

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ – ФИЛИАЛ ФГБОУ ВО УЛЬЯНОВСКИЙ ГАУ

Н.Х. КУРЬЯНОВА

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ
по дисциплине
**МИКРОБИОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ
ЖИВОТНОВОДСТВА**



ДИМИТРОВГРАД 2019

УДК 637.1: 579.67 (075.8)

Курьянова, Н.Х. **«Микробиология продуктов животноводства»:** учебно-методическое пособие для студентов инженерно-экономического факультета / Н.Х. Курьянова – Димитровград: ТИ-филиал ФГБОУ ВО УлГАУ. – Эл. изд. 2019. – С 132.

Учебно-методическое пособие по дисциплине «Микробиология продуктов животноводства» рассматривает цели и задачи, компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины, возбудителей зооантропонозов, порчи пищевых продуктов, микрофлору молока и молочных продуктов, микрофлору мяса и мясопродуктов, микрофлору яиц и яйцепродуктов и основы промышленной санитарии.

Учебно-методическое пособие также содержит вопросы на экзамен и тесты.

Учебно-методическое пособие печатается
по решению методической комиссии
инженерно-экономического факультета
Технологического института филиала
ФГБОУ ВО Ульяновского государственного
аграрного университета
имени П.А. Столыпина
Протокол № 1 от 04.09. 2019 г.

© Курьянова Н.Х. 2019

© Технологический институт – филиал ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	4
1	КОМПЕТЕНЦИИ ОБУЧАЮЩЕГОСЯ, ФОРМИРУЕМЫЕ В РЕЗУЛЬТАТЕ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ	5
2	КРАТКИЙ КУРС ЛЕКЦИЙ	
2.1	Модуль 1. ВОЗБУДИТЕЛИ ПОРЧИ ПРОДУКТОВ И ВОЗБУДИТЕЛИ ЗООАНТРОПОНОЗОВ	7
	ТЕМА 1. История развития науки. Значение микроорганизмов в природе и жизни человека	
2.2	ТЕМА 2. Возбудители зооантропонозов	13
2.3	ТЕМА 3. Возбудители порчи пищевых продуктов	22
2.4	Модуль 2. МИКРОФЛОРА ПРОДУКТОВ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ	
	Тема 4. Микробиология сырого и питьевого молока	50
2.5	ТЕМА 5. Микробиология кисломолочных продуктов и закваски	63
2.6	ТЕМА 6. Микробиология кисломолочных продуктов	74
2.7	ТЕМА 7. Микробиология сыра	82
2.8	ТЕМА 8. Микробиология сливочного масла	86
2.9	ТЕМА 9. Микробиология консервированных молочных продуктов и мороженого	90
2.10	ТЕМА 10. Микрофлора мяса и мясопродуктов	103
2.11	ТЕМА 11. Микрофлора яиц и яйцепродуктов	107
2.12	ТЕМА 12. Основы промышленной санитарии на предприятиях молочной промышленности	115
3	3 КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ И ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ	124
4	ФОНД РАЗНОУРОВНЕВЫХ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ	125

ВВЕДЕНИЕ

Целью освоения дисциплины «Микробиология продуктов животноводства» является:

- приобретение студентом знаний, необходимых для основы микробиологического контроля на предприятиях перерабатывающей промышленности;
- ознакомление с миром микроорганизмов в природе, изучение их роли в производстве продуктов животноводства;
- осуществлять микробиологический контроль санитарно-гигиенического состояния производства технологического процесса;
- разобраться в составе и свойствах заквасок, используемых при производстве различных молочных продуктов.

Обучающийся должен в ходе изучения курса научиться решать следующие профессиональные задачи.

Задачами изучения дисциплины являются:

- изучить микробиологические процессы при переработке продуктов животноводства и применять полученные знания на практике;
- изучить теоретические основы взаимодействия микробов в природе и в процессе выработки продуктов животноводства;
- научиться разработать схемы микробиологического контроля производства продуктов животноводства.

Учебный курс «Микробиология продуктов животноводства» является обязательной дисциплиной для изучения, относится к вариативной части блока дисциплины по выбору Б1.В.ДВ.5 учебного плана (Б1.В.ДВ.05.02).

1 КОМПЕТЕНЦИИ ОБУЧАЮЩЕГОСЯ, ФОРМИРУЕМЫЕ В РЕЗУЛЬТАТЕ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов следующих общекультурных и профессиональных компетенции - ПК-3; ПК-9; ПК-26:

ПК-3 - способностью изучать научно-техническую информацию отечественного и зарубежного опыта по тематике исследования;

знать:

- систематику и биологические свойства основных групп микроорганизмов (бактерии, грибы, вирусы), оказывающих влияние на качество продуктов животноводства;
- принципы культивирования микроорганизмов;
- теоретические основы взаимодействия микробов в природе и в процессе выработки продуктов животноводства;
- принципы составления, контроля и применения заквасок;

уметь:

- применять знания естественнонаучных дисциплин для организации технологических процессов и обеспечения качества и безопасности продуктов животноводства;
- применять НТД, касающуюся микробиологического исследования качества и безопасности продуктов животноводства в соответствии с требованиями ТР ТС.

владеть:

- навыками применения знания дисциплины для организации технологических процессов и обеспечения качества и безопасности продуктов животноводства

ПК-9 - готовностью осуществлять контроль соблюдения экологической и биологической безопасности сырья и готовой продукции;

знать:

- систематику и биологические свойства основных групп микроорганизмов, оказывающих влияние на качество продуктов переработки животноводства;

- принципы культивирования микроорганизмов; состав и свойства заквасок, используемых при производстве различных продуктов переработки животноводства;

- методы технологического, лабораторного контроля качества и безопасности сырья, полуфабрикатов и готовой продуктов питания животного происхождения (D/02.6).

уметь:

- применять методы санитарно-микробиологической оценки качества и безопасности продуктов переработки животноводства для диагностики дефектов, выявления опасной, некачественной, фальсифицированной продукции, сокращения и предупреждения сырьевых потерь.

Владеть:

- методами санитарно-микробиологической оценки качества и безопасности продуктов переработки животноводства;
- методами микробиологического контроля сырья, закваски и готовых продуктов переработки животноводства.

ПК-26 - способностью проводить эксперименты по заданной методике и анализировать результаты.

знать:

- методы и методики испытаний санитарно-микробиологической оценки качества и безопасности продуктов переработки животноводства;
- требования ТР ТС 033/2013; ТР ТС 034/2013, Единых санитарных требований ТС;

уметь:

- применять методы санитарно-микробиологической оценки качества и безопасности продуктов для выявления токсинов;
- осуществлять микробиологический контроль технологического процесса; анализировать результаты испытаний и написать заключение.

владеть:

- методами санитарно-микробиологической оценки качества и безопасности продуктов в соответствии НТД, ТР ЕАЭС.
- методами микробиологического контроля сырья и готовой продукции.

Приобрести опыт деятельности в регулировании микробиологических процессов при производстве молочных продуктов с целью создания продуктов требуемого качества.

Матрица формирования компетенций по дисциплине «Микробиология продуктов животноводства»

№ п/п	Разделы, темы дисциплины	Количество часов (аудиторная +самост.)	Общее количество профессиональных компетенций			
			ПК-3	ПК-9	ПК-26	Общее количество компетенций
1	Модуль 1. Введение. Цель и задачи дисциплины. Биологические свойства микроорганизмов, используемых при производстве молочных продуктов	12,5	ПК-3			1
	Возбудители порчи продуктов и возбудители зооантропонозов.	18	ПК-3		ПК-26	2
	Возбудители порчи пищевых продуктов	17,8		ПК-9	ПК-26	2
2	Модуль 2. Микрофлора продуктов животноводства. Микробиология сырого и питьевого молока.	18		ПК-9	ПК-26	1
	Микробиология кисломолочных продуктов и сливочного масла	18		ПК-9	ПК-26	2
	Микробиология сыра и молочных консервов	14		ПК-9		1
	Микробиология мяса.	20		ПК-9	ПК-26	2
	Микробиология колбасных изделий	13		ПК-9	ПК-26	2
	Микробиология консервов.	12,5	ПК-3		ПК-26	2
	Консультации	0,2				
	Экзамен	36				
	Всего	180				

2 КРАТКИЙ КУРС ЛЕКЦИЙ

Модуль 1. ВОЗБУДИТЕЛИ ПОРЧИ ПРОДУКТОВ И ВОЗБУДИТЕЛИ ЗООАНТРОПОНОЗОВ

ТЕМА 1. История развития науки. Значение микроорганизмов в природе и жизни человека

Микробиология (от греч. *mikros* - малый, *bios* - жизнь, *logos* - наука) - наука о мельчайших, невидимых невооруженным глазом организмах, называемых микроорганизмами, или микробами.

Микробиология как наука изучает морфологию, систематику и физиологические особенности микроорганизмов, условия их жизнедеятельности, роль в природе и жизни человека. Микробиологи разрабатывают способы использования полезных микробов в сельском хозяйстве и промышленности, средства и методы борьбы с патогенными микроорганизмами, вызывающими болезни растений, животных и человека.

Микроорганизмы можно обнаружить только при помощи оптического или электронного микроскопа. Максимальное увеличение оптического микроскопа составляет 3000. Это позволяет различать частицы размером не менее 0,1-0,2 мкм¹. Современные электронные микроскопы имеют разрешающую способность до 0,15 нм², что дает возможность видеть не только мельчайшие организмы, но и тонкие структуры клеток. Подобный микроскоп увеличивает рассматриваемый объект в 750 000 раз.

Мир микроорганизмов в природе весьма разнообразен. Значительное их число представлено бактериями, в том числе цианобактериями (сине-зелёными водорослями). Многочисленную группу микроорганизмов составляют грибы. К особой группе ультрамикроскопических организмов относят вирусы, не имеющие клеточного строения и служащие возбудителями различных болезней растений, человека и животных. Известны и ультрамикроскопические паразиты микроорганизмов, так называемые фаги, иначе еще называемые вирусами микробов. Микробиология изучает также многочисленных простейших животных (протозоа) и водоросли, имеющие микроскопические размеры.

Микроорганизмы широко распространены в природе. Они постоянно присутствуют в почвах, водоемах, на поверхности и внутри тела человека, животных и растений, в пищевых продуктах, воздухе и т. д. Микроорганизмы можно выявить и в песках пустынь, и во льдах Арктики и Антарктики, в воде и иле морей и океанов, на скальных породах высоко в горах и в глубине шахт.

Первые научные исследования молочнокислых бактерий были проведены Л. Пастером, результаты он опубликовал в 1857 г. С тех пор молочнокислые бактерии привлекают к себе внимание специалистов. На основе использования этих микроорганизмов создаются и развиваются крупные отрасли пищевой промышленности.

В начале 90 - х годов вышел новый Международный стандарт по номенклатуре молочнокислых бактерий. Однако, учитывая, что за последние 10 лет в стране практически не выходила справочная литература по микробиологии молока в предлагаемом лекционном курсе сохранены названия микроорганизмов, применяемых в нашей стране до 90-х годов, что позволит студентам пользоваться сопоставимыми названиями бактерий в основной литературе по данному вопросу. Ниже приводится переводная таблица названий основных молочнокислых бактерий в соответствии с Международным стандартом по номенклатуре.

Номенклатура молочнокислых бактерий

Названия по Международному стандарту	Старые названия
Lac. lactis subsp. lactis	Str. lactis, Str. Lactis subsp. lactis
Lac. lactis subsp. cremoris	Str. cremoris
Lac. lactis subsp. lactis (biovar diacetylactis)	Str. diacetylactis, Str. acetoinicus
Leuconostoc mesenteriodes subsp. cremoris	Str. citrovorus, Leu.citrovoriim
Leuconostoc mesenteriodes subsp. dextranicum	Str. paracitrovorus, Leuconostoc lactis
Lactobacillus delbrueckii . subsp. lactis	Lactobacillus lactis
Lactobacillus delbrueckii	Lactobacillus bulgaricus

Значение микробиологии в решении хранения продуктов

Микробиологические процессы вызывают порчу товаров, существенно снижают их качество, делают невозможным использование их по назначению или снижают надежность. Порча пищевых продуктов происходит вследствие разного вида брожения (маслянокислого, пропионовокислого, спиртового, уксусного, молочнокислого), гниения, ослизнения, плесневения, развития токсичных бактериозов (ботулинус, сальмонеллёз и др.). Для непродовольственных товаров (тканей, кожи, мехов и изделий из них) характерно лишь плесневение.

Микробиологические процессы являются одной из причин биоповреждений.

Загрязнения микробиологического происхождения имеют аналогичные с другими видами загрязнений источники. Однако первостепенное значение в этом случае приобретают не столько пылевидные частицы, попадающие из почвы или воздуха, сколько сами товары и тара, зараженные возбудителями различных микробиологических заболеваний. Именно из испорченных товаров такие микроорганизмы попадают на тару, оборудование, а затем и в воздух. Загрязнения микробиологического происхождения оцениваются качественно (виды микроорганизмов) и количественно.

Общая микробиологическая обсемененность воздуха складских помещений, тары и оборудования - важный показатель чистоты: Определяется микробиологическими методами с помощью смывов с тары, товаров из разных мест штабеля, а также посевов из проб воздуха, отбираемых в складах.

Наиболее распространенными микроорганизмами, присутствующими в воздухе складов, являются споры плесневых грибов, а также *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, дикие дрожжи. Споры переносятся воздушными потоками на разные участки склада, при этом возрастает общая микробиологическая обсемененность воздуха, тары и товаров. Попадая на товары, споры в благоприятных условиях прорастают и вызывают микробиологическую порчу товаров.

Состав микрофлоры в складах во многом зависит от присутствия определенных микроорганизмов, являющихся основными возбудителями порчи товаров. Так, в корнеплодохранилищах наряду с указанными ранее видами обнаруживается значительное количество спор склеротинии, а в картофелехранилищах - фузариума и фомоза. Кроме, того, на состав микрофлоры и обсемененность влияет климатический режим хранения. При благоприятных условиях микроорганизмы интенсивно размножаются, вследствие чего возрастает микробиологическая обсемененность.

Проведение профилактических мер, в частности по дезинфекции хранилищ до загрузки в них товаров, позволяет значительно снизить общую микробиологическую обсемененность, так как после выгрузки из склада хранившихся в нем товарных партий микроорганизмы и их споры остаются на потолке, стенах, полу, в воздухе.

Особое значение показатель микробиологической обсемененности окружающей среды имеет для многих пищевых продуктов, в частности для скоропортящихся, так как инфицирование их происходит при контакте с загрязненной поверхностью упаковки, оборудования и с воздухом.

Хотя микробиологическая порча непродовольственных товаров встречается реже, неблагоприятные внешние условия (повышенные ОВВ, микробиологическая обсемененность) могут провоцировать развитие

плесневых грибов. В результате этого на тканях, мехах, одежде, обуви, кожгалантерее и даже оптических стеклах бытовой техники могут появляться налеты, состоящие из колоний плесневых грибов.

Общая характеристика микрофлоры пищевых продуктов

Микрофлора пищевых продуктов подразделяется на специфическую и неспецифическую. К специфической относятся микроорганизмы, используемые для приготовления некоторых продуктов, формирующие продукт или специально добавляемые в него для придания определенных вкусовых и питательных качеств. Без специфической микрофлоры фактически не может существовать и сам продукт. Невозможно представить себе приготовление простокваши и кефира без молочнокислых бактерий, пива - без участия дрожжей и т.д.

Специфическая микрофлора представляет интерес для бактериологов, работающих на предприятиях пищевой промышленности. Они постоянно следят за чистотой штаммов, за сохранением их биологических свойств, от которых зависит качество выпускаемого продукта.

В производстве *кисломолочных продуктов* (простокваши, масла, творога и т. п.) чаще всего используется молочнокислый стрептококк и в дополнение к нему сливочный стрептококк. Молочнокислый стрептококк - это грамположительные кокки, располагающиеся попарно, он сбраживает лактозу, глюкозу, галактозу с образованием кислоты и газа. Клетки сливочного стрептококка располагаются в виде цепочек, они придают продукту сметанообразную консистенцию. Иногда в кисломолочные продукты добавляют ароматизирующие стрептококки: стрептококкус цитроворус, стрептококкус диацетилактис и др. Большинство молочнокислых стрептококков может расти на мясопептонном агаре, образуя при поверхностном посеве очень мелкие круглые выпуклые колонии, а при глубинном посеве - колонии в виде чечевичных зерен.

Помимо стрептококков, в приготовлении кисломолочных продуктов принимают участие и молочнокислые палочки. Некоторые кисломолочные продукты (простокваша, ацидофильное молоко и др.) готовят на чистой культуре молочнокислых палочек - это довольно крупные бесспорные грам⁺ палочки. Они, как правило, не растут на МПА.

Кефир получают с помощью так называемого кефирного грибка. Основа грибка состоит из плотного войлокообразного сплетения нитей (палочка стромы), среди которых находятся скопления микроорганизмов, формирующих кефир: молочнокислых стрептококков, молочнокислых палочек и дрожжеподобных грибков.

В препарате, приготовленном из суточного кефира, можно обнаружить главным образом молочнокислые стрептококки, в небольшом количестве молочнокислые палочки и не в каждом поле зрения дрожжевые клетки. В двухсуточном кефире появляется большое количество дрожжевых клеток.

Микроорганизмы молочнокислого брожения участвуют также и в таких процессах, как квашение, мочение овощей и фруктов.

Неспецифическая микрофлора попадает на продукт случайно, загрязняя его. В большинстве своем это микробы-сапрофиты, различные представители палочковидной и кокковой флоры.

При определенных условиях часть микрофлоры может вызвать изменения органолептических свойств пищевого продукта, его порчу. Так, при длительном хранении молока на холоде могут развиваться жирорасщепляющие микробы, вызывающие прогоркание молока; «тягучая болезнь» хлеба обусловлена развитием микробов группы мезентерикус и т. п.

При несоблюдении санитарного режима на пищевых предприятиях продукт в значительной степени «обрастает» посторонней неспецифической микрофлорой, среди которой могут встретиться и патогенные для человека микробы - возбудители инфекционных заболеваний или пищевых отравлений. Многие патогенные микробы не только выживают в пищевом продукте в течение некоторого времени, но и способны размножиться в нем. Всем известны «молочные эпилелии» брюшного тифа или кишечные формы сибирской язвы, возникающие при употреблении зараженных продуктов, и т. п.

ТЕМА 2. Возбудители зооантропонозов

Источником возбудителей зооантропонозов для человека являются прежде всего животные, и в первую очередь те, с которыми человек часто соприкасается в процессе хозяйственной деятельности и в быту: сельскохозяйственные и комнатные животные, грызуны, а также дикие животные - объекты охоты.

Сибирская язва

Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis* (Koch, 1872) – типичный представитель патогенных бацилл. Относится к семейству *Bacillaceae*, роду *Bacillus*. Этот микроб часто называют бациллой антракса.

Сибирская язва (Anthrax) – зооантропоноз. Восприимчивы животные многих видов, особенно травоядные, и человек. Инфекционный процесс протекает преимущественно остро, с явлениями септицемии или с образованием карбункулов различной величины. Болезнь регистрируют в виде спорадических случаев, возможны энзоотии и даже эпизоотии. Название болезни «сибирская язва» предложил в 1789 г. С. С. Андриевский, который изучал ее на Урале и в Сибири.

Микроскопически бацилла сибирской язвы была обнаружена Поллендером в 1849 г. Французские исследователи Давен и Рейс (1850), а в России профессор Дерптского ветеринарного училища Брауэлл (1857) установили также в крови больных и погибших от сибирской язвы овец наличие нитевидных, неподвижных и неветвящихся телец. Брауэлл одним из первых выявил бациллы в крови человека, умершего от сибирской язвы, и экспериментально заразил животных его кровью. Однако роль этих палочек оставалась невыясненной до 1863 г., когда Давен окончательно установил их в качестве возбудителей сибирской язвы.

Чистые культуры бациллы антракса выделил в 1876 г. вначале Р. Кох, а затем Л. Пастер. Независимо друг от друга они культурами этих микробов воспроизвели болезнь у животных. В России первую культуру сибиреязвенного микроба получил В. К. Высокович в 1882 г.

Р. Кох в 1876 г. доказал, что вегетативные клетки сибиреязвенного микроба обладают способностью формировать споры, в 1888 г. Серафини обнаружил капсулу микроба.

Патогенность. К возбудителю сибирской язвы восприимчивы все виды млекопитающих. В естественных условиях чаще болеют овцы, крупный рогатый скот, свиньи, лошади, реже – ослы и мулы. Сибирская язва у свиней протекает, как правило, хронически, с длительным бациллоносительством.

Среди диких животных восприимчивы все травоядные. Известны случаи заболевания собак, волков, лисиц, песцов, среди птиц – уток и страусов.

Патогенез. Бацилла антракса обладает выраженной инвазивностью и легко проникает через царапины кожных покровов или слизистых оболочек. Заражение животных происходит преимущественно алиментарным путем. Через поврежденную слизистую оболочку пищеварительного тракта микроб проникает в лимфатическую систему, а затем в кровь, где фагоцитируется и разносится по всему организму, фиксируясь в элементах лимфоидно-макрофагальной системы, после чего снова мигрирует в кровь, обуславливая септицемию.

Возбудитель сибирской язвы может выделяться из организма с бронхиальной слизью, слюной, молоком, мочой и испражнениями.

Эпизоотологические данные. Все виды млекопитающих, в том числе человек восприимчивы к возбудителю сибирской язвы.

Источник возбудителя – больные животные, выделяющие возбудитель с калом, мочой, слюной, бронхиальной слизью, молоком. Факторы передачи возбудителя – объекты внешней среды, особенно трупы погибших животных, необезвреженные сточные воды мясокомбинатов и кожевенных заводов. Вынужденный убой животных в атональном состоянии опасен. Особенно опасны трупы животных, павших от сибирской язвы, а также их рога, кости, кожа, щетина.

Вирус бешенства

Бешенство – остро протекающая инфекционная болезнь теплокровных животных, характеризующаяся поражением ЦНС, восприимчивы домашние и дикие животные всех видов, а также человек.

Болезнь регистрируется в различных странах земного шара. Не отмечено случаев проявления болезни в Австралии, Великобритании, Японии.

Возбудитель. Вирус принадлежит к семейству *Rabdoviridae*, роду *Lyssavirus*. Вирион пулевидной формы, длиной 180 нм, толщиной 70-80 нм, содержит односпиральную РНК; число капсомеров – 1200-1700, спиральный тип укладки. Наружная оболочка имеет булавовидные выпячивания. Репродукция происходит в цитоплазме нервных клеток.

Устойчивость. Низкие температуры консервируют вирус, высокие – инактивируют. Вирус быстро инактивируется при воздействии обычно используемых дезинфицирующих растворов: лизола (1-2 %), щелочей, формалина, хлорамина (2-3 %). Наилучшим консервантом вируса является 50 % глицерин. Чувствителен к эфиру, хлороформу, фенолу и формалину.

Культивирование. Вирус бешенства хорошо культивируется на естественно-восприимчивых животных, белых мышах, кроликах, развивающихся куриных эмбрионах и культурах клеток.

Восприимчивы все теплокровные животные. При заражении вирус непродолжительное время сохраняется на месте внедрения, а затем по центростремительным нервным волокнам проникает в спинной и головной мозг. Репродукция вируса в сером веществе мозга обуславливает развитие диффузного негнойного энцефалита. Из мозга по центробежным нервным путям вирус попадает в слюнные железы. Здесь он репродуцируется в нервных узлах и после дегенерации нервных клеток выходит в протоки желез, инфицируя слюну. Из мозга вирус нейрогенным путем транспортируется также в сетчатку и роговую оболочку глаз, надпочечники, где, видимо, тоже репродуцируется.

