молочнокислых бактерий в молоке.
3. Дрожжи и мицелиальные грибы, вызывающие порчу мясных и молочных продуктов.

Вариант 10

1. Микрофлора охлажденного и мороженого мяса.
2. Бактериологическое исследование яиц и яйцепродуктов.
3. Виды микробной порчи мясных консервов.

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. Питательные среды, используемые для микробиологического анализа пищевых продуктов

1.1. Среда Китта–Тароцци

для выделения и культивирования анаэробных микроорганизмов

Проваренные кусочки печени опускают в пробирку, чтобы они закрывали дно. В пробирки на 1/2 объема наливают мясопептонный бульон с 1 % глюкозы (pH среды 7,2–7,4) и опускают поплавок. Сверху наслаивают 0,5–1,0 см вазелинового масла. Пробирки стерилизуют при температуре 121±1 °С в течение 20 мин.

1.2. Среда с лизином

для определения диких дрожжей родов *Candida*, *Torulopsis*, *Brettanomyces* и др.

К 1 дм^3 водопроводной воды прибавляют 50 г глюкозы, 3 г лизина, 1 г KH_2PO_4 , 1 г $MgSO_4$ и 15–20 г агара. После расплавления агара на водяной бане среду разливают по пробиркам или колбам и стерилизуют при температуре 116±1°С в течение 20 мин.

1.3. Среда MRS

для учета молочнокислых бактерий

В мерную колбу вместимостью 1 дм^3 вливают 200 см^3 воды и вносят: 20 г глюкозы; 2 г калия фосфата двузамещенного; 2 г натрия ацетата; 0,05 г $MnSO_4 \cdot 4H_2O$; 0,02 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 50 см^3 дрожжевого автолизата, 200 мг цистеина.

К подготовленному раствору прибавляют отдельно растворенные в небольшом количестве горячей дистиллированной воды 10 г пептона и 1 мл препарата Твин-80 и 500 мл гидролизованного молока. Доводят объем жидкости дистиллированной водой до 1 дм^3. Устанавливают pH=6,2–6,6 (питьевой содой или лимонной кислотой).

Для получения плотной среды к 1 дм^3 приготовленного раствора добавляют 15–18 г агара. После растворения компонентов среду разливают в колбы или пробирки и стерилизуют в автоклаве при температуре 121±1 °С в течение 15 мин.

1.4. Сусловый агар с кристаллическим фиолетовым
для выявления диких дрожжей рода *Saccharomyces*

К 1 дм^3 охмеленного сусла (массовая доля сухих веществ 7 %) прибавляют 20 г агара и 2 г кристаллического фиолетового. Агар расплавляют на водяной бане. Среду фильтруют через ватный фильтр, разливают в колбы и стерилизуют при температуре 116±1 °С в течение 20 мин.

1.5. Среда Эндо

Среда Эндо выпускается микробиологической промышленностью в виде сухого порошка. В лаборатории ее готовят согласно прописи, указанной на этикетке. Среду готовят в день ее использования.

1.6. Среда Левина
(лактозоэозинметиленовый агар)

Среда Левина предназначена для выделения и дифференциации энтеробактерий и коагулазоположительных стафилококков. Сначала готовят *основную* среду следующего состава*:* 10 г пептона; 15 г агара; 2 г K_2HPO_4; дистиллированная вода – до 1 дм^3.

Среду разливают в колбы объемом 100 см^3 и стерилизуют при температуре 121±1 °С в течение 15–30 мин.

Для приготовления *дифференциальной* среды к 100 см^3 расплавленной основной среды добавляют следующие растворы, простерилизованные дробно текучим паром в течение трех суток: 5 см^3 20 %-го раствора лактозы, 2 см^3 раствора эозина щелочного; 1,5 см^3 0,5 %-го раствора метиленового синего.

Готовую среду разливают в чашки Петри и подсушивают. Она имеет сине-фиолетовый цвет.

Микроорганизмы, ферментирующие лактозу (в частности, БГКП), образуют на этой среде колонии диаметром 1,5–2,0 мм фиолетового цвета с металлическим блеском. Лактозонегативные энтеробактерии (сальмонеллы, дизентерийные палочки) образуют прозрачные бесцветные колонии диаметром 1,0–1,5 мм. Коагулазоположительные стафилококки образуют на среде Левина мелкие колонии с темным центром. Широкое применение нашла готовая сухая среда Левина, выпускаемая промышленностью.