Эпизоотологические данные. К возбудителю бешенства восприимчивы все виды домашних и диких теплокровных животных, и человек. Повышенной восприимчивостью отличаются дикие представители семейства собачьих, грызуны многих видов. Резервуарами инфекции служат только дикие и домашние плотоядные животные определенных видов. Вирус передается от больных животных со слюной при укусах. Однако возможно заражение и при попадании слюны на поврежденную кожу.

Лечение. Не проводят. Заболевших животных немедленно уничтожают, так как их передержка связана с риском заражения людей.

Возбудитель туберкулеза

Микроорганизм рода *Mycobacterium* (лат. *mucos* – гриб, *bacterium* – палочка) включает в себя 49 видов как патогенных, так и непатогенных. К патогенным относят микобактерии, вызывающие туберкулез у людей (*Myc. tuberculosis*), животных (*Myc. bovis*), птиц (*Myc. avium*), мышей (*Myc. murium*), а также у холоднокровных – рыб, змей, лягушек, черепах (*Myc. poikilotermum*); возбудителей проказы (*Myc. leprae*) и паратуберкулеза крупного рогатого скота (*Myc. paratuberculosis*).

Патогенные микобактерии вызывают туберкулез – инфекционную хронически протекающую болезнь у человека, животных, птиц, особенно кур. Патологоанатомически он характеризуется образованием множественных туберкулов (бугорков), подвергаемых творожистому перерождению, обызвествлению. Возбудителей туберкулеза человека и крупного рогатого скота открыл Р. Кох в 1882 г. Птичий вид установили Штраус и Гамалея (1891).

Наряду с истинными возбудителями туберкулеза животных, человека, в объектах окружающей среды присутствуют так называемые атипичные микобактерии, отличающиеся по своим свойствам от туберкулезных и друг от друга.

Микобактерии туберкулеза – кислото-, спирто- и щелочеустойчивые микроорганизмы. Неподвижны, спор и капсул не образуют, жгутиков не имеют. Типичная форма – стройные или слегка изогнутые палочки с закругленными краями. В электронном микроскопе микобактерии всех видов имеют вид палочки с закругленными краями. Однако встречаются нередко изогнутые и овальные формы. Размеры клеток могут значительно варьировать в зависимости от возраста культуры: длина от 1,5 до 4 мкм, ширина от 0,2 до 0,5 мкм. Установлена филогенетическая близость микобактерий туберкулеза с лучистыми грибами-актиномицетами: медленное развитие микобактерий на элективных питательных средах, способ размножения, полиморфность и способность при определенных условиях иногда образовывать нитевидные ветвистые формы с колбовидными вздутиями на концах. Это послужило причиной замены названия *бациллы Коха* на микобактерию туберкулеза (*Myc. tuberculosis*).

Микобактерии туберкулеза размножаются в строго аэробных условиях на специальных элективных питательных средах, содержащие соединения углерода, азота, водорода и кислорода, а также магний, калий, серу и фосфор. Стимулирующее влияние на рост туберкулезных микобактерии оказывают соли железа и некоторые другие элементы. Необходимым условием для осуществления биохимических процессов у микобактерии является создание оптимальной температуры: 37-38 °С для человеческого, 38-39 °С для бычьего и 39-41 °С для птичьего вида.

Микобактерии туберкулеза содержат различные ферменты. Ферменты эстераза и липаза расщепляют жиры; дегидраза – органические кислоты, в том числе аминокислоты; уреазы – мочевины, перигалола – углеводы, каталаза – перекись водорода; протеолитические ферменты (протеаза) – белок. Микобактерии ферментируют алкоголь, глицерин и многочисленные углеводы, лецитин, фосфатиды. У молодых культур микобактерий туберкулеза сильно выражены редуцирующие свойства, что, в частности, проявляется в их способности восстанавливать теллурид.

Микобактерии туберкулеза содержат эндотоксины – туберкулины (Р. Кох, 1890), которые проявляют токсическое действие только в больном организме.

Микобактерии туберкулеза отличаются устойчивостью к химическим и физическим воздействиям, особенно к высушиванию. В высушенной мокроте,

кусочках пораженной ткани, пыли микобактерии сохраняют жизнеспособность от 2 до 7 месяцев и более; в проточной воде – более года, в почве – до 3 лет. Низкие температуры не влияют на жизнеспособность микобактерии.

Возбудитель туберкулеза, попав в организм аэрогенным, алиментарным и другими путями, проникает в межклеточные щели слизистой оболочки, где их поглощают подвижные полиморфноядерные лейкоциты (фагоциты) и с током лимфы или крови разносят по всему организму. Размножение микобактерий туберкулеза и взаимодействие с ними макрофагов происходит преимущественно в тканях с избирательной локализацией туберкулезного процесса (лимфатические узлы, легкие, печень и др.). В дальнейшем в местах жизнедеятельности возбудителя формируется защитный очаг – туберкул.

Источник возбудителя – больные животные, выделяющие возбудитель с калом, мочой, молоком, мокротой. Наиболее опасны животные со скрытым течением туберкулеза. Особенно много возбудителя выделяют животные с открытыми формами туберкулеза (туберкулез легких, кишечника, вымени). Факторы передачи возбудителя – корма, объекты внешней среды; для молодняка – обрат и молоко от больных коров. Основные пути заражения – аэрогенный и алиментарный. Птица, кроме того, заражается трансвариально, и выведенные цыплята являются источником возбудителя инфекции. Небезопасны для животных люди с открытыми формами туберкулеза. Наличие возбудителя туберкулеза в организме животного не всегда приводит к возникновению заболевания.

Болезнь распространяется сравнительно медленно. Для дифференциации микобактерий существуют следующие методы: микроскопический, культуральный, цитохимический, биохимический, серологический, аллергический, биологический и др.

Молоко от коров, буйволиц, овец и коз в неблагополучном по туберкулезу хозяйстве (ферме, стаде) обезвреживают и используют в следующем порядке: от животных оздоравливаемых групп до постановки их на контроль молоко обезвреживают в хозяйстве при 90 0С в течение 5 минут или при 85 0С в течение 30 минут, после чего отправляют на молокозавод, где его подвергают повторной пастеризации при обычном режиме и в дальнейшем перерабатывают без ограничений.

Запрещается продажа молока и молочных продуктов на рынке из неблагополучных по туберкулезу хозяйств и от клинически больных и положительно реагирующих на туберкулез животных частного сектора.

Возбудитель листериоза

Возбудитель листериоза был выделен в 1892 г. Лусетом от больных кроликов. Основной вид – *Listeria monocytogenes* – вызывает болезнь у животных многих видов и человека. Характеризуется септическими явлениями, поражением центральной нервной системы и генитального аппарата.

Морфология. *L. monocytogenes* – полиморфная палочка с закругленными концами, длиной 0,5-3 мкм и шириной 0,3-0,5 мкм; подвижная, грамположительная. В мазках палочки располагаются одиночно или под углом в виде римской цифры V. Спор и капсул не образуют.

Листерии – факультативные аэробы. Оптимум температурного роста на питательных средах с рН 7,2-7,4 составляет 36-38 °С, однако они могут расти при температуре от 4 до 45 °С. На МПА образуют мелкие, круглые, выпуклые, прозрачные колонии диаметром от 0,2-0,4 до 2 мм. В МПБ вызывают помутнение среды с образованием слизистого осадка. Листерии хорошо растут на печеночных средах с добавлением 1 % глюкозы и 2-3 % глицерина. В качестве селективных сред используют МПБ с 0,05 % теллурита калия или 0,01-0,02 % теллурита калия в водном растворе глицерина и растворе флоримицина или полимиксина. На кровяном агаре вокруг колоний образуется зона гемолиза.

Патогенность. Листерии патогенны для многих видов млекопитающих, в том числе грызунов, хищных и копытных, а также для птиц. Из домашних животных листериоз зарегистрирован у овец, коз, свиней, крупного рогатого скота, лошадей, кроликов, кур, уток и др.

Патогенез. В зависимости от места внедрения возбудитель распространяется в организме различными путями: гематогенным, лимфогенным и нейрогенным. Различают септическую и нервную формы болезни. При септической форме, которую чаще наблюдают у молодняка, листерии заселяют все органы и ткани организма, вызывая дегенеративные изменения в паренхиматозных органах. Нервная форма проявляется менингоэнцефалитом, при этом листерии обнаруживают только в головном и спинном мозге. У беременных животных листерии вызывают гибель плодов и аборт. Патогенное действие листерии обуславливается за счет выделения экзо- и эндотоксинов.

Молоко больных листериозом животных после пастеризации в течение 30 минут при 80 °С можно использовать в пищу.

Помещение, в котором производился убой листериозных животных, дезинфицируют горячим (70 °С) 3 % раствором едкой щелочи или раствором хлорной извести, содержащей не менее 2 % активного хлора.

Возбудители бруцеллеза

Бруцеллы – мелкие кокковидные или палочковидные грамотрицательные бактерии. Входят в секцию 4 (грамотрицательные аэробные палочки и кокки), род *Brucella*, который включает в себя шесть видов: *B. abortus* – возбудитель бруцеллеза крупного рогатого скота; *B. melitensis* – овец и коз; *B. suis* – свиней; *B. canis* – собак; *B. neotomae* – кустарниковых крыс; *B. ovis* – инфекционного эпидидимита баранов.

Бруцеллы являются возбудителями бруцеллеза – хронической инфекционной болезни животных и человека, проявляющейся абортами, эндометритами, задержанием последа, орхитами, рецидивирующей лихорадкой, у лошадей – преимущественно бурситами в области холки и воспалением связок затылочного сустава. *B. ovis* вызывает эпидидимит у баранов, яловость, аборт и рождение нежизнеспособных ягнят.

Бруцеллы – мелкие коккобактерии (0,3-0,6 мкм) или палочки (0,6-2,5 мкм), в окрашенных препаратах располагаются одиночно, парами и небольшими группами. Неподвижны, спор не образуют. Мукоидные и гладкие варианты синтезируют нежную капсулу. Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, грамотрицательны. При окраске по Козловскому бруцеллы красные, другие микроорганизмы и фон препарата зеленого цвета.

Культивирование. Бруцеллы могут расти на обычных питательных средах при 36-38 °С и рН 6,8-7,2, однако для их культивирования используют специальные среды: мясопептонный печеночный бульон (МППБ), мясопептонный печеночно-глюкозно-глицериновый агар (МППГТА), печеночно-глюкозно-глицериновый бульон и агар (ПГГБ, ПГГА) с 1 % глюкозы и 2-3 % глицерина, картофельный агар, сывороточно-декстрозный агар и др.

Патогенность. Патогенное действие связано с образованием эндотоксинов, а также гиалуронидазы, каталазы, уреазы. Бруцеллы высокоинвазивны, могут проникать через неповрежденные слизистые покровы пищеварительного тракта, легких, глаз и кожу. Восприимчивы овцы, козы, крупный рогатый скот, буйволы, свиньи, лошади, мулы, верблюды, северные олени, собаки, кошки, многие дикие животные (лоси, косули, сайгаки и др.). Молодняк до половой зрелости более устойчив. Каждый вид бруцелл поражает животных определенного вида.

Патогенез. Независимо от места внедрения в организм бруцеллы распространяются по лимфатическим путям и задерживаются в реги-онарных лимфатических узлах, где размножаются, затем проникают в кровяное русло и попадают в паренхиматозные органы. Бруцеллы – внутриклеточные паразиты, обитающие в клетках лимфоидно-макрофагальной системы. В

местах их размножения образуются специфические гранулемы. При обострении процесса бруцеллы из клеток вновь проникают в кровь, вызывая различной интенсивности бактериемию и рецидив. В результате гибели бруцелл происходит освобождение эндотоксина, который обуславливает соответствующую симптоматику острого и хронического бруцеллеза.

Бруцеллез распространен во многих странах мира, является хронической инфекционной болезнью животных и человека и в связи с социальной опасностью включен в список карантинных болезней. К бруцеллезу восприимчив крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, олени, верблюды, пушные звери, собаки, грызуны. Птицы устойчивы к бруцеллезу даже при экспериментальном заражении.

Ведущими факторами передачи возбудителя бруцеллеза являются: сырье животного происхождения, продукты, контаминированные бруцеллами, предметы ухода, корма, подстилка, вода, почва, одежда обслуживающего персонала. Возникновению болезни способствуют снижение резистентности животных при неудовлетворительных ветеринарно-санитарных условиях содержания поголовья, несвоевременная уборка последов и абортированных плодов, некачественная дезинфекция.

Молоко от коров, положительно реагирующих на бруцеллез, перерабатывают на топленое молоко или кипятят в течение 5 минут, после чего используют только внутри хозяйства. Молоко, полученное от коров оздоравливаемого стада, запрещается направлять на рынок, в столовые и на маслозавод. Его обезвреживают путем пастеризации в хозяйстве при 70 0С в течение 30 минут или при 85 0С – 20 с. Если нет пастеризатора, то молоко кипятят, после чего вывозят на маслозавод или используют внутри хозяйства.

При поступлении на рынок молока полученное от коров, положительно реагирующих на бруцеллез, его проверяют кольцевой пробой. Если получена положительная или сомнительная реакция, то молоко в продажу не допускают. Его уничтожают в лаборатории ветсанэкспертизы рынка в присутствии владельца и сообщают об этом главному ветеринарному врачу района (города), откуда поступило молоко. Об уничтожении молока и молочных продуктов составляют акт в двух экземплярах, один из которых выдается владельцу, другой остается в документах лаборатории.

Вирус лейкоза

Лейкоз – хроническая инфекционная болезнь опухолевой природы, основной признак которой – злокачественное разрастание клеток кроветворных органов с нарушением их созревания, в результате чего происходит диффузная инфильтрация органов этими клетками или

появляются опухоли. Лейкозы животных диагностируют во всех странах земного шара.

Возбудитель. Вирус лейкоза относится к семейству Retroviridae, подсемейству онкорнавирусы. Вирионы имеют специфическую форму; состоят из РНК, внутренней белковой мембраны и липидсодержащей наружной оболочки; размеры – 60-125 нм.

Устойчивость. Во внешней среде выживаемость невысокая: при нагревании до 60 0С погибает через минуту, быстро обезвреживается 2-3 % растворами едкого натра; инактивируется в молоке при нагревании до 74 0С в течение 17 секунд или при рН 4,75.

Молоко от коров, больных лейкозом, использовать в пищу людям запрещается. Такое молоко кипятят, после чего его можно использовать для откорма телят, полученных от больных лейкозом коров, или для откорма свиней. Молоко от коров, подозрительных по заболеванию лейкозом, можно допускать в пищу людям после пастеризации его при температуре 85 0С в течение 10 минут или 5 минутного кипячения. Такое молоко лучше пустить на переработку в топленое молоко, молочно-кислые продукты и топленое масло.

Для обеззараживания помещений, оборудования и спецодежды при лейкозе используют 2-4 % раствор едкого натра или 2 % раствор хлорной извести из расчета на активный хлор.

Вирус ящура

Ящур – остро протекающая высоко контагиозная болезнь парнокопытных, проявляющаяся лихорадкой, везикулярным поражением слизистых оболочек рта, кожи венчика и вымени. Болезнь регистрируется во всех странах мира.

Возбудитель. Вирус ящура относится к семейству Picornaviridae, роду Aphthovirus. Вирион состоит из РНК и белковой оболочки, имеющей 32 капсомера и сферическую (кубическую) симметрию. Доля белка составляет 68,5 % вирусной частицы, а РНК – 31,5 %. Размер вириона – около 20 нм.

Устойчивость. На поверхности предметов вирус сохраняется 150, в навозе – до 168, в навозной жиже – до 40, в сточных водах – до 103 суток. Кислая среда для вируса весьма губительна. При созревании мяса по этой причине (рН=5,9-6,2) вирус погибает через 43 часа.

В молоке вирус ящура при температуре 65 0С погибает через 30 минут, при 70 0С – за 15 минут и при 80-100 0С – за несколько секунд. В кислом молоке вирус погибает.

Растворы хлорной извести, фенола и креолина обезвреживают его лишь через несколько часов. Весьма губительна для ящурного вируса 1-2 % раствор формальдегида.

Патогенез. Входными воротами для вируса служат в первую очередь слизистые оболочки ротовой полости и дыхательных путей. Первичная репродукция вируса происходит уже через 18 ч после заражения в слизистой оболочке глотки, в лимфоузлах и миндалинах головы и шеи. В местах внедрения вируса образуются первичные афты. Из места первичной локализации вирус по лимфотическим путям попадает в кровь и затем в органы лимфоидномикрофагальной системы, где имеются оптимальные условия для обильного накопления вируса и образования очага инфекции, предшествовавшего развитию повторной виремии.

Молоко от коров в ящурном очаге подлежит пастеризации на месте при 80 °С в течение 30 минут или 5 минутному кипячению. Из него можно готовить топленое масло. Если на ветеринарно-санитарную экспертизу на рынке предъявлено молоко от коров, больных ящуром, то его уничтожают.

В более конкретном изложении методики обезвреживания продуктов, полученных от больных ящуром животных приводятся в международном ветеринарном кодексе Международного Эпидемиологического Бюро (2000 г.)

ТЕМА 3. Возбудители порчи пищевых продуктов

Гнилостные (протеолитические) бактерии

Они являются основными возбудителями порчи молочных продуктов, вызывают распад белков (протеолиз), в результате чего могут возникать различные пороки пищевых продуктов зависящие от глубины распада белка. Антагонистами гнилостных являются молочнокислые бактерии, поэтому гнилостный процесс распада продукта возникает там, где не идет кисломолочный процесс.

Протеолиз (протеолитические свойства) изучают посевом микроорганизмов в молоко, молочный агар. Мясопептонный желатин (МПЖ) и в свернутую кровяную сыворотку.

Свернувшийся белок молока (казеин) под влиянием протеолитических ферментов может свертываться с отделением сыворотки (пептонизация) или растворяться (протеолиз).

На молочном агаре вокруг колоний протеолитических микроорганизмов образуются широкие зоны просветления молока.

В МПЖ посев производят уколом внутрь столбика среды. Посевы выращивают 5-7 сут при комнатной температуре. Микробы, обладающие протеолитическими свойствами, разжижают желатин. Микроорганизмы, не обладающие протеолитической способностью, растут в МПЖ без его разжижения.

В посевах на свернутой кровяной сыворотке протеолитические микроорганизмы также вызывают разжижение, а микроорганизмы, не обладающие этим свойством, не изменяют ее консистенцию.

Гнилостные бактерии имеют очень широкое распространение. Они встречаются в почве, воде, воздухе, кишечнике человека и животных, на пищевых продуктах. К этим микроорганизмам относятся спорообразующие аэробные и анаэробные палочки, пигментообразующие факультативно-анаэробные бесспорные бактерии.

Спорообразующие

К гнилостным аэробам относятся *Bac. subtilis* - сенная палочка, *Bac. mesentericus* - картофельная палочка, *Bac. др.*

К спорообразующим гнилостным анаэробам относятся бактерии рода *Clostridium*.

Все спорообразующие гнилостные представляют собой довольно крупные толстые палочки, достигающие размеров 0,5-2,5 x 10 (у клостридий до 20) мкм, по Граму красятся положительно, подвижные до момента спорообразования, капсул не образуют.

Спорообразующие аэробы хорошо растут на обычных питательных средах. На МПБ они вызывают помутнение среды, часто образование плени и хлопьевидного осадка.

Спорообразующие обладают хорошо выраженными протеолитическими свойствами: разжижают желатин, свертывают и пептонизируют молоко, вызывают гемолиз, выделяют аммиак, сероводород, а анаэробы выделяют еще и индол.

Бесспорные

Включают пигментообразующие факультативно-анаэробные бактерии. К пигментным гнилостным относят флюоресцирующую, синегнойную и чудесную палочки.

Споровые гнилостные представляют собой мелкие (1-2 x 0,6 мкм) грамотрицательные подвижные палочки, не образующие спор и капсул. Клетки располагаются беспорядочно. Наиболее короткими коккобактериями являются клетки чудесной палочки. Палочка протей имеет полиморфные клетки. Бесспорные палочки являются в основном мезофиллами.

Флюоресцирующая палочка психрофил

Микроорганизмы хорошо растут на обычных питательных средах. На МПБ вызывают обильное помутнение бульона, иногда появление пленки, пигментообразующие - изменение цвета среды. На МПА образуют окрашенные в цвет пигмента колонии.

Флюоресцирующие палочки выделяют зеленовато-желтый пигмент, Синегнойная палочка выделяет пигмент сине-зеленого цвета, Чудесная палочка образует колонии, окрашенные в ярко-красный или вишнево-красный цвет.

Беспоровые палочки разжижают желатин, свертывают и пептонизируют молоко, образуют аммиак, иногда сероводород и индол. Сахаролитические свойства выражены у них слабо.

Для количественного учета протеолитических микроорганизмов используют молочный агар (кроме эшерихии коли).

Маслянокислые бактерии

Они являются возбудителями маслянокислого брожения, в результате которого молочный сахар и соли молочной кислоты (лактаты) расщепляются с образованием масляной, уксусной, пропионовой, муравьиной кислот, этилового, бутилового спиртов. Они способны расщеплять белки и усваивать азот из белков, аминокислот, аммиака, а некоторые представители — молекулярный азот из воздуха.

Маслянокислые бактерии относят к роду *Clostridium*.

Это грамположительные палочки цилиндрической формы размером 5-12 x 0,5-1,5 мкм, подвижные до момента спорообразования. Капсул не образуют, споры располагаются терминально и субтерминально. Клетки имеют вид булавы тенистой ракетки или ложки, споры выдерживают кипячение в течение 2-3 мин, при пастеризации не погибают.

Облигатные анаэробы. Особенности, развития этих микроорганизмов являются бурное газообразование и неприятный запах масляной кислоты. Оптимальная температура развития 30-35°C, температурные пределы роста 8-45 °C.

В сыроделии количественный учет спор маслянокислых бактерий (мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий) проводят на плотной лактатно-ацетатной селективной среде.

Наличие маслянокислых бактерий определяют по образованию газа, запаху масляной кислоты, наличию в микроскопическом препарате крупных споровых палочек, дающих положительную реакцию на гранулезу. Гранулеза – крахмалоподобное вещество, являющееся цитоплазматическим включением и окрашивающееся йодом (раствором Люголя) в синий цвет.

Клостридии обладают хорошо выраженной протеолитической и сахаролитической активностью. Сбраживают молочный сахар, усваивают соли молочной кислоты (лактаты) с образованием масляной, уксусной кислот, небольшого количества этилового спирта и большого количества газов CO₂ и H₂. В результате обильного газообразования они могут вызывать порок позднее вспучивание сыров.

Энтерококки

Энтерококками называются молочнокислые стрептококки кишечного происхождения, т.е. они являются представителями нормальной микрофлоры кишечника человека и животного и выделяются в окружающую среду в довольно значительных количествах (в 1 г фекалий- 10⁸-10⁹ жизнеспособных особей), но примерно в 10 раз меньше, чем БГКП. В настоящее время энтерококки считаются вторым после БГКП санитарно-показательным микроорганизмом при исследовании воды водоемов, особенно проб воды колодцев, плавательных бассейнов, сточных вод, почвы, предметов обихода.

Энтерококки представляют собой диплококки овальной формы или круглой формы, размером 0,6-2 x 0,6-2,5 мкм, иногда располагающиеся цепочками, грамположительны, спор и капсул - не образуют, неподвижные. Факультативные анаэробы, хорошо размножаются на простых питательных средах; но при выращивании необходимо пользоваться средами с ингибиторами, подавляющими сопутствующую флору (бактерии группы кишечных палочек, протей и др.). Лучший рост наблюдается при добавления в среду глюкозы, дрожжевых препаратов и других стимуляторов роста. При культивировании в жидких питательных средах образуется осадок и наблюдается диффузное помутнение. На плотных средах колонии энтерококков мелкие, серовато-голубые, прозрачные, круглые с ровными краями, выпуклые, с блестящей поверхностью. На кровяном агаре в зависимости от биовара они могут давать гемолиз, изменение цвета вокруг колоний на зеленовато-бурый, так как гемоглобин превращается в метгемоглобин. Оптимальная температура роста 37 °С, пределы - 10-45 °С.

Для определения энтерококков используется молочная среда с полимиксином по Калине.

Энтерококки являются хемоорганотрофами, метаболизм у них бродильного типа, разлагают глюкозу и маннит до кислоты и газа, но не обладают каталазной активностью.

Энтерококки довольно устойчивы к физическим и химическим факторам, что и было положено в основу дифференциации энтерококков от других стрептококков, входящих в нормальную микрофлору человека и вызывающих заболевание: верхних дыхательных путей. Помимо

устойчивости к температуре (легко переносят нагревание до 60 °С в течение 30 мин) энтерококки резистентны к действию активного хлора, некоторых антибиотиков, красителей и др.

Будучи термостойкими, они составляют значительную часть остаточной микрофлоры пастеризованного молока и играют роль при созревании сыра. Энтерококки являются нежелательными микроорганизмами в молоке и молочных продуктах, так как они могут выделять сычужный фермент вызывающий прокисание молочных продуктов и преждевременное свертывание молока.

Термоустойчивые молочнокислые палочки

Эти микроорганизмы могут выдержать кратковременное нагревание в молоке при температуре 85-900С, иногда и выше, что является важным отличительным признаком этих бактерий от других видов термофильных молочнокислых палочек.

Клетки средних размеров или крупные палочки, располагаются одиночно или цепочками. По Граму красятся положительно, спор и капсул не образуют, неподвижны.

Являются факультативными анаэробами, на обычных средах не растут. Хорошо растут в обезжиренном молоке, а также на агаре с гидролизированным молоком.

В отличие от термофильных лактобактерий, используемых в молочной промышленности, термоустойчивые палочки на агаре с гидролизированным молоком образуют поверхностные колонии более крупные, локонообразные или зернистые, с темным центром. Глубинные колонии мелкие, темные или желтовато-бурые, иногда с короткими отходящими нитями. Растут при температуре от 20 до 650С, оптимум 45-55°С.

Термоустойчивые палочки свертывают молоко в течение 8-10 час, предельная кислотность достигает 150-220 °Т. При сквашивании молока образуется ровный слизистый или неслизистый сгусток, без газа. Растут в среде с содержанием 2-3 % поваренной соли, 30-40 % желчи. Устойчивы к действию дезинфицирующих средств, применяемых в молочной промышленности, что затрудняет борьбу с ними. Обладают антагонистической активностью по отношению к кишечным палочкам.

В результате жизнедеятельности термоустойчивых палочек происходит интенсивное кислотообразование, обуславливающее порок творога, сметаны, обыкновенной простокваши излишне кислый вкус. Могут вызвать тягучесть т нечистый неприятный вкус.

Термоустойчивые молочнокислые бактерии обнаруживают в сыром молоке, в молоке пастеризованном при 74-760С с выдержкой 15-20 сек или

80-850С с выдержкой 5-10 мин; на оборудовании, в кисломолочных продуктах и заквасках.

Бактериофаги

Представляют собой разнообразно устроенные ДНК- или РНК-содержащие вирусы, являющиеся внутриклеточными паразитами бактерий. Они вызывают лизис (растворение) бактерий, используемых при производстве молочных продуктов, в результате чего увеличиваются сроки выработки продукта, ухудшается его качество.

При производстве кисломолочных продуктов наибольшее значение имеют фаги, поражающие мезофильные молочнокислые стрептококки: лаксис, среморис, диацетилакис.

Цикл развития бактериофагов. При попадании фаговой частицы в культуру бактерий она адсорбируется на бактериальной стенке и при помощи протеолитического фермента разрывает клеточную стенку. Затем белковая оболочка фага сокращается и ДНК впрыскивается в цитоплазму бактериальной клетки. В клетке начинается синтез ДНК фага и его белка. Одновременно подавляется бактериальная генетическая система. В дальнейшем образуются вегетативные фаговые частицы, а через 30-60 мин стенка бактериальной клетки набухает и прорывается, при этом освобождается 100 новых частиц, которые могут инфицировать 100 новых бактериальных клеток. Так продолжается до тех пор, пока не лизируются все чувствительные клетки бактерий.

Благоприятные условия для размножения фагов находятся в диапазоне температур от 8 до 460С. Основными условиями, способствующими размножению фагов, являются непрерывное ведение технологического процесса, кислая реакция среды, добавление хлорида кальция, разбрызгивание сыворотки, перемешивание.

Основными условиями, подавляющими развитие бактериофага, служат внесение в молоко сычужного фермента, обработка оборудования УФ-лучами, раствором хлорной извести или другими моюще-дезинфицирующими растворами.

Большое практическое значение имеет специфичность фагов. т.е. способность их размножаться в определенных видах бактерий. Такие фаги и клетки называют гомологичными. Специфичные бактериофаги могут лизировать один и даже восемь штаммов одного вида микробов. Установлена также различная фагочувствительность штаммов бактерий, которые могут лизироваться одним или несколькими штаммами бактериофагов. В связи с этим в лабораториях, разрабатывающих закваски, определяют наличие

бактериофага в молоке и чувствительность заквасочных штаммов к бактериофагу.

Наличие бактериофага в молоке или закваске устанавливают посевом их в стерильное обезжиренное молоко с добавлением раствора метиленового голубого. Если в процессе культивирования после обесцвечивания метиленового голубого через 4-5 ч снова наблюдается посинение молока, то это указывает на наличие бактериофага

Фаги чувствительны к воздействию высоких температур, они выдерживают режимы пастеризации молока при 750С в течение 15 сек.

Они хорошо переносят замораживание и длительное хранение (годами) при низких температурах в высушенных субстратах. Фаги обладают высокой чувствительностью к кислотам. Ультрафиолетовые лучи и ионизирующая радиация вызывает их инактивацию, а более низких дозах – мутацию.

Бактериофаги имеют широкое распространение. Их можно встретить в почве, фекалиях и сточных водах. Поэтому первичное обсеменение молока происходит обычно на ферме. Другими источниками загрязнения являются воздух, зараженная фагами вода, а также недостаточно вымытые и продезинфицированные емкости.

Для борьбы с фагами чаще применяют асептическое выращивание заквасок, частую смену штаммов бактерий в закваске, использование питательных сред, тормозящих деятельность фагов и др.

Асептическое изготовление заквасок предусматривает абсолютную стерильность, достаточно высокое нагревание молока (не меньше 900С), самую тщательную мойку и дезинфекцию всех установок для производства заквасок. Закваски необходимо использовать в течение нескольких дней, а затем применять другую закваску с очень похожими свойствами. Для смены необходимо иметь от 3 до 8 заквасок.

В питательную среду можно добавлять, так называемое, иммунное молоко, т. е. молоко, полученное от коров, иммунизированных бактериофагами, и содержащее специфические противофаговые антитела.

Кроме того, необходимо осуществлять мойку, дезинфекцию и другие - санитарно-гигиенические мероприятия, уменьшающие загрязнение производственных помещений и оборудования бактериофагами.

Санитарно-показательные, а также патогенные микроорганизмы, передающиеся через молоко и молочные продукты

Возбудители пищевых отравлений

Пищевые отравления микробной этиологии условно подразделяют на пищевые токсикозы и токсикоинфекции.

Пищевыми токсикозами (интоксикациями) называют пищевые отравления, связанные с употреблением в пищу продуктов, в которых накопился экзотоксин в результате жизнедеятельности токсинообразующих микроорганизмов.

Эзотоксин всасывается через желудочно-кишечный тракт в кровь и разносится по всему организму. При этом поражаются в первую очередь сердечно-сосудистая и центральная нервная системы.

Возбудителями пищевых токсикозов являются патогенные стафилококки, стрептококки, возбудитель ботулизма и токсигенные грибы. Токсикозы грибного происхождения называют микотоксикозами.

Пищевые токсикоинфекции – острые кишечные заболевания, возникающие в результате употребления пищевых продуктов, содержащих большое количество живых микробов.

Попав в желудочно-кишечный тракт человека, одни микробы погибают, а другие проникают в лимфатические узлы кишечника и там разрушаются, высвобождающийся эндотоксин вызывает патологические изменения в стенке кишечника и оказывает токсическое воздействие на центральную нервную систему.

Пищевые токсикоинфекции вызывают бактерии родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Clostridium*, *Bacillus*, иногда – энтерококки и др.

Возбудители пищевых токсикозов

Патогенные стафилококки

Различают сапрофитные, условно-патогенные и патогенные виды стафилококков. Сапрофитные виды содержатся в воздухе, почве, воде, на поверхности растений. Условно-патогенные и патогенные обитают в организме людей и животных: на коже и слизистых оболочках. Патогенные стафилококки часто обуславливают гнойно-воспалительные процессы – маститы, флегмоны, нагноения ран и др. Они также вызывают пищевые токсикозы у людей. Заболевания возникают часто в результате употребления молока и молочных продуктов, содержащих экзотоксин этих микроорганизмов.

Стафилококки представляют собой круглые клетки, располагающиеся в виде скоплений, напоминающих виноградные грозди.

Они неподвижны, спор и капсул не образуют, красятся всеми видами красителями, грамположительны.

Стафилококки - факультативные анаэробы, не прихотливы к питательным средам и развиваются при температуре от 10 до 43°C (оптимум 32-37 °C). Хорошо развиваются в слабощелочной среде Н 7,2-7,6, однако рост возможен и в слабокислой среде.

На МПБ стафилококки вызывают помутнение среды и выпадение обильного осадка. В пробирках нередко появляются пристеночное серовато-белое кольцо и такая же пленка. На МП4 бактерии растут в виде выпуклых, с ровными краями колоний диаметром от 1 до 4 мм.

При росте на МПЖ через несколько дней (обычно на пятый день) наблюдается разжижение среды. Молоко свертывают и пептонизируют.

Стафилококки расщепляют лактозу, декстрозу, сахарозу, мальтозу, продуцируют каталазу, уреазу, аммиак и водород.

В связи с тем, что основным источником обсеменения сборного молока стафилококками является молоко, полученное от коров, больных маститом, необходимо выявлять больных животных и не допускать смешивания маститного и сборного молока.

Источником обсеменения молока патогенными стафилококками могут быть люди с гнойничковыми поражениями кожи (фурункулами; абсцессами, нагноившимися ранами), а также людей больных ангиной. Такие люди не должны допускаться до работы на пищевых предприятиях.

Патогенные стрептококки

Патогенные стрептококки чаще обуславливают маститы, гнойно-воспалительные процессы, сепсис, острые и хронические инфекционные болезни. Причиной пищевых токсикозов являются в основном возбудители маститов.

Стрептококки представляют собой неподвижные грамположительные кокки, имеющие форму шара диаметром 0,8-1 мкм. Спор и капсул, как правило, не образуют. В процессе деления формируют короткие или длинные цепочки.

Стрептококки плохо растут на обычных питательных средах. Их культивируют на средах с добавлением сыворотки крови и глюкозы. На МПА вырастают точечные беспигментные колонии, на МПБ вызывают небольшое помутнение и образование осадка.

Возбудитель ботулизма

Ботулизм - это пищевое отравление, относящееся к числу самых тяжелых заболеваний, связанных с употреблением пищи, инфицированной

бактерия ботулином. Ботулизм при запоздалом распознавании и лечении часто заканчивается смертельным исходом.

Клостридии представляют собой крупные палочки длиной 3,4-8,6 мкм и шириной до 1,3 мкм. Возбудитель подвижен до момента спорообразования, перитрих, по Граму красится положительно, капсул не образует. Споры располагаются в клетке субтерминально. Палочка со спорой по виду напоминает теннисную ракетку, ложку, лодочку. Палочка ботулизма является строгим анаэробом. Условия, благоприятные для размножения возбудителя ботулизм и накопления токсина, создаются в герметически закрытых банках (консервах), в глубинных участках твердых пищевых продуктов.

Клостридии ботулизма культивируют на казеиновых или мясных питательных средах, в жидкие мясные среды рекомендуется добавлять мясной или печеночный фарш, в казеиновые - отварное пшено. На плотных средах — кровяном, печеночном или сахарном агаре - растут в виде небольших прозрачных колоний с ровными или изрезанными краями. На кровяном агаре вокруг колонии образуется прозрачная зона гемолиза. Оптимальная температура роста 30-40°C, pH 7,2-7,4.

Клостридии сбраживают глюкозу, фруктозу и некоторые другие углеводы, но сахаролитические свойства непостоянны. По протеолитическим свойствам серовары неоднородны. Протеолитические штаммы способны расплавлять кусочки печени или мясного фарша на средах типа Кита - Тароцци.

Споры возбудителя устойчивы к воздействию внешней среды. Они сохраняют жизнеспособность при таких условиях, когда погибают все другие живые организмы, споры выдерживают кипячение в течение 5-6 ч, сохраняют жизнеспособность в спирте в течение 2 месяцев, противостоят действию кислот и формалина, устойчивы к замораживанию.

Возбудитель ботулизма широко распространен в природе и часто обнаруживается в почве, силосе, на корнеплодах. Являясь нормальными обитателями кишечника млекопитающих (животных, человека) и рыб, клостридии ботулизма с испражнениями выделяются в почву и воду, где длительно сохраняются в виде спор. Отсюда возможно попадание микробов в сырье для приготовления различных консервов.

В отличие от доброкачественной пищи продукты, содержащие возбудителя ботулизма, могут иметь специфический запах прогорклого масла, «щиплющий» вкус, становятся бледными на вид, рыхлой консистенции. Металлические банки с зараженными консервами часто вздуваются (бомбаж). Однако все эти признаки непостоянные, и пищевые продукты с большой

концентрацией ботулинического токсина могут на вид ничем не отличаться от доброкачественных.

Возбудители микотоксикозов

Микотоксикозы - интоксикации людей, возникающие при употреблении в пищу продуктов, пораженных токсическими грибами. Отравление вызывается ядовитыми метаболитами, образующимися в грибах и субстрате в период их жизнедеятельности и накапливающимися в пищевых продуктах.

При микотоксикозах поражаются все органы и системы. Микотоксикозы имеют характерные особенности: внезапность появления, короткий инкубационный период, отсутствие контагиозности. Тяжесть и клиническое проявление болезни зависят от количества яда, попавшего в организм, от длительности воздействия на организм токсических веществ грибов, возрастных и индивидуальных особенностей организма.

Возбудители пищевых токсикоинфекций

Сальмонеллы

Пищевые отравления, вызываемые бактериями рода *Salmonella*, занимают первое место среди микробных пищевых отравлений.

Бактерии - это мелкие грамтрицательные палочки. Клетки имеют длину в среднем от 2 до 5 мкм и ширину 0,6 мкм. Большинство видов сальмонелл подвижны, имеют перитрихальные жгутики, капсул и спор не образуют.

Сальмонеллы хорошо растут на обычных питательных средах, факультативные анаэробы. Оптимальный рост наблюдается при температуре 37°C.

На МПБ сальмонеллы вызывают помутнение, на МПА образуют колонии средних размеров (диаметром 2-3 мм), трудноотличимые от колоний бактерий группы кишечных палочек.

Сальмонеллы ферментируют с образованием кислоты и часто газа глюкозу, мальтозу манит и сорбит.

Сальмонеллы являются хемоорганотрофами, обладают дыхательным (с использованием кислорода) и бродильным (дегидрогенирование) типами метаболизма. Образуют фермент каталазу и сероводород Индол не образуют. Проба с метиловым красным положительная. Встречаются у человека, теплокровных и холоднокровных животных, в пищевых продуктах. Патогенны для человека и многих видов животных.

Кроме пищевых токсикоинфекций, вызывают брюшной тиф, паратифы и септицемию.

Они не образуют спор, но отличаются относительно высокой устойчивостью к действию различных физических и химических факторов внешней среды, а также антибиотиков. Хорошо переносят высушивание,

сохраняясь при комнатной температуре на различных субстратах в течение 2,5-3 мес.; в высушенных испражнениях животных - в течение 3-4 лет. В замороженных овощах (при минус 18 °С) сальмонеллы сохраняются в течение 2-2,5 лет.

В молочных продуктах эти микробы не только длительно сохраняются (до 3-4 мес.), но и размножаются, не изменяя внешнего вида и вкусовых свойств продуктов. В масле сальмонеллы обнаруживают в течение 4 мес при хранении в комнатных условиях и 9-10 мес. - в условиях холодильника. В твороге жизнеспособность сальмонелл наибольшая - до 34 мес. В воде, особенно с низким значением рН, сальмонеллы выживают до 2 мес.

Основными источниками сальмонеллезной инфекции являются сельскохозяйственные и домашние животные, птицы.

Заражение пищевых продуктов сальмонеллами может быть различным. Если молоко инфицируется непосредственно от больных животных, то такое заражение называют первичным. Вторичное инфицирование продуктов наступает при их неправильной обработке, хранении, транспортировании.

Профилактика пищевых токсикоинфекций должна включать мероприятия, направленные на ликвидацию сальмонеллезной инфекции, а также соблюдение санитарно-гигиенических условий при получении молока, транспортировании и хранении молочных продуктов.

Кишечные палочки рода *Escherichia* (Эшерихия).

Будучи постоянными обитателями кишечника человека и животных, бактерии рода Эшерихия (*E. coli*) при определенных условиях приобретают патогенные свойства и становятся возбудителями различных патологических процессов. Они обуславливают колибактериоз молодняка животных, колиэнтериты у детей, вызывают маститы и др.

Кишечные палочки, вызывающие пищевые токсикоинфекции, называют энтеропатогенными. Их часто обнаруживают в молочных, мясных и других продуктах, но пищевые отравления они вызывают сравнительно редко. Это объясняется тем, что эшерихии не всегда накапливаются в продуктах в количестве, необходимом для возникновения заболевания, а главное тем, что сравнительно немногие штаммы кишечных палочек являются патогенными для человека.

Источники патогенных штаммов кишечных палочек - больные животные, а также люди, нарушающие санитарно-гигиенический режим на производстве молочных продуктов.

Основной токсин эшерихий - термостабильный эндотоксин, выдерживающий нагревание до 90-1000С. Он представляет собой типоспецифичный эндотропный яд.

Кишечные палочки не обладают выраженной устойчивостью. Они обезвреживаются при режимах пастеризации молока 600С погибают через 15 мин, 1%-ный раствор фенола вызывает гибель микроорганизмов через 5-15 мин.

Для профилактики пищевых токсикоинфекций, вызываемых кишечными палочками, необходимо соблюдать правила личной гигиены работниками молочной промышленности, повышать санитарную культуру населения, предупреждать фекальное загрязнение воды и пищевых продуктов.

Бактерии рода *Proteus* (Протеус)

Это прямые полиморфные палочки, размером 0,4-0,8 x 1-3 мкм, грамотрицательные, подвижные за счет перитрихальных жгутиков, спор и капсул не образуют.

По отношению к кислороду бактерии являются факультативными анаэробами, а по типу обмена веществ — хемоорганотрофами, обладающими и дыхательным и бродильным типами метаболизма. Оптимальная температура развития 370С. Большинство штаммов не образуют колоний на плотных питательных средах. Они растут в виде тонкого вуалеобразного налета с образованием концентрических зон или распространяются по влажной поверхности питательной среды в виде однородной пленки.

Бактерии ферментируют глюкозу с образованием кислоты и часто газа. Некоторые виды сбраживают глицерол, мальтозу, сахарозу.

Палочки осуществляют окислительное дезаминирование фенилаланина и триптофана, гидролизуют мочевины. Обычно образуют сероводород, иногда индол, восстанавливают нитраты.

Встречаются в кишечнике человека и разнообразных животных, а также в навозе, почве, загрязненных водах, в гниющих органических субстратах.

Многие штаммы бактерий патогенны для человека: кроме пищевых токсикоинфекций могут вызывать инфекции мочевых путей, а также вторичные поражения, приводящие к образованию септических очагов, особенно при ожогах.

Источником пищевых отравлений являются употребляемые человеком продукты, обильно обсемененные этими микроорганизмами.

Пищевые отравления обусловлены также действием высокоактивных ферментов и способствующих накоплению токсических продуктов распада белков аминов.

Бактерии устойчивы к низким температурам, переносят трехкратное попеременное замораживание и отваривание. Режимы пастеризации молока обезвреживают возбудителя, 1%-ный раствор фенола вызывает гибель палочек протея через 30 мин.

Профилактика пищевых токсикоинфекций, обусловленных бактериями, такая же, как и при пищевых токсикоинфекциях, вызванных бактериями рода Эшерихия.

Клостридии перфрингенс (*Cl. perfringens*).

Токсикоинфекции, вызываемые *Cl. perfringens*, занимают третье место после пищевых отравлений сальмонеллезного и стафилококкового происхождения.

Название возбудителя связано со способностью образовывать большое количество газа, который разрывает окружающую плотную питательную среду. Термин «перфрингенс» в переводе с латинского языка означает «проламывающий», «прорывающий», «прокладывающий дорогу силой».

Клостридии представляют собой крупные неподвижные грамположительные палочки. В организме людей и животных образуют капсулу. Медленно образуют споры.

Cl. perfringens - анаэроб, но может расти в присутствии небольшого количества кислорода. Микроорганизмы этого вида хорошо растут на мясных и казеиновых питательных средах. Быстрый рост наблюдается на средах, содержащих глюкозу, лактозу, мальтозу или маннозу. На плотных питательных средах образуют гладкие (S), шероховатые (R) и слизистые (M) колонии размером от 1 до 5 мм.

Cl. perfringens развивается при температуре от 15 до 50°C. Оптимальная температура для наиболее быстрого роста составляет 37°C.

Особенностью *Cl. perfringens* является способность к быстрому размножению. Продолжительность его регенерации составляет 10 мин. При росте в молоке образует сгусток и большое количество газа (пены).

Возбудитель сбраживает глюкозу с образованием солей молочной, уксусной и масляной кислот, этилового спирта, углекислого газа и водорода, может ферментировать фруктозу, галактозу, маннозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, рибозу, крахмал, декстрин и гликоген. Ферментация глицерина непостоянная, а маннит не ферментируется.

Cl. perfringens образует сероводород и не образует индола. Большинство штаммов восстанавливают нитраты до нитритов, разжижают желатин. Он вырабатывает несколько типов токсинов.

Споры *Cl. perfringens* более устойчивы, чем вегетативные клетки. При кипячении они погибают в течение 15-30 мин.

Cl. perfringens широко распространен в почве, содержимом кишечника и, следовательно, может заражать многие пищевые продукты.

Среди многочисленных патогенных и сапрофитных видов рода *Cl. perfringens* в качестве санитарно-показательных привлекают микроорганизмы,

постоянным местом пребывания которых является кишечник человека и теплокровных животных.

Поскольку только клостридии кишечного происхождения обладают редуцирующими (восстанавливающими) свойствами при росте на железосульфитных средах, этот признак является основным для суждения о санитарной показательности таких микроорганизмов.

Использование *Cl. perfringens* в качестве санитарно-показательного микроорганизма основывается также на том, что споры его во внешней среде не обладают высокой устойчивостью, в пищевых продуктах он размножается только при температуре 18-200С и выше. Начиная с 6-8 ч. хранения, по мере нарастания общего количества бактерий размножение его замедляется, а затем полностью прекращается. Особенно чувствителен *Cl. perfringens* к кислой реакции среды.

Сульфитредуцирующие анаэробы выделяются из кишечника людей и животных преимущественно в виде вегетативных клеток, а в почве, как правило, сохраняются в форме спор. По отношению количества обнаруженных в исследуемом объекте вегетативных форм к числу спор можно судить о свежести фекального загрязнения.

Понятие о санитарно-показательных микроорганизмах

Основными источниками распространения возбудителей большинства инфекционных болезней являются больные люди и теплокровные животные. Наиболее массивное выделение ими микроорганизмов в окружающую среду происходит с фекалиями.