1.7. Среда Плоскирева

Среда Плоскирева выпускается промышленностью в сухом виде. Среду готовят согласно указаниям на этикетке.

Готовая среда прозрачная и имеет розовато-желтый цвет. Энтеробактерии, ферментирующие лактозу, образуют на этой среде колонии брусничного цвета. Лактозоотрицательные бактерии вырастают в виде бесцветных или слабоокрашенных колоний.

1.8. Среда Вильсона–Блера

Железно-сульфитная среда Вильсона–Блера предназначена для выделения сульфитредуцирующих анаэробов. Для приготовления этой среды к 100 $см^3$ стерильного расплавленного и охлажденного до 80 °С мясопептонного агара с 1 % глюкозы добавляют 10 $см^3$ 20 %-го свежеприготовленного стерильного (выдержанного в течение 1 ч в текучем паре) раствора натрия сульфита и 1 $см^3$ 8 %-го раствора железа хлорида, приготовленного на стерильной воде. Среду разливают в пробирки высоким столбиком и без стерилизации ставят в термостат с температурой 37±1 °С для поверки стерильности. Материал засевают уколом в столбик или в расплавленную и охлажденную среду. Сульфитредуцирующие анаэробы образуют в среде колонии черного цвета или дают сплошное почернение среды.

1.9. Желточно-солевой агар (ЖСА)

(элективная среда для определения стафилококков)

Сначала готовят желточный раствор. Для этого к 200 $см^3$ стерильного физиологического раствора асептически добавляют один яичный желток и взбалтывают. Желточный раствор хранят в холодильнике не более 4 сут.

Для приготовления среды к 150 $см^3$ расплавленного и охлажденного до 45 °С мясопептонного агара (pH 7,2–7,4), содержащего 7,5–10 % хлорида натрия, стерильно добавляют 50 $см^3$ желточного раствора, взбалтывают и разливают по чашкам Петри. Хранят в холодильнике в течение 7 сут со дня приготовления.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Артемьева С.А.** Микробиологический контроль мяса животных, птицы, яиц и продуктов их переработки: Справочник / С.А. Артемьева, Т.Н. Артемьева, А.И. Дмитриев, В.В. Дорутина. – М.: КолосС, 2003. – 288 с.

2. **Ганина В.И., Королева Н.С., Фильчакова С.А.** Техническая микробиология продуктов животного происхождения: Учеб. пособие. – М.: ДеЛи Принт, 2008. – 352 с.

3. **Джей Дж. М.** Современная пищевая микробиология / Дж. М. Джей, М. Дж. Лёсснер, Д.А. Гольден. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 886 с.

4. **Забодалова Л.А.** Технико-химический и микробиологический контроль на предприятиях молочной промышленности: Учеб. пособие. – СПб.: Троицкий мост, 2009. – 224 с.

5. **Карцев В.В.** Санитарная микробиология пищевых продуктов / В.В. Карцев, Л.В. Белова, В.П. Иванов. – СПб.: СПбГМА им. И.И. Мечникова, 2000. – 311 с.

6. **Красникова Л.В.** Микробиология: Учеб. пособие. – СПб.: Троицкий мост, 2012. – 296 с.

7. **Красникова Л.В.** Микробиология продуктов животного происхождения: Учеб. пособие. – СПб.: Троицкий мост, 2016. – 296 с.

8. Микробиологическая порча пищевых продуктов / Под ред. К. де В. Блекберна. Пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2008. – 784 с.

9. Микробиологический анализ мяса, мяса птицы и яйцепродуктов /Под ред. Дж. К Мида. Пер с англ. – СПб.: Профессия, 2008. – 384 с.

10. Микробиология продуктов животного происхождения / Г.-Д. Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер и др. Пер. с нем. – М.: Агропромиздат, 1986. – 592 с.

11. Определитель бактерий Берджи. В 2 т. Т 1 / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 432 с.

12. **Прист Ф.Д., Кэмпбелл И.** Микробиология пива. Пер. с англ./ Под общ. ред. Т.В. Мелединой и Тыну Сойдла. – СПб.: Профессия, 2005. – 368 с.

13. **Слюсаренко Т.П.** Лабораторный практикум по микробиологии пищевых производств. – М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1984. – 208 с.

14. Технический регламент таможенного союза – ТР ТС «О безопасности молока и молочной продукции» 033/2013.