При санитарно-микробиологическом исследовании решают вопрос о наличии или отсутствии в пищевых продуктах и других объектах внешней среды опасных для человека микроорганизмов. Прямое обнаружение возбудителей инфекционных болезней имеет целый ряд трудностей. Во-первых, патогенные микроорганизмы находятся в окружающей среде непостоянно; сравнительно легко их можно обнаружить во время эпидемии, но очень трудно - в межэпидемические периоды. Во-вторых, количество патогенных микроорганизмов, попавших в окружающую среду, значительно уступает непатогенным, и распространение их в загрязненных объектах неравномерно. Трудности возникают и при выращивании патогенных микробов на питательных средах, поскольку их развитие подавляется сапрофитной микрофлорой.

В связи с этим санитарную оценку различных объектов проводят не прямым, а косвенным путем, т. е. устанавливают факт загрязнения этих объектов не возбудителями кишечных инфекций, а кишечными выделениями

человека или теплокровных животных. Чем обильнее это загрязнение, тем более вероятно попадание в объект патогенных микробов.

Выделяемые микробы из кишечника человека (биотопом - единственной природной средой обитания) служат показателями санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов, а потому названы санитарно-показательными.

Санитарно-показательные микроорганизмы являются обитателями естественных полостей человеческого или животного организма.

Разработаны принципы оценки пригодности микроорганизмов в качестве санитарно-показательных.

В связи с этим не все микроорганизмы, входящие в состав нормальной флоры организма человека или животных, могут быть признаны санитарно-показательными. Они должны отвечать следующим требованиям:

- постоянное содержание в фекалиях и постоянное поступление в окружающую среду в больших количествах;
- отсутствие другого природного резервуара, кроме организма человека и животных;
- сохранение жизнеспособности в окружающей среде в течение сроков, близких к срокам выживания патогенных микробов, выводимых из организма теми же путями; устойчивость должна быть не ниже, а по возможности несколько выше устойчивости соответствующих патогенных микробов;
- отсутствие размножения в окружающей среде;
- простота обнаружения, т. е. они должны хорошо расти на искусственных питательных средах и не иметь во внешней среде аналогов-сапрофитов, сходство с которыми потребовало бы сложных и многочисленных приемов дифференцирования;
- постоянство свойств, т. е. они не должны изменяться под воздействием факторов внешней среды;
- отсутствие зависимости от наличия других микроорганизмов, т.е. не подавляться и не стимулироваться другими микроорганизмами;
- равномерное распределение в исследуемых объектах внешней среды.

Приведенному перечню требований не отвечает в полной мере ни один санитарно-показательный микроорганизм, однако чем большему количеству требований он удовлетворяет, тем в большей степени.

Бактерии группы кишечных палочек являются самыми распространенными санитарно-показательными микроорганизмами.

Во многих стандартах на молочные продукты наряду с определением санитарно-показательных микроорганизмов в качестве косвенного показателя санитарного состояния продукта и санитарно - гигиенических условий

производства учитывают общую бактериальную обсемененность продуктов, оборудования и других объектов, т.е. определяют количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных бактерий или показатель КОЕ (колониеобразующие единицы).

Бактерии группы кишечных палочек

Основными санитарно-показательными микроорганизмами являются бактерии группы кишечных палочек БГКП, объединяющие 3 рода микроорганизмов — *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, входящих в семейство *Enterobacteriaceae*.

В соответствии с ГОСТ 2874-82 и ГОСТ 18963-73 к БГКП относят мелкие подвижные грамотрицательные, не образующие спор палочки, не обладающие оксидазной активностью, ферментирующие лактозу и глюкозу с образованием кислоты и газа при температуре 37 °С (в течение 5-24 ч).

Кишечные палочки (бактерии группы кишечных палочек) - это факультативные анаэробы, хорошо растущие в универсальных питательных средах, устойчивые к действию многих анилиновых красителей. Им свойственна широкая приспособительная изменчивость, в результате которой возникают разнообразные варианты, что усложняет их классификацию.

Из всех БГКП наибольшее санитарно-показательное значение имеют микроорганизмы рода *Escherichia*.

По способности расщеплять лактозу при температуре 37°С БГКП делят на лактозоотрицательные и лактозоположительные кишечные палочки (ЛКП), или колиформные. Из групп ЛКП выделяют фекальные кишечные палочки (ФКП), которые способны ферментировать лактозу при температуре 44,5 °С. К ним относится *E. coli* не растущая на цитратной среде.

Для дифференциации бактерий группы кишечных палочек используют среду Эндо, на которой *E. coli* дает характерный рост в виде колоний красного цвета с металлическим блеском.

При росте БГКП на жидких питательных средах (МПБ) наблюдаются значительные помутнение среды и образование сероватого, легко разбивающегося осадка. Пленка на поверхности бульона обычно не образуется.

На МПА БГКП образуют средних размеров округлые гладкие блестящие полупрозрачные колонии.

Кишечные палочки не разжижают желатин, способны ферментировать целый ряд углеводов - лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу с образованием кислоты и газа.

В молоке бактерии группы кишечных палочек хорошо размножаются, доводя его кислотность до 60-80 °Т и образуя в нем неровный ноздреватый

сгусток. В присутствии молочнокислых бактерий под влиянием выделяемых ими антибиотических веществ и кислоты рост кишечных палочек тормозится. При режимах пастеризации, принятых в молочной промышленности, кишечные палочки погибают. Обычные дезинфицирующие средства в общепринятых разведениях обеззараживают оборудование от этих бактерий.

Дифференциацию бактерий группы кишечных палочек проводят с учетом различий физиологических свойств микроорганизмов. На этой основе разработаны специальные тесты, используемые для распознавания фекальных и не фекальных кишечных палочек, основным из которых является комплекс признаков ТИМАЦ (ТЛИМАЦ):

Т -температурный тест

И - тест индолообразования

М -реакция с метиленовым красным

А - реакция на ацетилметилкарбинол (реакция Фогес-Проскауэра)

Ц - цитратный тест

Л - ферментация лактозы.

Температурный тест (тест Эйкмана) – способность ферментировать глюкозу и другие углеводы (лактозу, маннит) с образованием газа при температуре 44-46°C (чаще 44,5 °С). Для эшерихий температурный тест положительный, представители родов *Citrobacter* и *Enterobacter* такой способностью не обладают. Этот тест определяют на специальных средах Эйкмана, Кесслер, Булижа.

Тест индолообразования - способность расщеплять аминокислоту триптофан, входящую в состав многих белков, с выделением ряда продуктов в том числе индола, окрашивающего среду при взаимодействии с реактивами в красный цвет. Индол продуцируют *Escherichia*, бактерии из родов *Citro* *Citrobacter* и *Enterobacter* индола не образуют. Наличие индола определяют в старых бульонных культурах (лучше в бульоне Хоттингера с содержанием 200-300 мг % триптофана) при помощи реактива Эрлиха.

Реакция с метиловым красным (реакция Кларка) заключается в определении интенсивности кислотообразования при ферментации глюкозы в питательной среде. В качестве индикатора используют метиленовой красной, несколько капель которого добавляют к 3-5-суточной культуре, выращенной на среде Кларка. При рН 5 и ниже индикатор изменяет светло-желтый цвет на красный, что свидетельствует об интенсивном кислотообразовании. Представители родов *Escherichia* и *Citrobacter* дают красное окрашивание среды, а *Enterobacter* - желтое.

При рН выше 5 среда остается светло-желтой.

Цитратный тест – способность микроорганизмов усваивать в качестве единственного источника углерода лимонную кислоту или ее соли. Изучаемую культуру высевает на цитратную синтетическую среду Козера или плотную среду Симмонса.

Бактерии родов *Citrobacter* и *Enterobacter* растут на цитратных средах (вызывают помутнение и изменение цвета в жидких и образование специфических колоний на плотных средах) и получили название цитратположительные или цитрат ассимилирующие бактерии, тогда как эшерихии не дают роста на указанных средах и называются цитрат отрицательными.

Ферментация лактозы присуща большинству видов семейства *Enterobacteriaceae*. Представители рода *Escherichia* (за исключением лактозоотрицательных вариантов) сбраживают лактозу, *Citrobacter* и *Enterobacter* ферментируют лактозу непостоянно. Способность микроорганизмов ферментировать лактозу изучают на специальных лактозосодержащих средах с различными индикаторами (среда Эндо, среды Гисса и др.).

Энтерококки

Энтерококками называются молочнокислые стрептококки кишечного происхождения, т.е. они являются представителями нормальной микрофлоры кишечника человека и животного и выделяются в окружающую среду в довольно значительных количествах (в 1 г фекалий

- 10⁸-10⁹ жизнеспособных особей), но примерно в 10 раз меньше, чем БГКП. В настоящее время энтерококки считаются вторым после БГКП санитарно-показательным микроорганизмом при исследовании воды водоемов, особенно проб воды колодцев, плавательных бассейнов, сточных вод, почвы, предметов обихода.

Энтерококки представляют собой диплококки овальной формы или круглой формы, размером 0,6-2 x 0,6-2,5 мкм, иногда располагающиеся цепочками, грамположительны, спор и капсул - не образуют, неподвижные. Факультативные анаэробы, хорошо размножаются на простых питательных средах; но при выращивании необходимо пользоваться средами с ингибиторами, подавляющими сопутствующую флору (бактерии группы кишечных палочек, протей и др.). Лучший рост наблюдается при добавления в среду глюкозы, дрожжевых препаратов и других стимуляторов роста. При культивировании в жидких питательных средах образуется осадок и наблюдается диффузное помутнение. На плотных средах колонии энтерококков мелкие, серовато-голубые, прозрачные, круглые с ровными краями, выпуклые, с блестящей поверхностью. На кровяном агаре в

зависимости от биовара они могут давать гемолиз, изменение цвета вокруг колоний на зеленовато-бурый, так как гемоглобин превращается в метгемоглобин. Оптимальная температура роста 37 °С, пределы - 10-45 °С.

Для определения энтерококков используется молочная среда с полимиксином по Калине.

Энтерококки являются хемоорганотрофами, метаболизм у них бродильного типа, разлагают глюкозу и маннит до кислоты и газа, но не обладают каталазной активностью.

Энтерококки довольно устойчивы к физическим и химическим факторам, что и было положено в основу дифференциации энтерококков

от других стрептококков, -входящих в нормальную микрофлору человека и вызывающих заболевание: верхних дыхательных путей. Помимо устойчивости к температуре (легко переносят нагревание до 60 °С в течение 30 мин) энтерококки резистентны к действию активного хлора, некоторых антибиотиков, красителей и др.

Будучи термостойкими, они составляют значительную часть остаточной микрофлоры пастеризованного молока и играют роль при созревании сыра. Энтерококки являются нежелательными микроорганизмами в молоке и молочных продуктах, так как они могут выделять сычужный фермент вызывающий прокисание молочных продуктов и преждевременное свертывание молока.

Преимущества энтерококков как санитарно-показательных микробов заключается в их большей устойчивости к физическим и химическим воздействиям, в наличии избирательных сред, позволяющих обнаружить энтерококков в сильно загрязненных объектах, в несложности дифференцировки их от сходных видов и некотором отличии энтерококков человеческого и животного происхождения, что имеет существенное значение с эпидемиологической точки зрения.

Другими преимуществами энтерококков как санитарно-показательных микроорганизмов является то, что они не размножаются вне кишечника человека и животных (за исключением пищевых продуктов); во внешней среде не подвергаются столь глубоким изменениям, как кишечные палочки, и дольше по сравнению с ними сохраняются во внешней среде.

Энтерококки чрезвычайно устойчивы к низким температурам, нагреванию, хлорированию, к повышенным концентрациям сахара и соли, к высокой кислотности. Они выдерживают температуру нагревания 60-560С в течение 30 мин (режимы пастеризации должны обезвреживать энтерококков), способны расти в присутствии 6,5 % NaCl, 40 % желчи, в средах с рН 9,6-10. В связи с этим для продуктов, не подвергающихся хранению, показателем

санитарного состояния являются бактерии группы кишечных палочек, а для продуктов, которые длительно хранятся при низкой температуре, лучше в качестве санитарно-показательных микроорганизмов определять энтерококки. Это объясняется тем, что кишечные палочки погибают быстрее энтерококков и присутствие или отсутствие их не отражает санитарного состояния таких продуктов.

Наличие большого количества энтерококков в продуктах, подвергшихся тепловой обработке, свидетельствует о слабой эффективности пастеризации (нарушение режимов), о послепастеризационном загрязнении или о хранении их в условиях, благоприятных для развития энтерококков.

В нашей стране энтерококки наряду с бактериями группы кишечных палочек используют в качестве санитарно-показательных микроорганизмов при санитарной оценке воды открытых водоемов, особенно колодцев, вода которых используется в технологическом процессе.

Энтерококки также рекомендуют использовать в качестве санитарно-показательных микроорганизмов при оценке качества хлорирования питьевой воды, при исследовании воды минеральных источников, а также пищевых продуктов с повышенной концентрацией соли (мясных продуктов).

Сульфитредуцирующие клостридии

Клостридии перфрингенс (*Cl. perfringens*). Токсикоинфекции, вызываемые *Cl. perfringens*, занимают третье место после пищевых отравлений сальмонеллезного и стафилококкового происхождения.

Название возбудителя связано со способностью образовывать большое количество газа, который разрывает окружающую плотную питательную среду. Термин «перфрингенс» в переводе с латинского языка означает «проламывающий», «прорывающий», «прокладывающий дорогу силой».

Клостридии представляют собой крупные неподвижные грамположительные палочки. В организме людей и животных образуют капсулу. Медленно образуют споры.

Cl. perfringens - анаэроб, но может расти в присутствии небольшого количества кислорода. Микроорганизмы этого вида хорошо растут на мясных и казеиновых питательных средах. Быстрый рост наблюдается на средах, содержащих глюкозу, лактозу, мальтозу или маннозу. На плотных питательных средах образуют гладкие (S), шероховатые (R) и слизистые (M) колонии размером от 1 до 5 мм.

Cl. perfringens развивается при температуре от 15 до 50°C. Оптимальная температура для наиболее быстрого роста составляет 37°C.

Особенностью *Cl. perfringens* является способность к быстрому размножению. Продолжительность его регенерации составляет 10 мин. При росте в молоке образует сгусток и большое количество газа (пены).

Возбудитель сбраживает глюкозу с образованием солей молочной, уксусной и масляной кислот, этилового спирта, углекислого газа и водорода, может ферментировать фруктозу, галактозу, маннозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, рибозу, крахмал, декстрин и гликоген. Ферментация глицерина непостоянная, а маннит не ферментируется.

Cl. perfringens образует сероводород и не образует индола. Большинство штаммов восстанавливают нитраты до нитритов, разжижают желатин. Он вырабатывает несколько типов токсинов.

Споры *Cl. perfringens* более устойчивы, чем вегетативные клетки. При кипячении они погибают в течение 15-30 мин.

Cl. perfringens широко распространен в почве, содержимом кишечника и, следовательно, может заражать многие пищевые продукты.

Среди многочисленных патогенных и сапрофитных видов рода *Cl. perfringens* в качестве санитарно-показательных привлекают микроорганизмы, постоянным местом пребывания которых является кишечник человека и теплокровных животных.

Поскольку только клостридии кишечного происхождения обладают редуцирующими (восстанавливающими) свойствами при росте на железосульфитных средах, этот признак является основным для суждения о санитарной показательности таких микроорганизмов.

Использование *Cl. perfringens* в качестве санитарно-показательного микроорганизма основывается также на том, что споры его во внешней среде не обладают высокой устойчивостью, в пищевых продуктах он размножается только при температуре 18-200С и выше. Начиная с 6-8 ч. хранения, по мере нарастания общего количества бактерий размножение его замедляется, а затем полностью прекращается. Особенно чувствителен *Cl. perfringens* к кислой реакции среды.

Сульфитредуцирующие анаэробы выделяются из кишечника людей и животных преимущественно в виде вегетативных клеток, а в почве, как правило, сохраняются в форме спор. По отношению количества обнаруженных в исследуемом объекте вегетативных форм к числу спор можно судить о свежести фекального загрязнения.

Сульфитредуцирующие клостридии используются в качестве санитарно-показательных микроорганизмов при исследовании пищевых казеинатов, также колбасных изделий, икры, специй, пряностей и др.

Сульфитредуцирующие клостридии на среде сульфит-железной агаровой полужидкой образуют колонии черного или серо-черного цвета на глубине не менее 1 см от поверхности среды.

При комплексной санитарной оценке почвы и воды открытых водоемов наряду с кишечными палочками, энтерококками и бактериофагом учитывают *Cl. perfringens*, что позволяет определить давность фекального загрязнения

Бактерии рода Proteus

Бактерии рода *Protus* (Протеус) включают четыре вида.

Это прямые полиморфные палочки, размером 0,4-0,8 x 1-3 мкм, грамотрицательные, подвижные за счет перитрихиальных жгутиков, спор и капсул не образуют.

По отношению к кислороду бактерии рода *Protus* являются факультативными анаэробами, а по типу обмена веществ — хемоорганотрофами, обладающими и дыхательным и бродильным типами метаболизма. Оптимальная температура развития 37°C. Большинство штаммов не образуют колоний на плотных питательных средах. Они растут в виде тонкого вуалеобразного налета с образованием концентрических зон или распространяются по влажной поверхности питательной среды в виде однородной пленки.

Бактерии ферментируют глюкозу с образованием кислоты и часто газа. Некоторые виды сбраживают глицерол, D-ксилозу, мальтозу, сахарозу и трегалозу.

Палочки рода *Protus* осуществляют окислительное дезаминирование фенилаланина и триптофана, гидролизуют мочевины. Обычно образуют сероводород, иногда индол, восстанавливают нитраты.

Встречаются в кишечнике человека и разнообразных животных, а также в навозе, почве, загрязненных водах, в гниющих органических субстратах.

Многие штаммы бактерий рода *Protus* патогенны для человека: кроме пищевых токсикоинфекций могут вызывать инфекции мочевых путей, а также вторичные поражения, приводящие к образованию септических очагов, особенно при ожогах.

Источником пищевых отравлений являются употребляемые человеком продукты, обильно обсемененные этими микроорганизмами.

Многие штаммы *Protus* образуют термостабильные эндотоксины, представляющие глюцидо-липоидно-полипептидные комплексы, обладающие гемолитической активностью.

Бактерии рода *Protus* устойчивы к низким температурам, переносят трехкратное попеременное замораживание и оттаивание. Режимы

пастеризации молока обезвреживают возбудителя, 1%-ный раствор фенола вызывает гибель палочек протей через 30 мин.

Профилактика пищевых токсикоинфекций, обусловленных бактериями рода *Protus*, такая же, как и при пищевых токсикоинфекциях, вызванных бактериями рода *Эшерихия*.

Эти микроорганизмы широко распространены в природе, в основном их накопление происходит в местах, где протекают аэробные процессы гнилостного распада.

Температурные границы роста бактерий группы протей лежат в пределах 10-40 °С. Они нетермостойкие - погибают при принятых в промышленности режимах пастеризации, устойчивы к замораживанию, антибиотикам и химико-терапевтическим препаратам.

Бактерии группы протей могут размножаться в пищевых продуктах, содержащих белки и подверженных гниению. Чистые культуры при обильном размножении в течение 2-3 сут могут не вызывать изменений органолептических свойств, внешние признаки гниения появляются лишь в результате совместного действия протей и спорообразующих гнилостных аэробов.

В пищевые продукты могут попадать бактерии группы протей при нарушениях санитарного режима. При 20 °С они быстро размножаются только в аэробных условиях. В анаэробных условиях протей размножается гораздо медленнее, подавляется также его ферментативная активность.

В парном и свежем молоке бактерии рода *Protus* почти не размножаются и частично вытесняются благодаря размножению молочнокислых бактерий. В стерилизованном молоке они размножаются быстро. В стерилизованном бульоне, различных консервах, зараженных бактериями группы протей и выдержанных при 250С, они интенсивно размножаются и через 48 ч отмечается максимальное накопление их в количестве 1-2 млрд в 1см³. При дальнейшем хранении это количество почти не изменяется лишь через 10-14 дней наблюдается отмирание. При указанном содержании палочек протей пищевые продукты опасны для употребления, так как могут послужить причиной пищевого отравления.

Группа протей не имеет самостоятельного значения как показатель фекального загрязнения. Однако ее присутствие в больших количествах пищевых продуктов свидетельствует о наличии энергичного разложения белка.

Как санитарно-показательные микроорганизмы бактерии рода *Protus* используют при санитарной оценке таких продуктов как запеканка и пудинг из творога. Они не должны выявляться в 0,1 г продукта. Бактерии рода *Protus*

являются санитарно-показательными также при исследовании яичного порошка, рыбы, икры, некоторых мясных продуктов.

Стафилококки

Коагулазоположительные стафилококки вызывают воспалительные процессы у людей и животных. Однако они настолько широко распространены во внешней среде, что единичное их выявление не вызывает опасений.

Как санитарно-показательные микроорганизмы патогенные стафилококки часто используют при оценке воздуха, гигиенического состояния лечебных и детских учреждений и выявлении опасности развития в них так называемого госпитализма.

Для пищевых продуктов этот показатель имеет другое значение, так как беспокойство вызывает не патогенность стафилококков, а энтеротоксигенность, т.е. способность вырабатывать энтеротоксин, обуславливающий пищевые интоксикации.

Для выделения культур токсигенных стафилококков и с целью дифференциации их от сапрофитов чаще используют селективно-дифференциальные питательные среды: желточно-солевой агар (ЖСА) и молочно-солевой агар (МСА). Методы обнаружения стафилококков основаны на их способности расти на средах с повышенным содержанием поваренной соли.

При росте патогенных стафилококков на ЖСА вокруг их колоний образуются зоны помутнения среды, т. е. они дают положительную реакцию на лецитиназу. Если стафилококки, вырастающие на ЖСА, не дают лецитиназной реакции, их отсеивают на скошенный МПА и в дальнейшем дифференцируют в реакции плазмокоагуляции.

На МСА колонии стафилококков имеют форму дисков с диаметром 2-4 мм с ровными краями, могут быть пигментированы в разнообразный цвет - желтый, белый, лимонный. Не менее 5 характерных колоний отсеивают на скошенной мясо-пептонный агар и в дальнейшем с этими культурами ставят реакцию плазмокоагуляции (для дифференциации патогенных и сапрофитных стафилококков).

Дрожжи и плесневые грибы

Дрожжи - это одноклеточные организмы, не образующие мицелий, округлой, овальной или удлинённой формы.

Плесенями называют мицелиальные нитчатые грибы или гифомицеты.

Дрожжи и плесени часто являются индикаторами порчи, т.е. возбудителями пороков молочных продуктов, в связи с этим их называют

«технически вредными» микроорганизмами. Среди них имеются и патогенные представители, которые могут вызывать микозы и микотоксикозы.

Грибы, попадая в молочные продукты и развиваясь в них, используют молочную кислоту, изменяют рН в щелочную сторону, в результате чего развиваются гнилостные бактерии. Дрожжи и плесени портят товарный вид продуктов, обладая липолитической способностью, вызывают гидролиз жира с образованием жирных кислот, что ведет к прогорканию продуктов.

Плесени обладают протеолитической активностью, они вызывают гнилостную порчу продуктов и обуславливают порок — горький вкус. Дрожжи гнилостную порчу не вызывают, но обуславливают ослизнение, что сокращает сроки хранения продуктов в охлажденном состоянии.

Характерной особенностью дрожжей является их способность развиваться в средах, содержащих до 24 % и до 60 % сахарозы.

Споры плесневых грибов постоянно обитают в воздухе, почве, навозе, в продуктах, на поверхности различных предметов, стен сырых помещений и пр. Имеется специфическая молочная плесень преимущественно обитающая в молочных продуктах. Плесени очень устойчивы к низким температурам.

По отношению к высоким температурам вегетативные формы дрожжей и плесеней не являются термостойкими. При нагревании клетки дрожжей гибнут при 50-60 °С в течение 5 мин, а споровые формы за это же время отмирают при 70-800С. Вегетативные формы плесеней погибают при 600С за 30 мин, а споры их уничтожаются за это же время при 80 °С.

Для выявления дрожжей и плесневых грибов чаще применяется питательная среда Сабуро. Метод определения дрожжей и плесневых грибов основан на посеве определенного количества продукта или его разведений в селективную агаризованную среду Сабуро, культивировании посевов при 24°С в течение 5 сут и подсчете колоний дрожжей и плесневых грибов, типичных по макро-м микроскопической картине.

Колонии дрожжей округлые, блестящие, чаще серовато-белого, розового, желтого цвета. В препаратах из таких колоний находят крупные округлые, овальные клетки дрожжей. Колонии плесневых грибов пушистые и имеют различную окраску.

По присутствию дрожжей и плесеней оценивают санитарное состояние заквасок, плавленых сыров, масла топленого, сухих смесей для мягкого мороженого, некоторых детских молочных продуктов, сахара, воздуха и др.

В заквасках для кисломолочных продуктов (кроме кефира) количество плесеней и дрожжей не должно превышать 10 КОЕ/г, в сырах плавленых без наполнителей - не более 50 КОЕ/г, в масле коровьем топленом - не более 200 КОЕ/г. В сухих смесях для мягкого мороженого с наполнителем (овощи,

грибы и т.п.) количество плесеней и дрожжей не должно превышать 100 КОЕ/г, в смеси молочной «Малыш» с рисовой, гречневой, овсяной мукой или с толокном количество плесеней допускается в количестве, не превышающем 100 КОЕ/г, а дрожжей - 50 КОЕ/г.

Кишечные бактериофаги

Одним из показателей фекального загрязнения является присутствие в объектах среды разнообразных бактериофагов, лизирующих гомологичные (соответствующие) им кишечные бактерии, т. е. литическое действие бактериофага характеризуется определенной степенью специфичности, так как каждый фаг вызывает лизис бактерий определенного вида. Колифаги лизируют родственные бактерии, монофаги - бактерии одного вида, типовые фаги - только определенный тип (вариант) данного вида бактерий. В связи с этим фаги обнаруживаются всюду, где живут их хозяева и выявление специфичных для энтеробактерии фагов столь же достоверно указывает на загрязнение объекта, как и обнаружение самих микробов кишечной группы.

Санитарно-показательное значение бактериофагов особенно возросло в связи с появлением водных вспышек ряда вирусных заболеваний — полиомиелита, эпидемического гепатита и др. Установлено, что многие энтеровирусы и аденовирусы более стойки во внешней среде, чем кишечная, брюшнотифозная и дизентерийная палочки. Из этого следует, что в условиях, неблагоприятных для выживания патогенных и сапрофитных энтеробактерий, ряд вирусов может сохранять жизнеспособность и представлять существенную опасность для человека.

Этим объясняется, что в качестве индикаторов загрязнения воды патогенными энтеровирусами было предложено использовать бактериофаги, которые по своим биологическим свойствам стоят к энтеровирусам ближе, чем бактерии группы кишечных палочек или другие санитарно-показательные микроорганизмы.

При исследовании питьевой воды определяют наличие и количество колифагов.

Колифаги - бактериальные вирусы, способные лизировать кишечные палочки рода *Escherichia*, выращенные на питательном агаре, и формировать зоны лизиса (бляшки) на их сплошном росте (газоне). Колифаги являются индикаторами очистки питьевой воды в отношении энтеровирусов.

Общая бактериальная обсемененность

Принято считать, что чем выше общая микробная обсемененность объекта внешней среды, тем выше вероятность присутствия в них патогенных микробов.

Общую бактериальную обсемененность продуктов выражают показателем КОЕ (колониеобразующие единицы), который характеризует количество колоний мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), выросших на плотной питательной среде при посеве 1 г. или 1 см³ субстрата и культивировании посевов при 37 °С в течение 24-48 ч. При исследовании воды этот показатель часто называют микробным числом, в Методах санитарно-микробиологического анализа питьевой воды (1997 г.) показатель назван ОМЧ - общее микробное число.

Показатель КОЕ не характеризует количество микроорганизмов в исследуемом объекте, так как не растут на МПА и не образуют колонии живые клетки, утратившие способность к размножению; не всегда разбиваются бактериальные конгломераты, и одна колония вырастает из нескольких клеток; не вырастают анаэробы, так как культивирование проводят в аэробных условиях; не дадут роста термофилы и психрофилы; не учитываются плесени и актиномицеты, рост которых можно обнаружить на 3-4-е сутки, многие патогенные и другие микроорганизмы, культивируемые на специальных питательных средах; не вырастут также вирусы и риккетсии, не развивающиеся вообще на питательных средах.

Показатель КОЕ обусловлен развитием в основном мезофильных сапрофитных микроорганизмов - гнилостных споровых и неспорообразующих бактерий, бактерий группы кишечных палочек, кокковой микрофлоры (стафилококков, микрококков, сарцин), некоторых патогенных бактерий, например сальмонелл и др. индикаторам в меньшей степени, чем другие санитарно-показательные микроорганизмы. Продукты, в которых обнаружено большое количество бактерий, даже не патогенных и не изменяющих органолептические показатели, нельзя считать полноценными для здоровья по следующим причинам: значительное количество жизнеспособных клеток в пищевых продуктах свидетельствует о недостаточной эффективности термической обработки сырья, о не вполне тщательной мойке и дезинфекции оборудования, о неудовлетворительных условиях хранения, при которых развиваются определенные группы микроорганизмов.

Высокая бактериальная обсемененность свидетельствует также о возможной порче продуктов.

Оценка санитарного качества продуктов по общему количеству бактерий имеет ряд недостатков: проводится учет только аэробных и факультативно-анаэробных мезофильных микроорганизмов и исключаются другие микроорганизмы, осуществляется только количественная оценка микрофлоры без учета её качественного состава; небольшое содержание бактерий в продуктах не гарантирует безопасности, так как незначительная

обсемененность продукта патогенными микробами может привести к тяжелым последствиям; в продуктах, подвергнутых термической обработке, при малых значениях КОЕ может находиться накопившийся до пастеризации стафилококковый энтеротоксин, не разрушающийся при таком тепловом воздействии.

К преимуществам учета общей бактериальной обсемененности следует отнести возможность контроля уровня санитарно-гигиенических условий производства и выявления нарушений условий хранения и транспортировки продуктов, приводящих к размножению микроорганизмов.

Модуль 2. МИКРОФЛОРА ПРОДУКТОВ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Тема 4. Микробиология сырого и питьевого молока

Источники обсеменения молока сырого. Содержание микроорганизмов в сыром молоке отражает уровень гигиены получения молока, особенно степень чистоты доильных установок, условия его хранения и транспортирования. Известны два пути обсеменения молока микроорганизмами: эндогенный и экзогенный. При эндогенном пути молоко обсеменяется микроорганизмами непосредственно в вымени животного. Экзогенное обсеменение происходит из внешних источников: кожи животного, подстилочных материалов, кормов, воздуха, воды, доильной аппаратуры и посуды, рук и одежды работников молочной фермы.

Эндогенное обсеменение. В молоке вымени всегда содержится определенное количество микроорганизмов. В железистой части вымени микроорганизмы могут находиться непостоянно и в единичном количестве клеток. В выводных протоках и молочной цистерне количество бактерий может достигать нескольких десятков или сотен клеток в 1 см. Это микроорганизмы - комменсалы вымени. К ним относятся энтерококки, микрококки, иногда маститные стрептококки, коринебактерии и др.

Молоко вымени, получаемое стерильно не через сосковый канал, называют асептическим. Оно содержит незначительное количество микроорганизмов - десятки-сотни клеток в 1 см³. У старых коров больше содержится в вымени микробов, чем у молодых.

Здоровый сосковый канал защищает вымя от внешней среды благодаря его анатомическому строению. Кроме того, свободные жирные кислоты, синтезируемые слизистой оболочкой соскового канала, оказывают бактерицидное воздействие. Секрет соскового канала содержит также фосфолипиды, убивающие маститные стрептококки и другие

микроорганизмы. При нарушении защитных функций соскового барьера микроорганизмы, постоянно находящиеся в сосковом канале, могут попадать в вымя и там размножаться.

У входа в сосковый канал, в каплях молока, оставшихся от предыдущей дойки, постоянно размножаются микроорганизмы, образуя так называемую бактериальную пробку, в которой количество бактерий достигает сотен тысяч клеток в 1 см³ молока. Поэтому перед дойкой первые струйки молока необходимо сдаивать в отдельную посуду, т. е. бактериальные пробки не должны попадать в общую массу молока.

Эндогенное обсеменение молока вымени может происходить также при маститах, септических инфекционных болезнях, травмах и воспалительных процессах соскового канала и вымени.

Экзогенное обсеменение. Важнейшим источником бактерий сырого молока является кожа животного и особенно кожа вымени и сосков, на которые надевают доильные стаканы. Молочная пленка, образующаяся в процессе доения между кожей сосков и доильными стаканами, наличие на коже грубых и мелких складок, а также относительно высокая температура создают благоприятные условия для развития микрофлоры. Она состоит из микрококков, энтерококков, кишечных палочек и других сапрофитов, а также патогенных и нежелательных для производства молока микроорганизмов.

Следует стремиться к тому, чтобы после обмывания и дезинфекции перед доением концентрация микробов на коже вымени была не выше 10³ микробов на 1 см².

Подстилочные материалы из соломы и сена являются существенным источником загрязнения кожного покрова животного, а затем и молока кишечными палочками, маслянокислыми бактериями, энтерококками, гнилостными спорообразующими дрожжами, плесенями, молочнокислыми бактериями и др. Нельзя использовать в качестве подстилки торфяную крошку.

В кормах также содержится много разнообразных микроорганизмов. В свежескошенной траве больше молочнокислых бактерий, в грубых кормах - гнилостных спорообразующих аэробных бацилл. В кормах содержатся пропионовокислые, уксуснокислые бактерии, актиномицеты, дрожжи и др.

Кормление коров прокисшим или смешанным с землей кормом, плохим силосом или кислой бардой в сочетании с имеющимися недостатками в гигиене содержания животных ведет к загрязнению молока маслянокислыми и другими бактериями.

Недоброкачественный корм вызывает у коров понос, а молоко загрязняется бактериями через содержимое кишечника, в 0,1 г которого

содержится от 10 до 100 тыс. бактерий. В содержимом кишечника возможно наличие патогенных и нежелательных для молочного производства микроорганизмов.

Часто выделяющиеся у коров сальмонеллы имеются только в сыром молоке, так как энтеробактерии уничтожаются при пастеризации.

Поскольку молоко в настоящее время получают и хранят преимущественно в замкнутых системах, сырое молоко загрязняется в основном при ручном доении. Однако при смене молокопроводов всегда подсасывается наружный воздух.

Общее количество микроорганизмов в воздухе составляет 300...1500 клеток в 1 м³.

Содержание микробов в воздухе в течение одного дня сильно меняется. Во время операций раздачи и приема корма количество микробов воздуха достигает максимальной величины. Качественный состав микрофлоры воздуха представлен чаще микрококками, сарцинами, клетками дрожжей и спорами плесеней.

Вода, отвечающая требованиям ГОСТа на питьевую воду и применяемая для мытья молочной посуды и аппаратуры, содержит незначительное количество микроорганизмов. Вода открытых водоемов или загрязненная вода содержит флюоресцирующие палочки, кокковую микрофлору, кишечные палочки, гнилостные бактерии и др. Доильные установки и резервуары для хранения молока являются основным источником заражения молока психотропными бактериями, преимущественно псевдомонадами. Психрофильные микробы размножаются в молочно-водной среде на плохо вымытых и дезинфицированных установках, находясь в активной фазе размножения. У них отсутствует период адаптации - лагфаза. В плохо вымытой и непросушенной аппаратуре размножаются также молочнокислые бактерии, кишечные палочки, микрококки, гнилостные микроорганизмы и др.

Руки и одежда работников ферм могут стать источником обсеменения молока возбудителями (кишечными палочками, стафилококками, стрептококками и др.) различных болезней. Работники ферм, соприкасающиеся с молоком, обязаны строго выполнять правила личной гигиены, предупреждающие обсеменение молока микроорганизмами.

Изменение микрофлоры молока при хранении.

Общий ход молочнокислого процесса в молоке. В зависимости от формы клеток молочнокислые бактерии делят на две группы: молочнокислые стрептококки и молочнокислые палочки. Эти микроорганизмы имеют также и неодинаковые физиологические признаки. По отношению к температуре различают мезофильные и термофильные молочнокислые бактерии; по

характеру сбраживания молочного сахара - гомоферментативные (образуют почти одну молочную кислоту) и гетероферментативные (наряду с молочной кислотой образуют значительное количество побочных продуктов). После внесения небольшого количества молочнокислых стрептококков (петлей) в молоко при оптимальной температуре их развития (30° С) начинают размножаться бактерии. Если культура находится в состоянии полной активности (молодая), уже в самом начале процесса наблюдается максимальная скорость ее размножения. Если культура менее активная (старая), потребуется некоторое время, прежде чем бактерии начнут размножаться с максимальной скоростью.

Во время хранения молока изменяется количество содержащихся в нем микроорганизмов, а также соотношение между отдельными группами и видами бактерий. Характер этих изменений зависит от температуры и продолжительности хранения молока, а также от степени обсеменения и состава микрофлоры. Размножающаяся и накапливающаяся в процессе хранения молока микрофлора называется вторичной. Изменение вторичной микрофлоры происходит по определенным закономерностям, т. е. проходит через определенные естественные фазы развития, изученные С. А. Королевым: бактерицидная фаза, фаза смешанной микрофлоры, фаза молочнокислых бактерий, фаза дрожжей и плесеней.

Бактерицидная фаза. Время, в течение которого микроорганизмы не развиваются в свежесвыдоенном молоке и даже частично отмирают, называют бактерицидной фазой. Бактерицидные свойства молока обусловлены присутствием в нем лизоцимов, нормальных антител, лейкоцитов и др.

Лизоцимы (лактенины) представляют собой вещества белковой природы (ферменты), образующиеся в организме животного и обладающие бактерицидным и бактериостатическим действием по отношению ко многим видам бактерий. Большое количество лизоцимов находится в различных жидкостях организма: слезной жидкости, слюне, спинно-мозговой жидкости, молоке и особенно в молозиве и околоплодной жидкости.

В молоке коров находятся четыре группы лизоцимов: лизоцим М (молока), лизоцим В (вымени), лизоцим О (основной), лизоцим Т (термостабильный). Они вырабатываются молочной железой или поступают в молоко из крови. При пастеризации молока лизоцимы (кроме термостабильного) инактивируются.

Наибольшей бактерицидной активностью отличается лизоцим М. Он действует губительно на патогенных стафилококков, маститного стрептококка, сальмонелл, кишечных палочек, возбудителя сибирской язвы и других, особенно грамположительных, микроорганизмов. Отсутствие

лизоцима М в свежесвыдоенном! молоке свидетельствует о заболевании молочной железы; такое молоко является биологически неполноценным, так как в нем! беспрепятственно могут размножаться многие виды микроорганизмов.

В молоке, содержащем большое количество микроорганизмов” лизоцимы быстро расходуется и довольно скоро утрачивают! свое антибактериальное действие.

Антитела - гамма-глобулины, образующиеся в макроорганизме в ответ на введение в него микроорганизмов, их продуктов обмена или других чужеродных белковых веществ. Антитела являются термолабильными, т. е. они разрушаются при пастеризации молока.

Лейкоциты (фагоциты) - клеточные элементы крови макроорганизма, способные активно поглощать и растворять живые и убитые микроорганизмы. Они всегда содержатся в небольшом количестве в молоке, выполняя защитную антибактериальную функцию. При воспалении молочной железы количество лейкоцитов в молоке увеличивается в сотни раз, что является диагностическим признаком ранних форм маститов. При тепловой обработке молока лейкоциты уничтожаются.

Таким образом, наличие бактерицидной фазы молока обусловлено присутствием биологических защитных факторов, созданных самой природой.

Продолжительность бактерицидной фазы имеет большое значение в сохранении хорошего качества молока. Она зависит от температуры хранения молока, степени его обсеменения, состава микрофлоры и индивидуальных особенностей дойных животных. Особенно большое влияние на продолжительность бактерицидной фазы оказывает температура хранения молока. Чем она выше, тем короче бактерицидная фаза. Зависимость продолжительности бактерицидной фазы от степени обсеменения молока тоже обратная: чем больше микроорганизмов в молоке, тем менее продолжительна бактерицидная фаза. С увеличением концентрации бактерий в молоке на несколько тысяч при одной и той же температуре хранения продолжительность бактерицидной фазы сокращается в два раза.

Таким образом, существует два пути увеличения продолжительности бактерицидной фазы: получение бактериально чистого молока и его немедленное охлаждение до низких плюсовых температур.

Фаза смешанной микрофлоры. По окончании бактерицидной фазы начинается ничем не задерживаемое размножение всех групп микроорганизмов, находящихся в молоке и способных в нем размножаться при данных условиях. Интенсивность их размножения будет различна. Эта

фаза является периодом наиболее быстрого размножения микрофлоры. Она продолжается от 12 ч, до 1...2 сут. В течение этого периода микрофлора молока возрастает от немногих тысяч, которые оно имеет к концу бактериальной фазы, до сотен миллионов. В остальных фазах развития концентрация микробов может увеличиться до 3 млрд. Такой быстрый темп размножения объясняется тем, что в молоке в это время еще не накопились продукты жизнедеятельности микроорганизмов, задерживающие их дальнейшее развитие. Лишь к концу фазы продукты обмена в виде повышения кислотности будут задерживать развитие многих групп микроорганизмов, чем и определяется граница между фазой смешанной микрофлоры и следующей.

Качественный состав микрофлоры в фазе определяется составом первичной микрофлоры молока, скоростью размножения различных видов микроорганизмов и температурными условиями хранения молока. В зависимости от температуры хранения в данной фазе в молоке может развиваться микрофлора трех типов: криофлора (флора низких температур), мезофлора (флора средних температур), термофлора (флора высоких температур). Криофлора развивается при хранении молока в охлажденном состоянии при температуре от 0 до 10 °С. В этих условиях микроорганизмы размножаются очень медленно. Например, при температуре 4,5 °С накопление биомассы за 24 ч составляет 9 %. Молочнокислые бактерии практически не размножаются. Если молоко хранят и далее при низких температурах, то микрофлора не выходит за пределы фазы смешанной микрофлоры, которая может продолжаться довольно долго, не давая резких видимых изменений молока.

Однако количество микрофлоры в молоке неуклонно нарастает, и постепенно накапливаются продукты ее жизнедеятельности. Даже при температуре около 0 °С в течение двух недель количество бактерий в молоке может увеличиваться в десятки тысяч раз и составлять сотни миллионов клеток в 1 см³. При этом характер изменений молока обусловлен Развитием сначала микрококков, затем палочек *Bac. megatherium*, *Bac. subtilis* и других гнилостных микроорганизмов, т. е. процессы идут в направлении гнилостного разложения белков и отчасти разложения жира.

Мезофлора развивается при хранении молока в температурных пределах от 10 до 35 °С, т. е. при хранении молока без охлаждения. При этом характерны быстрое размножение микроорганизмов и неуклонное нарастание количества молочнокислой микрофлоры, которая, в конце концов, получает решительный перевес над остальными микроорганизмами, чем и обусловлен переход к следующей фазе - молочнокислых бактерий. Однако в составе микрофлоры, особенно в начальной стадии фазы смешанной микрофлоры, развиваются

бактерии группы кишечных палочек, флюоресцирующие и другие гнилостные бактерии, ухудшающие качество молока. Поэтому надо стремиться к тому, чтобы молоко вообще не находилось в фазе смешанной микрофлоры. В неконтролируемых условиях фаза смешанной микрофлоры продолжается одни сутки, реже - двое.

Термофлора развивается при температуре 40...45 °С. Такие условия наблюдаются в сыроделии при производстве твердых сыров с высокой температурой второго нагревания.

Во время хранения молока при искусственно созданных высоких температурах (в термостате) развитие микрофлоры идет в сторону обогащения молочнокислыми термофильными палочками и стрептококками.

Фаза молочнокислых бактерий. Эта фаза начинается с момента заметного нарастания кислотности и преобладания молочнокислых бактерий в молоке (кислотность около 60 °Т и свыше 50 % молочнокислых стрептококков от общего количества бактерий). В дальнейшем с накоплением молочной кислоты молочнокислые бактерии замедляют темп своего размножения, а остальные группы микроорганизмов постепенно отмирают.

Наиболее чувствительными к повышению кислотности являются флюоресцирующие бактерии, за ними погибают гнилостные микроорганизмы, далее - микрококки, а также бактерий группы кишечных палочек, дольше всех выдерживающие нарастание кислотности среди не молочнокислых бактерий. Молочная кислота не является губительным фактором для спор дрожжей и плесеней, находящихся в молоке.

Следовательно, в течение молочнокислой фазы происходит как бы самоочищение молока почти от всех групп микроорганизмов, кроме молочнокислых бактерий, количество которых к концу фазы приближается к 100 % всей микрофлоры.

Количество молочнокислых бактерий в первичной микрофлоре оказывает некоторое влияние на скорость вытеснения остальных микроорганизмов, но на конечный результат почти не влияет. Первоначально в фазе молочнокислых Бактерии преобладают молочнокислые стрептококки, максимальное количество которых (до 2 млрд в 1 см³) накапливается через 1...2 сут. При этом предельная кислотность достигает 120 °Т и наблюдается массовое отмирание стрептококков. Молочнокислые палочки как более кислотоустойчивые продолжают размножаться, и уже на 4-е сутки их количество превышает количество стрептококков, а через 7 сут увеличение достигает почти 100 %. В дальнейшем после возрастания кислотности до 250...300 °Т происходит отмирание и молочнокислых палочек. Продолжительность молочнокислой фазы очень велика, она может длиться

месяцами без каких-либо заметных изменений в микрофлоре, кроме только что рассмотренных. Это объясняется наличием молочной кислоты, которая подавляет развитие микроорганизмов. В этот период времени не могут размножаться и дрожжи с плесенями. Молочнокислую фазу можно назвать также фазой консервирования молока, хотя оно не является абсолютным, так как по истечении некоторого времени возникают новые микробиологические процессы - развиваются дрожжи и плесени.

Фаза молочнокислых бактерий охватывает то состояние молока, в котором оно перестает быть собственно молоком, а является кисломолочным продуктом. Молоко в начале этой стадии можно иногда использовать в производстве сыра или масла.

Закономерности кисломолочного процесса, обусловленные развитием молочнокислых бактерий, учитывают при производстве кисломолочных продуктов, кисломолочного масла и сыра.

Фаза развития дрожжей и плесеней. Эта фаза является заключительной во всем процессе микробиологических изменений молока. После полного ее завершения органическое вещество молока претерпевает почти полную минерализацию (разложение на неорганические вещества). Начальные стадии фазы могут наблюдаться в масле, сыре, твороге и сметане. Внешняя картина развития этой фазы выражается в том, что еще во время молочнокислой фазы на поверхности сгустка (если он не подвергается перемешиванию) образуются отдельные островки молочной плесени (*Oidium lactis*), постепенно смыкающиеся в сплошную белую пушистую пленку. В это же время появляются дрожжи рода *Mycoderma*, участвующие в образовании пленки. Позже появляются плесени родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

Внешний вид и качество молока в это время изменяются сравнительно слабо. Появляется прогорклый вкус, обусловленный продуктами разложения жира, что особенно бывает заметно в кислых сливках (сметане). Появляются плесневый и дрожжевой привкусы. Через некоторое время под пленкой начинают появляться признаки пептонизации в виде слоя полупрозрачной жидкости светло-желтого или темно-бурого цвета. Слой быстро увеличивается за счет исчезающего сгустка, который в дальнейшем полностью растворяется, превращаясь в буроватую жидкость, закрытую сверху, как пробкой, толстой пленкой плесени. По мере распада белка реакция среды становится щелочной, в результате чего создаются условия для развития гнилостных бактерий.