15. Технический регламент таможенного союза – ТР ТС «О безопасности мяса и мясной продукции» 034/2013.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 3
ТЕМА 1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВЕЖЕГО МЯСА 4
1.1. Микрофлора свежего мяса 4
1.2. Бактериоскопическое исследование мяса 6
1.3. Бактериологическое исследование мяса 8
1.3.1. Определение общего количества микроорганизмов (КМАФАнМ) 8
1.3.2. Определение бактерий группы кишечной палочки (БГКП) 9
1.3.3. Обнаружение бактерий рода *Proteus* 11
1.3.4. Выявление бактерий рода *Salmonella* 12
1.3.5. Выявление присутствия в мясе анаэробов 13
ТЕМА 2. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОХЛАЖДЕННОГО, МОРОЖЕНОГО, СОЛЕНОГО МЯСА И РАССОЛОВ 15
2.1. Порядок микробиологического исследования 15
2.2. Определение влияния концентрации хлорида натрия на бактерии 17
ТЕМА 3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ 18
3.1. Отбор и подготовка проб 19
3.2. Определение КМАФАнМ 20
3.3. Выявление коагулазоположительных стафилококков 20
3.4. Выявление сульфитредуцирующих клостридий 21
ТЕМА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПОРЧИ МЯСА, МЯСНЫХ И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ 24
4.1. Гнилостные бактерии 25
4.2. Молочнокислые бактерии 30
4.3. Маслянокислые бактерии 32
4.4. Дрожжи 33
4.5. Мицелиальные грибы 38
ТЕМА 5. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСНЫХ КОНСЕРВОВ 42
5.1. Отбор проб 43
5.2. Бактериологическое исследование мясных консервов перед стерилизацией 43
5.3. Микробиологическое исследование мясных консервов после стерилизации 45

ТЕМА 6. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСА ПТИЦЫ 50
6.1. Отбор и подготовка проб 51
6.2. Определение КМАФАнМ 51
ТЕМА 7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЯИЦ И ЯЙЦЕПРОДУКТОВ 52
7.1. Микрофлора яиц в скорлупе 52
7.2. Микрофлора меланжа и яичного порошка 54
7.3. Отбор проб 55
7.4. Бактериологическое исследование яиц и яйцепродуктов 56
ТЕМА 8. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ РЫБЫ 60
8.1. Микрофлора рыбы 60
8.2. Бактериоскопическое исследование свежей рыбы 63
8.3. Бактериологическое исследование свежей, охлажденной и мороженой рыбы 65
8.4. Микробиология соленой рыбы 67
8.5. Микрофлора пресервов 69
ТЕМА 9. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕХНОЛОГИИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ 71
9.1. Молочнокислые бактерии 71
9.2. Бифидобактерии 79
9.3. Пропионовокислые бактерии 80
9.4. Уксуснокислые бактерии 81
ТЕМА 10. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА 83
10.1. Микробиологический контроль зерна 83
10.2. Микробиологический контроль муки 84
10.3. Микробиологический контроль прессованных дрожжей 86
10.4. Микробиологический контроль теста 88
10.5. Контроль заквасок, используемых в хлебопечении 90
10.6. Микробиологический контроль хлебобулочных изделий 94
ТЕМА 11. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КОНДИТЕРСКОГО ПРОИЗВОДСТВА 96
11.1. Микрофлора сырья, используемого в кондитерском производстве 96
11.2. Микробиологический контроль сахара-песка 99

11.3. Микробиологический контроль готовых кремовых изделий 101
ТЕМА 12. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПИВОВАРЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА..... 103
12.1. Посторонние микроорганизмы в пивоварении 103
12.2. Контроль качества засевных дрожжей..... 107
12.3. Определение качества готового пива..... 108
ВАРИАНТЫ КОНТРОЛЬНЫХ РАБОТ..... 110
ПРИЛОЖЕНИЕ 120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 123

Красникова Людмила Васильевна
Гунькова Полина Исаевна
Савкина Олеся Александровна

ОБЩАЯ И ПИЩЕВАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебное пособие

Часть II

Ответственный редактор
Т.Г. Смирнова

Редактор
Р.А. Сафарова

Компьютерная верстка
Н.В. Гуральник

Дизайн обложки
Н.А. Потехина

Подписано в печать 26.12.2016. Формат 60×84 1/16
Усл. печ. л. 7,44. Печ. л. 8,0. Уч.-изд. л. 7,75
Тираж 50 экз. Заказ № С 73

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Издательско-информационный комплекс
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9