Интересно отметить, что плесени, развиваясь во время продолжения молочнокислой фазы, разлагают белки и подщелачивают субстрат, что на время активизирует развитие отмирающих молочнокислых бактерий. Поэтому

правильнее было бы сказать, что фаза плесеней «налагается» на молочнокислую, а не заменяет ее, как это имеет место между фазой смешанной микрофлоры и фазой молочнокислых бактерий.

Влияние пастеризации на микрофлору молока и сливок

При выборе и уточнении режимов пастеризации молока, проводившемся на протяжении последних десятилетий за рубежом и в нашей стране, исходили из необходимости обеспечения стойкости молока, с обязательным учетом сохранения его питательной ценности

Обеспечение гигиенической надежности пастеризации

На основании экспериментальных данных для молока, полученного от здорового стада, был выбран режим при 72° С выдержкой 15 с (Гигиена молока, ВОЗ, 1963, П. Кэстли, 1957). Разрушение фосфатазы происходит при несколько более жестких режимах тепловой обработки, чем гибель патогенных бактерий. Поэтому в мировой практике принято определять гигиеническую надежность пастеризации по отсутствию в молоке щелочной фосфатазы. Этот принцип принят и в нашей стране. Для инактивации фосфатазы в сливках жирностью 20 и 40% требуется температура только на 1°С выше, чем для инактивации фосфатазы в цельном молоке, при той же продолжительности пастеризации (Г. П. Сандерс и Д. С. Загер, 1948). В. М. Богданов, В. Г. Геймберг и др. (1961) показали, что при режиме пастеризации 72° С с выдержкой 19...20 с в молоке остается значительно большая часть микрофлоры сырого молока, чем это установлено классическими исследованиями (эффективность пастеризации 99,99%). Поэтому они рекомендовали повышать температуру пастеризации; с учетом указанной рекомендации при производстве пастеризованного молока установлен режим 74...76° С с выдержкой 15...20 с. Необходимо отметить, что это ужесточение режима пастеризации связано не с повышением гигиенической надежности молока, а с улучшением его микробиологических показателей по общей бактериальной контаминации.

Однако в последнее время некоторыми гигиенистами в нашей стране высказываются опасения в отношении надежности не только режимов пастеризации, рекомендованных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), но и установленных на основании вышеприведенной работы, особенно в отношении дизентерийных микробов, выживаемость которых не исследовалась в работах Кэстли и других авторов.

Работа, проведенная ВНИМИ, ВНИИВС и ВНИИДиС (В.Г.Заруцкая и др.) показала, что дизентерийный микроб типа Зонне полностью погибает при режиме 76° С с выдержкой 20 с при внесении его в сырое молоко в количестве 20 млн./мл. Для молока с такой высокой обсемененностью дизентерийными

микробами авторы считают целесообразным установить гарантийный режим $78\pm 2^\circ \text{C}$. По-видимому, этот режим можно рекомендовать для обработки молока в эпидемиологически опасных зонах, для промышленности же должны быть сохранены режимы, предусмотренные действующей технологической инструкцией. Решающее значение в получении гигиенически доброкачественного молока имеет правильная эксплуатация пастеризационно-охладительных установок. Если после секции пастеризации на них установлен автоматический возвратный клапан, работают термозаписывающие устройства, ведется запись начала, конца работы и даются объяснения о снижении температуры в процессе пастеризации, надежность ее можно считать гарантированной.

Снижение бактериальной обсемененности и повышение стойкости молока. Эффективность снижения общей бактериальной обсемененности зависит прежде всего от состава микрофлоры сырого молока, который в свою очередь определяется условиями его получения, первичной обработки и транспортировки.

Если молоко получают в условиях строгого соблюдения санитарно-гигиенических требований, быстро охлаждают и хранят при низких температурах, то в первый день в нем содержится около 10% психротрофных бактерий, на второй - 25%. Преобладающими типами психротрофных бактерий являются *Pseudomonas* и *Achromobacter*. Количество термостойких бактерий в таком молоке не превышает 50 тыс./мл, причем термостойкие молочнокислые бактерии составляют не более 1—5% (И. фон Боккельман, 1970а,б). Психротрофные бактерии полностью погибают при пастеризации (Э. М. Фостер и др., 1961). Значительно снижается и общее количество бактерий, в результате чего эффективность пастеризации достигает 99,99%. Если же молоко получают в плохих санитарно-гигиенических условиях и хранят при температуре выше 7°C , в нем содержится значительное количество термостойких бактерий (Э. М. Фостер 1961). В сыром молоке, подвергнувшись длительному (до 2...3 дней) хранению при 10°C , количество термостойких бактерий достигало сотен тысяч - миллионов в 1 мл (Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина и др., 1971). Содержание их в сыром молоке было сравнительно постоянным и составляло от 0,5 до 50% общей микрофлоры. Широкие колебания в содержании термостойких бактерий по отношению к общему количеству бактерий в сыром молоке свидетельствуют об отсутствии корреляции между этими двумя показателями: общее количество бактерий колеблется в большей мере, чем количество термостойких бактерий. Общее количество бактерий в сыром молоке составляло в среднем $1,5 \cdot 10^7$ в 1 мл. При посеве молока сразу после пастеризации обнаруживалось в среднем $1,4 \cdot 10^4$ -

1,1-105 бактерий в 1 мл. Эффективность пастеризации такого молока при режиме 75...76° С с выдержкой 15...20 с составляла 99,49%...98,9%. Абсолютное количество бактерий, выдержавших пастеризацию, и процент оставшихся клеток по отношению к содержанию термостойких бактерий в сыром молоке по мере повышения температуры пастеризации несколько понижались, но сравнительно медленно. Это, несомненно, обусловлено тем, что именно термостойкие бактерии выживают в процессе пастеризации молока. Содержание кишечной палочки в сыром молоке колебалось в пределах от 10³ до 10⁶ в 1 мл, в среднем оно составляло 10⁴ в 1 мл. Во всех пробах молока после пастеризации кишечная палочка не была обнаружена в 10 мл. Фосфатазная проба дала отрицательный результат, что свидетельствовало о гигиенической надежности исследуемого режима пастеризации.

Содержание энтерококков в сыром молоке колебалось от 7,9-10³ до 9,8-10⁵, в среднем было 4,0-10⁴. Учитывая, что темп размножения энтерококков в молоке значительно ниже, чем кишечной палочки, содержание энтерококков может, по-видимому, в большей степени свидетельствовать об истинном фекальном загрязнении его. В процессе пастеризации содержание энтерококков в молоке снижалось довольно значительно. В 22 пробах титр энтерококков был 0,1 мл, в 2 - 0,01 мл и в 6 - 0,001 мл. Приведенные данные свидетельствуют о том, что при принятых в промышленности режимах пастеризации энтерококки полностью не погибают и, как правило, обнаруживаются в молоке сразу после пастеризации.

Проведенные нами исследования показали, что при холодильном хранении молока, отобранного в стерильную посуду сразу после пастеризации, в течение 2 суток практически количество бактерий не увеличивалось. То же самое наблюдалось в процессе хранения молока при комнатных условиях. Даже при таких неблагоприятных режимах хранения свертывание молока наступало только на 5..6 день. Следовательно, микрофлора, оставшаяся в молоке после пастеризации, сравнительно инертна в биохимическом отношении и не влияет существенным образом на его стойкость при хранении. Об этом имеются указания и американских исследователей (Э. М. Фостер и др., 1961).

Вторичное обсеменение молока после пастеризации

Основными группами бактерий, влияющими на стойкость молока и его микробиологические показатели, являются молочнокислые, психротрофные бактерии, бактерии группы кишечной палочки, энтерококки. Психротрофные бактерии не обнаруживались в молоке из краника пастеризатора; после розлива в 1 мл молока содержалось 10...100 клеток этих микроорганизмов (М.

Огава, К. Такемура и др., 1968). Основными источниками обсеменения молока психотрофными бактериями являются воздух, оборудование, одежда и руки работников. В остатках молока и смывных водах могут развиваться и остальные вышеупомянутые группы микроорганизмов. Проведенные нами в производственных условиях исследования (Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина и др., 1971) показали, что количество бактерий, попавших в молоко после пастеризации, составляло 84,5%...94,9% от общей микрофлоры молока в бутылке. Данные, характеризующие изменение микрофлоры молока на отдельных этапах технологического процесса, приведены на рис. 46. Соприкасаясь с технологическим оборудованием, пастеризованное молоко, не содержащее кишечной палочки в 10 мл, обсеменялось ею, в результате чего бродильный титр достигал 10^{-1} , 10^{-2} и даже 10^{-3} мл. В случае непрерывной работы разливочно-укупорочных автоматов не происходит существенного бактериального обсеменения молока. В основном бактериальное обсеменение молока после пастеризации происходит в молоко хранилищах танках и молокопроводах, если их заполнение чередуется с периодами, когда они остаются не заполненными, но не вымытыми. На ряде предприятий сложилась практика многократного заполнения танков молоком; считается, что если из танка молоко поступает на розлив, а затем танк вновь заполняется молоком, создается непрерывный процесс. На самом деле это далеко не так. Освобождение танков емкостью 5 -10-20 т занимает значительное время, за которое на стенках танка, не соприкасающихся с молоком, остается молочная пленка, в которой активно размножаются микроорганизмы. Если танк после розлива остается какое-то время незаполненным, накопление микроорганизмов происходит на всей его поверхности.

Наличие сложных коммуникаций и большой объем перерабатываемого молока затрудняют обеспечение непрерывного прохождения его по ходу технологического процесса. В результате на некоторых участках (в трубах, кранах) молоко задерживается, температура его повышается, происходит развитие бактерий. При каждом последующем заполнении танков наблюдается резкое повышение общей бактериальной обсемененности и снижение бродильного титра.

В наименьшей степени обсеменяется молоко за счет тары, если мойка или иная обработка проводится надлежащим образом. Так, если на всю внутреннюю поверхность бутылки допускается не более 10 клеток бактерий, то при поступлении 500 мл молока на каждый миллилитр его придется 0,02 клетки, что составляет ничтожную величину по сравнению с обсемененностью молока. Исследования Л. Лили (1969) показали, что число

стерильных образцов наибольшее при использовании стеклянных бутылок, при использовании пакетов тетра-пак - наименьшее.

Влияние условий хранения на микрофлору пастеризованного молока

Длительность хранения, пастеризованного молока определяется его первоначальной обсемененностью и температурой. Органолептические свойства молока начинают изменяться при бактериальной обсемененности 5...10 млн./мл (Дж. Д. Пунч, Дж. С. Ольсон и др., 1965; Л. Лили, 1969; Л. Лили и Кварони, 1969). Стойкость молока с низким первоначальным бактериальным обсеменением сохранялась при 5° С до 21 дня, при 7...15° - 8...12 дней, при 22...24° - 24 ч и при 27...28° - 8 ч (Л. Лили, Е. Кварони, 1969). Органолептические свойства молока в упаковке пюр-пак и блок-пак начинали изменяться через 8 дней, в тетра-пак - через 10 дней. Сливки 18, 44 и 48%-ной жирности, хранившиеся при 5° С, через 6 дней были еще годны к употреблению; при 15° С они становились пригодными к употреблению уже через 2 дня (Дж. Г. Дэвис, 1969). Исследования, проведенные во ВНИМИ (Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина, А. П. Патратий, В. П. Шидловская и др.), подтвердили, что при хранении питьевого молока микробиологические показатели ухудшаются значительно раньше, чем химические и органолептические. Молоко кислотностью 20° Т уже в момент заполнения танков по микробиологическим показателям не удовлетворяло требованиям ГОСТа. Во время хранения молока в танке при 4...6° С существенных изменений в содержании бактерий не отмечалось в течение 4...6 ч. После розлива молоко, содержащее бактерий не более 10 тыс./мл и хранившееся при температуре 2...4° С, сохраняло свои микробиологические показатели в пределах нормы после 48 ч, при температуре 8° С через 32 ч его показатели уже не соответствовали норме. При более высоком обсеменении молока его микробиологические показатели изменялись значительно быстрее.

Результаты проведенной работы показывают, что стойкость питьевого молока можно повысить, приняв соответствующие меры по снижению его бактериальной обсемененности на всех этапах технологического процесса и по поддержанию температуры хранения не выше 2-4° С.

Некоторые специалисты считают, что, применяя ужесточенные режимы пастеризации можно повысить качество и гигиеническую надежность питьевого молока. Анализ приведенных выше данных показывает, что этот способ нельзя считать оправданным и целесообразным по следующим соображениям:

- снижается питательная ценность молока;
- эксплуатируемые в промышленности пастеризационно-охладительные установки не могут работать при повышенных температурах, в противном

случае снижаются их эксплуатационные характеристики и долговечность работы;

- с повышением температуры пастеризации изменяется режим работы установки, в результате чего не достигается требуемого охлаждения, что имеет решающее значение для сохранения качества молока в процессе его последующего хранения;

- по объему микрофлоры, обсеменяющей молоко после пастеризации при прохождении оборудования, значительно превышает остаточную микрофлору, поэтому ужесточение режимов пастеризации не может привести к существенному улучшению микробиологических показателей и повышению стойкости питьевого молока.

ТЕМА 5. Микробиология кисломолочных продуктов и закваски

Микробиология заквасок

Закваска - основная и наиболее важная часть первичной микрофлоры кисломолочных продуктов. С внесением её молоко обогащается микроорганизмами в 10-100 раз, поэтому микробиология заквасок является одним из важнейших разделов микробиологии этих кисломолочных продуктов. От качества заквасок в значительной мере зависят весь ход процесса выработки кисломолочных продуктов и качество их.

Количество компонентов, входящих в состав микрофлоры заквасок.

В мировой практике существуют две основные тенденции установления количества компонентов, входящих в состав заквасок: составление заквасок из одного штамма и из нескольких штаммов. В СССР и в странах Западной Европы почти с самого начала применения заквасок был установлен принцип составления заквасок из двух или более штаммов - многоштаммовых. Применяя этот принцип, можно создать закваску более разностороннего качества путем введения штаммов, повышающих активность, улучшающих аромат, консистенцию продукта. Кроме того, использование нескольких штаммов одного вида должно способствовать большей устойчивости закваски к неблагоприятным условиям: если под влиянием их один-два штамма утратят свою активность, сквашивание будет осуществлено остальными штаммами. В настоящее время многоштаммовые закваски применяют при производстве сыра и масла в Англии, ФРГ и других европейских странах. При производстве йогурта применяют обычно двухштаммовые закваски. В РФ многоштаммовые закваски используют для выработки сыра, масла и кисломолочных продуктов. Применение таких заквасок затрудняется сложностью их подбора с учетом

взаимоотношений и возможным изменением первоначального состава микрофлоры при их пересадках в производственных условиях.

Одноштаммовые закваски до последнего времени широко применяли в Австралии и Новой Зеландии при производстве масла и сыра (Х, Уайтхед и Г. Кокс, 1933, 1935). Преимущество этого принципа состоит в том, что штаммы могут быть тщательно изучены, подобраны к условиям производства и при подборе заквасок не требуется вносить корректировки на возможные изменения в метаболизме бактерий при совместном культивировании. Однако такие закваски имеют существенные недостатки:

- невозможно сочетать в одной культуре свойства активных кислото- и ароматообразователей;
- в случае поражения такой закваски бактериофагом происходит быстрый и полный лизис культуры, что приводит к прекращению производственного процесса.

Последнее обстоятельство заставило разработать ряд мероприятий по предотвращению развития бактериофага при данном методе. За последние годы намечилось сближение этих двух направлений - подбор заквасок из двух, максимально трех штаммов, тщательно проверенных по всем своим свойствам и способности к совместному развитию в промышленных условиях

Специфические свойства продукта. При подборе культур следует учитывать специфические свойства, которые желательны получить у готового продукта. Например, составляя закваски для творога, необходимо учесть, что микроорганизмы закваски должны активно повышать кислотность в начале цикла производства, но способность их к дальнейшему кислотообразованию должна быть ограничена. Таким требованиям удовлетворяют молочнокислые стрептококки. Однако из молочнокислых стрептококков нужно выбрать культуры, которые обладали бы хорошим вкусом и ароматом. Поэтому целесообразно наряду с культурами *Str. lactis* вводить *Str. acetilactis* или *Str. diacetylactis*. Для продуктов, в процессе производства которых предусмотрено отделение части сыворотки от сгустка (творог и пр.), подбирают культуры, образующие сгустки, легко отделяющие сыворотку. Для продуктов, в производстве которых нужно предотвратить отделение сыворотки, рекомендуется подбирать культуры, дающие при свертывании молока сгустки сметанообразной консистенции.

С целью получения продуктов с лечебными свойствами в состав закваски вводят ацидофильные бактерии, специально подобранные дрожжи и т. д. Подобным же образом учитывают свойства культур и при подборе заквасок для других кисломолочных продуктов. На необходимость подбора

культур с учетом специфических свойств продуктов указывает также М. Тепли (1972).

Температурные режимы производства. При подборе культуры следует учитывать температурные режимы того или иного технологического процесса. Если процесс осуществляется при 20...30° С, то в закваске должны преобладать мезофильные микроорганизмы, но при необходимости можно вводить и термофильные; при температурах 40...45° С нужно выбирать термофильные виды.

Взаимоотношения между культурами. При подборе заквасок в специальных лабораториях устанавливают их сочетаемость. Для этого выделенные штаммы мезофильных молочнокислых стрептококков проверяют в первую очередь на наличие среди них антагонистов. Этот метод был разработан Т. Г. Романович (1954), в дальнейшем он был развит и усовершенствован Л. А. Банниковой. (1966). Сущность метода, разработанного Л. А. Банниковой, заключается в том, что прогретые фильтраты культуральной жидкости одного штамма (по 1 мл) вносят в 10 мл стерильного обезжиренного молока с метиленовым голубым. По разнице в скорости восстановления другим штаммом метиленового голубого в молоке с фильтратом и без фильтра выявляют наличие антагонистического действия. При отсутствии антагонистического действия разницы в скорости восстановления не наблюдается.

В дальнейшем в соответствии с методом, разработанным Л. А. Банниковой, из отобранных культур, преобладающих в данной закваске, составляют основы, проводят их органолептическую оценку и устанавливают энергию кислотообразования. Она не должна быть ниже энергии кислотообразования самого активного штамма из входящих в основу. Затем к основе добавляют культуры стрептококков - ароматообразователей, снова проводят органолептическую оценку и устанавливают наличие аромата. Удачно подобранные закваски могут в течение ряда лет сохранять свои первоначальные свойства. Сочетаемость культур термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской палочки выявляют путем ежедневных пересевов составленных комбинаций в течение 15 дней (Н. М. Николов, 1966, Е. В. Мельникова, 1973). Если после такого длительного культивирования в закваске сохраняются оба вида микроорганизмов, считают, что между ними сложились симбиотические взаимоотношения. На производстве поведение микроорганизмов заквасок во многом зависит от микрофлоры, содержащейся в пастеризованном молоке или сливках. В свою очередь и микробы закваски могут сильно влиять на развитие посторонней микрофлоры не заквасочного происхождения. Следовательно, изучение

взаимоотношений между микрофлорой заквасок и микрофлорой пастеризованного молока представляет исключительный практический интерес, так как результаты его можно использовать при подборе культур для заквасок, а также для выбора оптимального количества вносимой закваски. Проведенные исследования показали, что при применении закваски, состоящей из *Str. lactis*, в молоке накапливаются продукты их обмена в концентрациях, стимулирующих развитие термоустойчивых молочнокислых палочек. В таких случаях целесообразно снижать количество вносимой закваски с 5 до 2...3%. Г. Паткуль и М. Бутакова (1965) отметили, что подбор заквасок по их способности подавлять постороннюю микрофлору позволяет повысить их стойкость в производственных условиях. Впоследствии И. В. Цареградская установила возможность подбора заквасок, состоящих из антагонистов по отношению к термоустойчивым палочкам. В настоящее время подбор микрофлоры заквасок по признаку подавления термоустойчивой молочнокислой палочки введен как обязательный в практику работы специальных лабораторий. Не менее важна и способность молочнокислых бактерий противостоять влиянию на них посторонней микрофлоры. В связи с этим Г. М. Паткуль (1968) предложила проверять молочнокислые бактерии на их устойчивость к фенолу - продукту метаболизма некоторых посторонних бактерий молока. В дальнейшем И. В. Цареградская, Л. А. Банникова, установили, что, если культуры подобраны по энергии кислотообразования, сочетаемости, стойкости при пересадках, они как правило, устойчивы к фенолу в используемых дозах.

Изменчивость молочнокислых бактерий в процессе их культивирования. При культивировании молочнокислые стрептококки быстро утрачивают первоначальную активность, поэтому в лабораториях обычно проводят большую работу по их проверке и отбору наиболее стойких культур для пополнения коллекций.

Еще С. А. Королев (1932 г.) отмечал, что среди многих сотен культур молочнокислых стрептококков, находившихся под его наблюдением в течение 10 лет, ему встретились лишь несколько штаммов, не изменявших быстро своих свойств. Он считал, что на подборе таких стойких культур должна базироваться работа по составлению заквасок, хотя не исключал возможности применения наряду с ними и свежесделанных, не проверенных на стойкость заквасок. Однако это указание часто не учитывалось микробиологами; во многих лабораториях до сих пор продолжают выделять свежие штаммы и составлять на их основе закваски, которые быстро теряют свои первоначальные свойства. Л. А. Банниковой и С. Б. Задояна (1974) проведена работа, которая позволила в значительной мере объяснить факты быстрой

утраты свежевыделенными культурами своих первоначальных свойств пассажной изменчивостью этих микроорганизмов.

Культуру высевают на плотную питательную среду и выделяют в чашки 100 колоний. Все колонии проверяют на энергию кислотообразования. Если на протяжении года (особенно весной) у большинства культур, выделенных из колоний, установлена близкая по величине и значительная энергия кислотообразования, считают, что культура обладает компактной популяцией и сохранит свои свойства при пассировании. Если же среди выделенных из колоний культур обнаруживается много культур с разной энергией кислотообразования, считают, что в исследуемой культуре большой разброс клеток по данному признаку и она может быстро утратить активность в процессе пересевов.

Проведенная работа показала также возможность направленного отбора культур для заквасок и целесообразность использования немногих хорошо изученных штаммов. Путем поддерживающего отбора (выделения наиболее активных культур после рассева) можно сохранять ценные культуры молочнокислых бактерий на протяжении длительного времени.

Микрофлора заквасок для кисломолочных продуктов.

В закваски для творога входят чистые культуры мезофильных молочнокислых стрептококков (*Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. acetoinicus*). Подбирают культуры, сквашивающие молоко с образованием сгустка колющейся консистенции, хорошо выделяющего сыворотку. При производстве сметаны применяют закваски, состоящие из культур *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis* или *Str. acetoinicus*, образующих при сквашивании молока сгустки сметанообразной

консистенции, а при производстве любительской сметаны закваску мезофильных и термофильных стрептококков, которую вносят в равных количествах.

Для приготовления простокваши обыкновенной используют закваску мезофильных молочнокислых стрептококков (*Str. lactis*, *Str. acetoinicus*) с добавлением или без добавления культур болгарской палочки; для простокваши мечниковской и южной, йогурта, напитков «Южный» и «Снежок» - культуры болгарской палочки и термофильных стрептококков или симбиотическую закваску, состоящую из этих микроорганизмов.

Для украинской простокваши (ряженки) и варенца применяют закваску термофильных молочнокислых стрептококков. При недостаточно выраженной кислотности готового продукта в закваску дополнительно можно вводить культуры болгарской палочки или применять симбиотическую закваску.

При производстве ацидофилина используют культуры мезофильных молочнокислых стрептококков, ацидофильной палочки и кефирной закваски в равных количествах. Закваска ацидофильных палочек состоит из слизистых (10...20%) и не слизистых (80...90%) культур. В зависимости от местных условий эти соотношения можно изменять. Для ацидофильной простокваши применяют чистые культуры мезофильных молочнокислых стрептококков и ацидофильной палочки.

При выработке ацидофильного молока и ацидофильной пасты в качестве закваски применяют чистые культуры ацидофильной палочки (в том числе до 20% слизистых культур к общему количеству закваски), а при производстве ацидофильно-дрожжевого молока в качестве закваски используют ацидофильную палочку и дрожжи, сбраживающие лактозу и обладающие антибиотическими свойствами. При производстве кумыса из кобыльего молока используют чистые культуры болгарской и ацидофильной палочек и дрожжи, сбраживающие и не сбраживающие лактозу. Те же культуры применяют и для кумыса из коровьего молока. Закваска для диетической простокваши состоит из культур ацидофильной палочки и молочнокислых стрептококков кишечного происхождения.

Сохранение активности заквасок в лабораторных условиях

Методы сохранения молочнокислых культур основаны на снижении скорости обмена веществ организмами и отделении клеток от продуктов их обмена. Обмен веществ микроорганизмов подавляется при снижении температуры или удалении влаги. При использовании этих методов для улучшения сохранения культур добавляют лактозу, сухое молоко и пр. Неблагоприятное действие кислоты снижают, добавляя буфер, например, мел, и другие соединения. Клетки от продуктов обмена отделяют центрифугированием и в дальнейшем их помещают в питательную среду, содержащую защитные вещества. Практически методы, основанные на этих двух принципах, комбинируют. Например, после выращивания клетки отделяют от культуральной среды, распределяют их в новой среде и затем высушивают. В настоящее время чистые культуры и закваски молочнокислых бактерий сохраняют в жидком, высушенном и замороженном состоянии.

Жидкие культуры и закваски. Одним из наиболее старых способов сохранения чистых культур молочнокислых бактерий является поддержание их жизнеспособности путем периодических пересевов в стерильном молоке или других питательных средах. После внесения культуры в молоко (в пробирках) его выдерживают при температуре, оптимальной для развития данного вида микроорганизмов, и по окончании свертывания молока сохраняют до следующей перевивки. Частота пересевов зависит главным

образом от температуры, при которой хранят культуры между пересевами. Если культуры после свертывания молока хранят при комнатной температуре, пересевать их в свежее молоко нужно не реже, чем через 5...7 дней (С. А. Королев, 1932, А. М. Скородумова, 1963). Если культуры хранят в холодильнике при 3...4° С, то их можно пересевать значительно реже: культуры мезофильных молочнокислых стрептококков и молочнокислых палочек - через 15...20 дней, термофильных стрептококков - через 20...30 дней.

Как правило, в процессе хранения в результате отмирания части клеток активность заквасок снижается, поэтому для восстановления первоначальной активности культур перед употреблением рекомендуется пересевать их в свежее молоко.

Для сохранения активности культур большое значение имеет свое-временное прекращение жизнедеятельности микроорганизмов после сквашивания молока. Если культуры сразу после свертывания молока поместить в холодильник, то их первоначальная активность сохраняется, по крайней мере, в течение 8 дней. В то же время культуры, которые выдерживали в термостате после образования сгустка для дальнейшего созревания, часто оказывались неактивными уже через 3...4 дня хранения при 4...5° С (Е. М. Фостер, 1962). Некоторые авторы рекомендуют направлять культуры на холодильное хранение до образования сгустка (Б. Рийтер и А. Моллер-Мадсен, 1963). Добавляя к молоку мел, иногда можно сохранить культуры до 3...5 месяцев. Х. Ц. Ольсену (1959) удалось сохранять удовлетворительную активность молочнокислых бактерий при 7,5...10° С в течение 8 месяцев в молоке, содержащем 20% глицерина, 3% поваренной соли и 30% сахарозы.

Чтобы снизить влияние качества и состава молока на молочнокислые бактерии и предотвратить изменение их свойств, за границей (США и пр.) используют среды более постоянного состава: молоко, восстановленное из сухого обезжиренного или цельного молока одной проверенной партии или молоко от коров одной фермы. Сборное молоко считается лучшим, чем молоко от одного животного, так как средний химический состав его более постоянный. Однако даже в средах с постоянным составом желательно максимальное сокращение числа пересадок культур для сохранения их первоначальных свойств.

Культуры и закваски в высушенном состоянии. Культуры молочнокислых бактерий сушат сублимацией, закваски смешиванием с крахмалом, методами распыления и сублимации (лиофлизации).

Метод смешивания с крахмалом. Сущность метода заключается в высушивании заквасок путем смешивания с предварительно высушенным крахмалом. В дальнейшем он был усовершенствован предложено высушивать закваски, смешанные с крахмалом, в вытяжном сушильном шкафу током нагретого воздуха при температуре не выше 40° С. В процессе сушки заквасок этим методом погибает значительная часть микрофлоры и изменяются свойства микроорганизмов, входящих в состав закваски.

Метод распыления. Сущность его состоит в том, что в стерильное обезжиренное молоко с повышенным (до 16%) содержанием сухих веществ (перед стерилизацией в него добавляют сухое обезжиренное молоко) вносят 1% закваски молочнокислых бактерий. Заквашенное молоко выдерживают при температуре, оптимальной для развития данных микроорганизмов, и нейтрализуют 10%-ным раствором едкого натра до кислотности исходного стерильного молока. Нейтрализованную закваску высушивают на распылительной сушилке при температуре поступающего воздуха не выше 130° С и в зоне распыления - не выше 50° С. Сухие культуры смешивают с сухим стерильным крахмалом в пропорции 1 : 1. Закваска, полученная этим методом, при влажности не выше 4...5% может сохранять достаточно высокую активность 3 мес. и более.

Метод получения сухих заквасок из бактериального концентрата. По этому методу микроорганизмы закваски выращивают в жидкой питательной среде, основа которой состоит из сыворотки и гидролизованного молока. Для стимуляции роста молочнокислых стрептококков рекомендуется применять трехзамещенный лимоннокислый натрий и сернокислый марганец, а для стимуляции роста молочнокислых палочек - дрожжевой автолизах и смесь буферных солей.

После выращивания на этой среде клетки бактерий отделяют от культуральной жидкости центрифугированием. Полученную биомассу разводят в стерильном обезжиренном молоке, содержащем 16% сухих веществ, и высушивают на распылительной сушилке. В сухой закваске, приготовленной этим методом, после хранения на холоде в течение 6 месяцев содержатся миллиарды клеток в 1 г. При высушивании бактериального концентрата путем смешивания с крахмалом методом распыления, где часть операций производится открыто, невозможно получить абсолютно чистую культуру. Кроме того, при высушивании закваски, состоящей из разных штаммов микроорганизмов, последние по-разному реагируют на неблагоприятные условия сушки. В результате этого трудно сохранять нужные соотношения между отдельными компонентами микрофлоры. Метод

сублимации. Сущность метода состоит в высушивании бактериальных клеток, находящихся в замороженном состоянии, при высоком вакууме.

В последние годы проведена работа по подбору оптимальных условий приготовления заквасок, высушенных сублимацией из бактериального концентрата. Полученный концентрат, смешанный с защитной средой, фасуют во флаконы и высушивают при строго определенных режимах, после чего флаконы укупоривают. Подобраны условия выращивания и сушки заквасок разного видового состава микрофлоры. Выявлены основные факторы, влияющие на жизнеспособность заквасок, высушенных методом сублимации: состав среды и условия накопления клеток, способ их отделения, состав защитной среды, температура и длительность высушивания, конечная влажность (И. В. Лагода, Л. А. Банникова, 1970). Разработан метод прогноза стойкости сухой закваски путем прогрева ее сразу после выработки при 80° С в течение 30 мин. Установлено, что, если в закваске после термостатирования остается 27...38% живых клеток, она будет стойкой при хранении в течение 4...5 мес.

Исследования показали, что закваски, высушенные сублимацией, содержат 3...5 млрд. клеток в порции (0,1 г.). Применение их позволяет получать абсолютно чистую в микробиологическом отношении закваску при оживлении ее в стерилизованном молоке. В процессе хранения на холоду она полностью сохраняет свою жизнеспособность и соотношение компонентов микрофлоры в течение 4...5 мес.

Этим методом сушат также коллекционные культуры, которые можно использовать в течение ряда лет. По данным разных исследователей, выживаемость клеток составляет 40...80%, а иногда и 90% (в зависимости от индивидуальных свойств культуры и условий высушивания). Высушенные штаммы следует хранить при температуре не выше 10° С.

Культуры и закваски в замороженном состоянии. С целью полного прекращения жизнедеятельности микроорганизмов, максимального сокращения числа пересадок культур при хранении применяют быстрое замораживание их при низких температурах (-18...25°С). В замороженных культурах удается получать от 75 до 90 % живых клеток от первоначального количества (Э. М. Фостер и др., 1962). Эти колебания зависят прежде всего от условий замораживания, а также от возраста культур, подвергавшихся замораживанию, и рН среды. Максимальную активность культур после дефростации удавалось получить, если их замораживали в логарифмической или в начале стационарной фазы роста. Нейтрализация культуры перед замораживанием или отделение клеток от культуральной среды с

последующим внесением их в молоко с рН 7 также позволяет повысить активность замороженных культур.

Коллекционные культуры можно сохранять длительное время без перевивок в замороженном состоянии при температуре -25°C . По данным Л. А. Банниковой (19536), ароматобразующие молочнокислые стрептококки в течение 6 месяцев выдержки при -25°C сохраняли свои свойства - способность к кислотообразованию, накоплению летучих кислот, ацетона, диацетила. После размораживания культуры несколько дольше свертывали молоко, но полностью восстанавливали активность уже после первой пересадки в молоко, ацидофильные культуры сохраняют антибиотическую активность в течение длительного времени при -25°C с пересевами и последующим замораживанием через 6 мес. Имеются сообщения о возможности сохранения замороженных при -30°C культур в достаточно жизнеспособном состоянии в течение ряда лет (Э. М. Фостер, 1962; Е. Воле, Дж. Моко, 1967 и др.). За последние годы в разных странах проведены исследования по получению бактериальных концентратов, замороженных в жидком азоте. В таких концентратах обычно хорошо сохраняется микробиологический состав заквасок. Они предназначены не для длительного хранения, а для непосредственного использования в производстве.

Составление и сохранение коллекции чистых культур заквасок

Исключительно кропотливая и трудоемкая работа по выделению, изучению чистых культур и подбору заквасок молочнокислых бактерий может оказаться малоэффективной, если не будут приняты меры по длительному сохранению их. Во многих странах (США, Англия) для этой цели созданы национальные коллекции. В нашей стране в Институте микробиологии АН СССР создана общесоюзная коллекция (для всех микроорганизмов), во ВНИМИ - отраслевая (для кисломолочных продуктов) коллекция молочнокислых бактерий и микроорганизмов - вредителей молочного производства. Коллекция предназначена для снабжения культурами специальных лабораторий, выпускающих закваски для цельномолочной промышленности и научно-исследовательских учреждений.

Приготовление лабораторной закваски

Для приготовления лабораторных заквасок желательно использовать обезжиренное молоко с содержанием СОМО не ниже 8%, чистым вкусом, кислотностью не выше $19...20^{\circ}\text{T}$. Емкости для закваски должны быть тщательно вымыты и высушены. Молоко разливают в бутылки емкостью 1 л и закупоривают ватными пробками или специальными колпачками. При изготовлении большого количества закваски удобно пользоваться алюминиевыми бидонами емкостью 10 л.

Стерилизуют молоко при 120° С в течение 15...20 мин. Стерилизованное охлажденное молоко заквашивают рабочими культурами, строго соблюдая условия асептики.

При использовании сухих заквасок, высушенных способом сублимации, край флакона обжигают на пламени горелки, вливают во флакон 5...7 мл стерильного молока и после растворения закваски все содержимое флакона выливают в 2 л стерилизованного молока. При использовании жидких заквасок количество вносимой закваски рассчитывают в зависимости от времени, которое необходимо для получения готовой закваски. Если молоко заквашивают вечером, в конце рабочего дня, а закваска должна быть готова утром, то достаточно вносить 0,1% закваски.

Заквашенное молоко выдерживают при температуре, оптимальной для развития входящих в нее микроорганизмов, а в случае применения комбинированной закваски, состоящей из микроорганизмов с разным температурным оптимумом, - при температуре, обеспечивающей сохранение нужного соотношения между микроорганизмами. Закваску для творога готовят при температуре 26...30° С, для сметаны - при 24...26° С, обыкновенной простокваши - 30...35°, ацидофильно-дрожжевого молока - 25...30° С, закваску болгарской палочки и термофильного стрептококка - при 40...45° С, ацидофильной палочки - 38...40°.

До использования готовую закваску хранят в холодильнике или холодильной камере. Лабораторная закваска представляет собой чистую культуру или смесь чистых культур микроорганизмов. Следует отметить, что при производстве заквасок на стерильном молоке в лабораторных условиях часто образуются дряблые неустойчивые сгустки. В то же время эта закваска, внесенная в пастеризованное молоко, дает хорошие, плотные сгустки. Поэтому не следует отбраковывать закваску на стерильном молоке из-за недостаточно плотного сгустка, если при испытании культур в пробных стаканах на пастеризованном молоке они давали удовлетворительные сгустки.

Процесс приготовления симбиотических заквасок, состоящих из термофильных стрептококков и болгарской палочки, закваски для кумыса и ацидофильно-дрожжевого молока имеет специфические особенности.

Приготовление производственной закваски

Для приготовления производственной закваски применяют пастеризованное молоко, хотя, как показывает практика, при использовании стерилизованного молока получается закваска более активная и чистая в микробиологическом отношении.

Производственную закваску готовят чаще всего или в ваннах длительной пастеризации (ВДП) или в специальных заквасчиках. Ванны

целесообразно наполнять молоком через нижний штуцер. При этом исключается возможность попадания сырого молока. Сырое молоко может также попасть в пастеризованное из трубопроводов через нижний штуцер при недостаточно хорошо притертых кранах. Во избежание этого после наполнения молоком ванну отключают от общего трубопровода. Молоко нагревают при перемешивании до 92...95° С, после чего отмечают начало пастеризации и выдерживают его при этой температуре 20...30 мин.

По окончании пастеризации молоко охлаждают до температуры, оптимальной для развития микроорганизмов, входящих в состав закваски, и, соблюдая строжайшую чистоту (проносят край бутылки с чистой культурой над пламенем горелки или обтирают его спиртом), вносят в него лабораторную закваску. Количество закваски устанавливают в зависимости от условий производства. При внесении 5% закваски для творога сквашивание происходит в течение 5...6 ч, при внесении 1% образование сгустка длится примерно 8...10 ч. После внесения закваски молоко тщательно перемешивают и оставляют до образования сгустка. В процессе сквашивания молока необходимо поддерживать температуру, оптимальную для развития микроорганизмов данной закваски. После образования сгустка закваску охлаждают. Все операции - пастеризацию, охлаждение, заквашивание, сквашивание - производят в одной емкости. Переливание в другие емкости не допускается.

В отличие от лабораторной производственной закваски нельзя рассматривать как чистую культуру бактерий. При всей тщательности проведения пастеризации в молоке неизбежно остаются споры, которые погибают лишь при температуре выше 100° С, а при малейшем нарушении режима пастеризации в нем остаются термоустойчивые молочнокислые бактерии. Если споровые микроорганизмы не представляют опасности и, по существу, не развиваются на фоне бурного молочнокислого процесса, происходящего при сквашивании, то молочнокислые палочки, содержащиеся в молоке даже в незначительном количестве (1...10 клеток в 1 мл), могут отрицательно влиять на качество закваски. Поэтому закваску необходимо контролировать очень тщательно. Периодически следует проверять эффективность пастеризации молока и чистоту закваски.

ТЕМА 6. Микробиология кисломолочных продуктов

Влияние температурных режимов сквашивания и созревания на развитие микроорганизмов закваски. Как правило, при выборе основных

параметров технологического режима производства того или иного кисломолочного продукта учитывают оптимальную температуру развития применяемых микроорганизмов. Так, для продуктов, приготовляемых на заквасках мезофильных бактерий (*Str. lactis*, *Str. acetoinicus* и пр.), устанавливают температуры 25...30°C, близкие к оптимальным для развития этих микроорганизмов. При использовании термофильных бактерий (*Str. thermophilus*, *Lbm. bulgaricum* и т. д.) молоко сквашивают при 40...45° С. Сложнее выбирать температурные режимы при использовании смешанных заквасок, в которое входят микроорганизмы с разными температурными оптимумами развития. Известно, что с изменением температуры сквашивания при культивировании кефирных грибков усиливается развитие какой-то одной группы микроорганизмов за счет подавления других. Чем сложнее состав микрофлоры используемой закваски, тем труднее установить закономерность развития входящих в нее микроорганизмов под влиянием температуры. Совместное развитие микроорганизмов разных видов существенно влияет на их свойства и в том числе на отношение к температурам. Температурные границы роста микроорганизмов, развивающихся в чистой культуре, значительно уже, чем в совместной. Естественно, что с изменением температуры в сторону, более благоприятную для роста одного из микроорганизмов, ослабляется развитие другого микроорганизма.

При производстве кисломолочных продуктов, в закваски для которых входят термофильные стрептококки и термофильные молочнокислые палочки, культивируемые совместно, процесс кислотообразования регулируют количеством вносимых заквасок, а также температурой сквашивания и охлаждения. Так, по данным Дж. Петте (1957), полученным при исследовании йогурта, с повышением температуры сквашивания с 37 до 50° С количество палочек по сравнению со стрептококками увеличивается в 3 раза. То же самое происходит при увеличении количества вносимой закваски с 0,1 до 5,0% (считается, что первоначальное соотношение между палочками и стрептококками в закваске примерно одинаковое).

Созревание кисломолочных продуктов проводят с целью дальнейшего накопления микроорганизмами закваски продуктов обмена (ацидофильно-дрожжевое молоко, кефир, кумыс) или с целью придания продукту необходимой консистенции (сметана). Созревание первого типа (биохимическое) почти полностью зависит от деятельности микроорганизмов и в некоторой степени от физических изменений продукта (например, повышение растворимости углекислоты при низких температурах). Чаще всего созреванию подвергают продукты, в которых происходит смешанное брожение - молочнокислое и спиртовое. По мере снижения температуры после

сбраживания замедляется активное кислотообразование, но создаются условия для накопления продуктов обмена той части микрофлоры, которая медленнее развивается (дрожжи, уксуснокислые бактерии и пр.).

Влияние температуры сбраживания и созревания на развитие микрофлоры пастеризованного молока и сливок. Температуры сбраживания и созревания существенно влияют на развитие микрофлоры пастеризованного молока не заквасочного происхождения и прежде всего - термоустойчивой молочнокислой палочки. Обладая высоким температурным оптимумом развития в чистой культуре, этот микроорганизм способен развиваться совместно с другими и при сравнительно низких температурах. Однако наблюдается совершенно четкая закономерность интенсификации развития термоустойчивой молочнокислой палочки по мере повышения температуры при производстве различных кисломолочных продуктов. При выработке кефира применяют низкие температуры сбраживания (18...20° С) и еще более низкие температуры созревания. В таких условиях термофильные палочки, входящие в состав кефирной закваски, развиваются плохо. При микроскопировании кефира они почти не обнаруживаются. Однако выдержка образцов кефира при 30...40° С приводит к резкому усилению деятельности палочек, количество которых нередко достигает 40...60% от всей микрофлоры. Этим можно объяснить излишнее нарастание кислотности кефира при повышенных температурах сбраживания и созревания. Творог вырабатывают при 30...32° С. Эти температуры вполне благоприятны для размножения термоустойчивых молочнокислых палочек. Как показали исследования динамики микробиологических процессов, происходящих при производстве творога, в первые 2...3 ч после сбраживания количество молочнокислых палочек невелико и заметным образом на повышение кислотности они не влияют. Через 4...5 ч после сбраживания количество молочнокислых палочек увеличивается, и с этого момента начинается интенсивное нарастание кислотности, чему способствует также медленный синерезис сгустка и недостаточно быстрое и эффективное охлаждение.

В производстве любительской сметаны приняты высокие температуры сбраживания: от 47° С в начале процесса до 40...37° С в конце. Указанные температуры оптимальны для развития термоустойчивых молочнокислых палочек, в результате чего в любительской сметане эти палочки развиваются весьма интенсивно. Чтобы ограничить их деятельность в производственных условиях, снижают количество вносимой закваски и сокращают продолжительность сбраживания, а также интенсивно охлаждают готовый продукт в момент фасовки. Такие же меры применяют при производстве закваски термофильного стрептококка для южной простокваши и ряженки.

При недостаточно эффективном охлаждении готовой закваски и длительной ее выдержке термоустойчивые молочнокислые палочки в ней иногда развиваются настолько интенсивно, что составляют до 50...60% всей микрофлоры. С целью интенсификации технологических процессов часто повышают температуры сквашивания. При этом молоко сквашивается при более низкой кислотности и, следовательно, быстрее. Кроме того, температуры порядка 40°C являются оптимальными для действия сычужного фермента, что имеет большое значение при производстве творога. Однако нельзя забывать о том, что с повышением температуры сквашивания возможна интенсификация развития

термоустойчивых палочек и, следовательно, резкое нарастание кислотности продукта. Поэтому при повышенных температурах необходимо исключительно внимательно следить за точным соблюдением режима технологического процесса (температуры и продолжительности сквашивания, созревания, охлаждения) и эффективностью охлаждения готового продукта. Температура и длительность технологического процесса определяют интенсивность и конечное содержание в кисломолочных продуктах и уксуснокислых бактерий, входящих в закваску только при производстве кефира, в остальных же случаях являющихся посторонней микрофлорой.

Нарушения температурных режимов сквашивания и созревания в ходе технологического процесса и их влияние на развитие микрофлоры.

На производстве часто приходится сталкиваться с резкими отклонениями температурных режимов от установленных инструкцией, в результате чего нарушаются длительность сквашивания, характер образующегося сгустка и качество получаемого продукта. Температурные режимы чаще всего нарушают во время пуска предприятия или при освоении продукции нового вида. В результате активность микроорганизмов, вводимых с заквасками, резко снижается или излишне интенсифицируется, и в связи с этим нельзя получить продукт с заданными свойствами. Так, на Останкинском молочном комбинате при освоении производства простокваши на линиях, предназначенных для выработки кефира, наблюдалось постоянное замедление процессов сквашивания в термостате. Температура молока в момент заквашивания и температура в термостате поддерживались всегда постоянными. Однако проверка температурных параметров в заквашенном молоке на протяжении всего технологического процесса показала, что из-за большой протяженности трубопровода, идущего от емкости, где заквашивают молоко до разливочной машины, заквашенное молоко быстро охлаждалось (разность температур достигала до 12...15°C), вследствие чего, естественно, замедлялось сквашивание.

Недостаточное охлаждение термостатных камер при производстве кефира в летнее время неизбежно приводит к возникновению таких пороков, как излишнее нарастание кислотности (вследствие развития палочек), образование глазков и броженного сгустка (в результате развития дрожжей и ароматобразующих бактерии). В период запуска предприятия нередко приходится сталкиваться с таким явлением, как вспучивание кефирной закваски в ваннах длительной пастеризации. При нормальном состоянии кефирных грибков и грибковой закваски это может быть вследствие пропускания пара через вентили в водяную рубашку. Если одновременно в одной емкости молоко сквашивают, а в другой пастеризуют, то при плохой работе вентиля пар попадает в первую емкость и сквашиваемое молоко нагревается. При достаточно высокой кислотности молока ($50...60^{\circ} \text{T}$) сгусток в нижних слоях молока коагулирует и всплывает на поверхность. Создается впечатление, что закваска вспучилась, хотя при микробиологических исследованиях не обнаруживается какой-либо значительной интенсификации жизнедеятельности газообразующих микроорганизмов. Этот дефект можно устранить, установив дополнительные вентили на трубопроводах для подвода пара к ваннам. Кроме того, молоко для закваски целесообразно пастеризовать только после сквашивания предыдущей партии заквасок и подачи холодной воды в водяную рубашку ванны, заполненной готовой закваской.

Кисломолочные продукты, за исключением творога и сметаны, не подлежат длительному хранению. Температуры охлаждения и хранения их выбирают такими, чтобы приостановить по возможности все микробиологические и физико-химические процессы в продукте. Сведения о микробиологических процессах, происходящих при хранении кисломолочных продуктов, крайне ограничены. В иностранной литературе имеются данные о микрофлоре, обнаруживаемой в процессе хранения сыра коттедж - продукта с более высоким рН, чем творог. Эта микрофлора представлена главным образом не молочнокислыми психотрофными бактериями родов *Pseudomonas* (70,6%), *Achromobacter* (7,9%), *Flavobacterium* (0,7%). Бактерии группы кишечной палочки составляют около 10%, дрожжи - 0,8% (В. Д. Шульце и Дж. Ц. Ольсон, 1960). При низких температурах хранения порча этого продукта обусловлена главным образом развитием гнилостных процессов. В кисломолочных продуктах вследствие низкого рН обычно создаются условия, неблагоприятные для развития гнилостных микроорганизмов.

Почти все кисломолочные продукты, предназначенные для быстрой реализации, хранят при $8...10^{\circ} \text{C}$. При этой температуре значительно подавляется развитие молочнокислых бактерий и сопутствующее ему нарастание кислотности. Однако при малейших нарушениях режимов

хранения (повышении температур) в результате развития «диких» термоустойчивых палочек прежде всего излишне повышается кислотность продуктов. Этот порок может возникать также и в том случае, если продолжают развиваться молочнокислые палочки, вводимые с заквасками (ацидофильная и болгарская). При температуре хранения выше 10° С в кисломолочных продуктах могут развиваться дрожжи, вызывающие вспучивание, и уксуснокислые бактерии, которые влияют на изменение вкуса и консистенции продукции.

На поверхности кисломолочных продуктов уже на второй день хранения часто появляются колонии молочной плесени *Oidium lactis*, которая в дальнейшем покрывает пушистым налетом всю поверхность продукта. Особенно часто это наблюдается при хранении простокваши, кефира, сметаны и творога. Л. А. Лыгцевой (1968) установлено постоянное присутствие в твороге как свежеработанном, так и после хранения микрококков, споровых и бесспорных палочек, дрожжей и плесеней. Однако ввиду отсутствия количественной характеристики этих групп (за исключением микрококков, которые достигали значительных величин) и данных о способности их развития в твороге (особенно гнилостных палочек) трудно сделать вывод о роли этих микроорганизмов в порче творога. Исследованиями, проведенными во ВИИМИ, установлено, что в процессе хранения кисломолочных продуктов, вырабатываемых в производственных условиях по установленной технологии, при 6...8° С в течение 5...7 дней происходило некоторое отмирание полезной микрофлоры, введенной с заквасками. Так, в 1 мл кефира содержание микрофлоры на протяжении 7 суток хранения составляло:

	В момент выработки	После хранения
Мезофильных молочно-кислых стрептококков	600 млн.	250 млн.
Ароматобразующих Бактерий	82 млн	45 млн.
Термофильных молочно-кислых палочек	1 млн.	1 млн.
Дрожжей	200 тыс.	125 тыс.
Уксуснокислых бактерий	10 тыс.	10 тыс.

Из приведенных данных видно, что содержание микроорганизмов до и после хранения находилось в пределах одного порядка. Следовательно, отмирание микроорганизмов можно признать не существенным.

Количество молочнокислых бактерий в ряженке, простокваша и ацидофилине на протяжении 7 суток хранения при 6...8° С также существенно не снижалось и составляло в среднем $6,0 \times 10^8$ /мл сразу после выработки и $2,5-10^8$ /мл в конце хранения.

Содержание в твороге посторонней микрофлоры (энтерококков, коагулазоположительных стафилококков, липолитических микроорганизмов и дрожжей) за этот период снижалось соответственно с 10^4 до 10^3-10^2 мл, плесеней - с 10^3 до $10^2...10^1$ мл. Во всех кисломолочных продуктах содержание бактерий группы кишечной палочки после хранения снижалось в 10...100 раз. Повышение кислотности сверх установленной технической документацией не наблюдалось при хранении кефира, ряженки, простокваши (мечниковской и южной). Однако кислотность около 30% исследованных образцов к концу хранения находилась на грани этих требований. При хранении ацидофилина излишнее повышение кислотности отмечалось уже к концу одних суток его хранения.

Наиболее обесценивающим показателем, по которому образцы кисломолочных продуктов снимались с хранения, являлось ухудшение в процессе хранения вкуса, вызванное ферментативными процессами - липолизом и протеолизом, а также связанное с особенностями упаковочного материала и изменением консистенции (образование глазков, старение сгустка). Так, у кефира, разлитого в стеклянные бутылки, первые признаки ухудшения консистенции и вкуса (слегка нечистый, иногда дрожжевой) появлялись после 3...4 суток хранения при 6...8 °С. Кефир, разлитый в бумажные пакеты, приобретал посторонний привкус уже через 1...2 суток. Сроки сохранения качества кисломолочных продуктов в значительной мере определялись качеством исходного продукта и условиями хранения. Так, при температуре 2...4° С длительность хранения увеличивалась на 1...2 суток.

При длительном хранении замороженного творога количество бактерий группы кишечной палочки, стафилококков и сальмонелл снижается значительно медленнее, чем в твороге, хранящемся при положительных температурах. Количество нежелательных микроорганизмов при -18° С уменьшается медленнее, чем, например, при -10° С. В результате длительного хранения творога при температуре выше -10° С происходят необратимые физико-химические изменения продукта, вследствие чего пищевое и товарное качество его снижается.

Механические воздействия, применяемые при производстве кисломолочных продуктов (гомогенизация, перемешивание, перекачивание), могут как прямо, так и косвенно воздействовать на микроорганизмы. Данных о прямом влиянии гомогенизации на микрофлору молока или сливок в

литературе нам найти не удалось. По нашим наблюдениям, гомогенизация может оказать существенное косвенное влияние на состав микрофлоры продукции, подвергаемой гомогенизации, если гомогенизация предусмотрена после пастеризации. Дело в том, что оптимальные температуры, установленные для гомогенизации, как правило, ниже температур пастеризации: для сливок 60...70° С. для молока 50...60°С (В. Вайткус, 1960). Если производительность гомогенизатора превышает производительность пастеризационной установки, то после пастеризатора устанавливается промежуточная емкость для накопления продукта (чаще сливок) перед гомогенизацией. В этом случае продукт длительное время (2...3 ч) находится в промежуточной емкости при температуре около 50° С. При этой температуре создаются условия для развития в сливках, оставшихся после пастеризации термоустойчивых молочнокислых палочек, которые в дальнейшем значительно влияют на качество получаемого продукта. Поэтому с точки зрения микробиологии проведение гомогенизации после пастеризации нельзя признать целесообразным.

Принято считать, что плотность сгустков кисломолочных продуктов обусловлена исключительно деятельностью заквасок. Однако наблюдения в производственных условиях показывают, что в результате применения заквасок, подобранных с учетом их консистенции и способности к образованию вязких сгустков, не всегда можно получить продукты с повышенной плотностью (любительская сметана и пр.). Так, при производстве любительской сметаны с использованием одной и той же комбинации заквасок наблюдались значительные расхождения в консистенции готового продукта. Иногда причиной этого были нарушения режимов гомогенизации, что легко установить микроскопированием продукта. Т. Строгардс (1963) подчеркивает, что при правильном сочетании гомогенизации и тепловой обработки значительно улучшается консистенция кисломолочных продуктов. Аналогичные выводы при производстве йогурта были сделаны Б. Гилмаром (1972) и П. Черновым (1972). Советскими исследователями оптимальное сочетание тепловой обработки и гомогенизации молока установлено при производстве кефира.

При перекачивании закваски и готовых кисломолочных продуктов возможно обсеменение их посторонними микроорганизмами, если насосы моют недостаточно тщательно. При тщательном уходе насосы можно применять в производстве кисломолочных продуктов как для подачи закваски в ванны для заквашивания, так и для перекачивания готового продукта. Это подтверждается многолетним опытом работы с заквасками на Останкинском

комбинате и заводе имени Горького (Москва), и на других предприятиях, где закваску транспортируют насосами.

Степень перемешивания сгустка при резервуарном способе влияет на консистенцию готового продукта. Т. Сторгардс (1963) указывает, что наилучшие результаты можно получить, если сквашенное молоко обрабатывать только до тех пор, пока не получится полностью гомогенный, вязкий продукт. При более грубой обработке снижаются стабильность сгустка и усиливается отделение сыворотки. При чрезмерно осторожном перемешивании в продукте наблюдалось наличие комочков и отделение сыворотки. Исключительно большое значение имеет правильный выбор режимов перемешивания при производстве кефира.

ТЕМА 7. Микробиология сыра

Пробиотиками называются биологические препараты, состоящие из живых непатогенных микроорганизмов или продуктов их ферментации, обладающие антогонистической активностью по отношению к патогенной и нежелательной микрофлоре кишечника человека или животных.

Чаще в качестве микроорганизмов – пробионтов, вводимых в состав пробиотиков, используются молочнокислые и бифидобактерии, реже – пропионовокислые бактерии, энтерококки, дрожжи, бациллы и др.

Микроорганизмов – пробионты осуществляют синтез аминокислот, ферментов, участвуют в общем метаболизме, восполняют дефицит белков животного происхождения, ускоряют процессы переваривания пищи, усвоения питательных веществ.

Препараты, изготовленные на основе бактерий – пробионтов, используются для профилактики желудочно-кишечных заболеваний, особенно у детей и молодняка животных, для коррекции кишечного микробиоценоза, после терапии антибиотиками и химическими препаратами, для стимуляции роста и повышения естественной резистентности микроорганизма.

У физиологически зрелого здорового организма в кишечном биоценозе равноправно присутствуют многочисленные представители как полезной, так и условно – патогенной микрофлоры. Стабильность биоценоза поддерживается взаимными антагонистическими отношениями между этими группами микроорганизмов, а также микроорганизмов, который посредством сложных иммунных, гормональных и секреторных реакций принимает участие в регуляции численности представителей кишечной микрофлоры и поддерживает определенный баланс между ними.

Идея целенаправленного изменения состава симбиотической микрофлоры желудочно-кишечного тракта принадлежит основоположнику отечественной микробиологии И. И. Мечникову. Предложенный им метод энтерального введения живых культур молочнокислых бактерий в качестве антагонистов гнилостных микробов явился началом современных исследований в области бактериотерапии и профилактики различных патологических состояний, связанных с нарушением состава нормальной микрофлоры кишечника.

Сегодня этот метод лечения и профилактики получил большое распространение в нашей стране и за рубежом под названием «заместительная терапия», в которой основными микроорганизмами являются молочнокислые бактерии.

Термин пробиотики был предложен в 1977г. Ричардом Паркером для обозначения живых микроорганизмов и их продуктов ферментации, обладающие антагонистической активностью по отношению к патогенной микрофлоре.

Термин ПРОБИОТИКИ в буквальном смысле переводится ДЛЯ ЖИЗНИ.

Классическими пробиотиками являются бифидобактерии и молочнокислые микроорганизмы рода лактобактерии. Это связано с тем, что наибольшее количество микроорганизмов, благотворно влияющих на здоровье людей, были выделены именно из кишечника человека и именно эти бактерии, колонизируя желудочно-кишечный тракт и постоянно присутствуя в нем, берут на себя основную защитную функцию, в то время как другие микроорганизмы являются транзиторными.

Микроорганизмы, используемые как пробиотики, классифицируются на основные группы:

1. бактерии, продуцирующие молочную и пропионовую кислоты (лактобактерии, бифидобактерии, пропионовокислые бактерии, энтерококки и др.)
2. спорообразующие аэробы рода бациллы
3. дрожжи, которые чаще используются в качестве сырья при изготовлении пробиотиков
4. комбинации перечисленных микроорганизмов.

Пробиотические препараты подразделяются на эубиотики, пребиотики и синбиотики.

Эубиотики – биологические препараты, состоящие из живых микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры кишечника.

Пребиотики являются пищевыми или другими ингредиентами, преимущественно благотворно влияющими на развитие полезной микрофлоры кишечника организма человека или животного. При помощи пребиотиков, т.е. используя определенную диету, можно регулировать микробиоценоза кишечника.

Пищевые добавки пребиотиков могут содержать специфические вещества (факторы идентификации), вырабатываемые лактобактериями, которые предотвращают адгезию (прилипание) нежелательных микроорганизмов к эпителиальным клеткам кишечника хозяина. В качестве пребиотиков могут использоваться олигосахариды, ингибирующие развитие некоторых групп микроорганизмов.

Если живые микробиологические добавки (пробиотики) используются в сочетании со специфическими субстратами роста (пребиотиками), то такие биопрепараты называют синбиотиками.

В настоящее время созданы и разрабатываются композиции синбиотиков, обогащенные витаминами, ростовыми веществами, микроэлементами, лактозой, молочной кислотой, антибиотиками и др.

Механизм действия пробиотиков направлен на принудительное заселение кишечника конкурентоспособными штаммами бактерий-пробионтов, которые осуществляют неспецифический контроль за численностью условно-патогенной микрофлоры, вытесняя ее из состава кишечной популяции и сдерживая усиление факторов патогенности у ее представителей. При этом действие микроорганизмов -пробионтов осуществляется в основных проявлениях:

- подавление численности нежелательных микроорганизмов
- изменение метаболизма микробов
- стимуляция иммунитета организма хозяина
- детоксикация экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов.

Снижение численности или полное исчезновение специфической группы бактерий после применения пробиотиков объясняется прямым антагонистическим действием, вызванным антибиотическими веществами, пищевой конкуренцией или конкуренцией за места прикрепления к пищевому эпителию. Способность прикрепляться к эпителию кишечника является для многих микроорганизмов существенным условием закрепления в тонкой подвижной среде, как кишечник, т. к. они могут избежать удаления перистальтикой кишечника и оставаться поблизости к поступающей свежей пище.

Следовательно, одним из способов предотвращения колонизации (заселения) кишечника патогенными микроорганизмами является насыщение

рецепторов адгезии (прикрепления) эпителия кишечника бактериями пробиотиков, что предотвращает прикрепление патогенов и обеспечивает защиту от кишечных заболеваний.

Пробиотики многосторонне действуют на организм хозяина, оказывая иммуностимулирующее проявление даже в малых дозах, что указывает на тесную связь между иммунным статусом организма и заселением микрофлорой желудочно-кишечный тракт. Кишечная микрофлора принимает активное участие в работе иммунокомпетентных органов в формировании клеточного и гуморального иммунитета.

Под влиянием пробиотиков изменяется комплекс факторов неспецифической резистентности: повышается содержание лизоцима, бактерицидная активность сыворотки крови, фагоцитарная активность нейтрофилов и др. Микроорганизмы, входящие в состав пробиотиков, активизируют системы иммунитета, влияют на выработку иммуноглобулинов, особенно секреторного иммуноглобулина А, обуславливающего местный иммунитет слизистой оболочки кишечника.

Действие пробиотических препаратов можно рассматривать в качестве антигенов, не оказывающих негативного влияния, являющихся стимуляторов иммунной системы, активизирующими специфическую и неспецифическую защиту организма хозяина.

Микрофлора пробиотиков и пищеварительного тракта является одним из главных механизмов защиты микроорганизма от потенциально токсических соединений, поступающих в организм с пищей, водой, воздухом или образующихся эндогенно.

Пробионты и кишечные микроорганизмы способны к метаболизации многих лекарственных препаратов. Установлено, что бактерии – пробионты обладают свойством обезвреживать бактериальные токсины.

Кроме перечисленных эффективных механизмов действия, перспективы широкого использования пробиотиков обусловлены также относительно простой биотехнологией их производства, которая сводится к выращиванию одного или нескольких микроорганизмов – пробионтов на соответствующих питательных средах с последующим высушиванием культуральной жидкости.

Помимо белковых, углеводных, жировых и ферментных фракций, имеющих в составе пробиотиков, большая доля биологически активных веществ приходится на различные витамины, особенно группы В, и поэтому пробиотики по существу являются бактериально – витаминными препаратами и могут вводиться в состав продуктов детского питания и комбикормов с целью предупреждения заболеваний и стимуляции роста детей и молодняка животных.

ТЕМА 8. Микробиология сливочного масла

Условия развития микроорганизмов в масле

Масло вырабатывают методами непрерывного или периодического сбивания и преобразования высокожирных сливок. Сладкосливочное масло вырабатывают из свежих (сладких) пастеризованных сливок, а кислосливочное – из сквашенных сливок, получаемых с использованием заквасок, состоящих из мезофильных молочнокислых стрептококков (кислотообразующих и ароматобразующих).

Основными составными частями масла являются молочных жир вода, обезжиренные сухие вещества (белки, минеральные вещества, витамины и др.) в виде гомогенной жироводной эмульсии. Для большинства микроорганизмов молочный жир не является питательной средой. Исключение составляют микроорганизмы, которые обладают липолитической активностью (флуоресцирующие бактерии, микрококки, микроскопические грибы). Развитие микроорганизмов в масле, таким образом, происходит в плазме масла, богатой питательными веществами.

Интенсивность развития микроорганизмов в масле зависит:

1. От дисперсности водно-молочной фазы жироводной эмульсии

Плазма составляет небольшую часть масла (около 15%) и распределена в нем в виде капель микроскопической величины (от 1 до 10 мкм), которых в 1 г масла содержится несколько миллиардов. Чем меньше влаги в масле и чем лучше она вработана в масло, т.е. чем больше в нем мелких стерильных разобщенных капель, тем меньше условий для развития микроорганизмов в масле. В мельчайших капельках воды (размером менее 10 мкм), обсемененных микроорганизмами, создаются неблагоприятные условия для дальнейшего развития из-за недостатка питательных веществ, отсутствия кислорода и пространственной ограниченности. Кроме того, задержка развития бактерий в мелких каплях плазмы обусловлена тем, что вода в них в большей степени связана с веществами оболочек жировых шариков и не может быть использована микроорганизмами.

2. От рН водно-молочной фазы

В кислосливочном масле условия для развития микроорганизмов хуже, чем в сладкосливочном, так как при сквашивании сливок возрастает кислотность (снижается рН), что губительно влияет на гнилостные бактерии, которые являются возбудителями порчи.

3. От наличия в водно-молочной фазе поваренной соли

Вырабатывают масло несоленое и соленое (1,5% соли). Внесение в водно-молочную фазу поваренной соли угнетает развитие микроорганизмов.

4. От эффективности пастеризации сливок, способа выработки масла, санитарно-гигиенических условий производства

5. От температуры

Состав микрофлоры масла и ее изменение в процессе хранения

Микроорганизмы могут попадать в масло вместе со сливками с поверхности оборудования и аппаратуры, упаковочного материала, из воды, соли, воздуха, вкусовых наполнителей. Для кисломолочного масла основным источником микрофлоры является закваска.

Микрофлора сладкомолочного масла представлена молочнокислыми бактериями, дрожжами, микроскопическими грибами, спорообразующими бактериями родов *Bacillus* и *Clostridium*, психрофильными бактериями рода *Pseudomonas* и другими микроорганизмами. Количество микроорганизмов в масле составляет от нескольких тысяч до 1 миллиона клеток в 1 г.

В процессе хранения сладкомолочного масла в условиях высокой температуры (150С и выше) возрастает содержание молочнокислых бактерий, максимальное их количество достигается через 5 дней хранения и составляет десятки миллионов клеток в 1 г. При дальнейшем хранении количество молочнокислых бактерий снижается.

При хранении масла при низких положительных температурах (до 50С) повышение количества микроорганизмов в масле происходит в основном за счет развития психрофильных протеолитических бактерий, микрококков, дрожжей, микроскопических грибов.

Хранение сладкомолочного масла при низких отрицательных температурах (ниже -11°C) приводит к прекращению микробиологических процессов и отмиранию микроорганизмов в масле.

Микрофлора кисломолочного масла состоит из микрофлоры закваски. Закваска для кисломолочного масла содержит кислотообразующие молочнокислые стрептококки *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, а также ароматобразующий стрептококк *Streptococcus diacetylactis*, обладающий способностью к образованию молочной кислоты и диацетила.

При хранении кисломолочного масла независимо от температуры хранения происходит отмирание молочнокислых стрептококков. При температуре 150С этот процесс протекает быстрее, чем при более низких температурах. Тем не менее, даже при хранении масла в условиях низких отрицательных температур (ниже -11°C) через 6...9 месяцев отмирает 95...98% молочнокислых бактерий.

3. Пороки масла. Мероприятия, направленные на повышение стойкости масла

Пороки масла, обусловленные развитием микроорганизмов, чаще возникают во время его хранения. Наиболее частыми пороками масла являются:

Кислый вкус (для сладкосливочного масла)

Появляется при использовании сырья повышенной кислотности и хранении масла при температуре выше 100С, что обуславливает развитие молочнокислых бактерий. Для сладкосливочного масла излишне кислый вкус отмечается при кислотности плазмы выше 230Т.

Нечистые (затхлые, гнилостные) вкус и запах

Чаще встречаются в сладкосливочном масле. Причиной является развитие в масле посторонних протеолитических микроорганизмов, которые расщепляют белки плазмы до аминокислот с отделением от них углекислого газа и образованием аминов, сернистого водорода, других промежуточных соединений.

Сырный вкус

Вызывается протеолитическими бактериями и плесенями при разложении белка и жира. Этот порок наблюдается только в старом масле. Степень выраженности сырного привкуса зависит от количества Н-валериановой кислоты и других летучих кислот с низкой молекулярной массой. Сырный вкус развивается во время хранения масла при низкой температуре.

Дрожжевой вкус

Образуется в результате сбраживания лактозы дрожжами родов *Toxula*, *Saccharomycetes* и др., а также при разложении аминокислот с образованием спиртов. Этот порок характерен для кисломолочного несоленого масла.

Прогорклый вкус

Возникает при разложении молочного жира липолитическими флуоресцирующими бактериями, микроскопическими грибами, дрожжами. Порок чаще встречается в несоленом масле. Для предупреждения этого порока нужно не допускать попадания в сливки и масло посторонней микрофлоры и быстро охлаждать масло до минусовой температуры.

Горький вкус

Обусловлен разложением белков плазмы до пептонов при развитии протеолитических бактерий и флуоресцирующих палочек. Возбудителями этого порока могут быть также некоторые виды дрожжей и плесеней. При более глубоком разложении белков появляются сырный и гнилостный привкусы. Горький вкус появляется при хранении масла в условиях низких положительных температур.

Плесневение

Связано с развитием микроскопических грибов. Порок наблюдается при выработке масла из не пастеризованных сливок, при неудовлетворительном распределении масла в монолите и плохой набивке масла. Для предупреждения плесневения масла необходимо соблюдать санитарно-гигиенические и технологические условия производства и хранения масла.

Штафф (поверхностное окисление масла)

Проявляется образованием на монолите полупрозрачного слоя, имеющего специфический запах и неприятный горьковатый, а иногда приторно-едкий вкус. Штафф вызывается полимеризацией глицеридов и окислением молочного жира при развитии психрофильных протеолитических бактерий. При этом катализаторами являются солнечный свет, высокая жирность, влаго- и воздухопроницаемость упаковочных материалов.

Появление порока можно предупредить улучшением распределения влаги в монолите масла, уменьшением количества воздуха в масле, снижением проницаемости упаковочных материалов, хранением масла при отрицательных температурах.

Условиями повышения стойкости масла являются:

- Использование заквасочных молочнокислых бактерий, которые угнетают развитие посторонней микрофлоры. Это положительно сказывается при хранении масла в условиях положительной температуры;
- Использование дрожжей, обладающих ингибирующим действием на плесени. В качестве таких дрожжей используют дрожжи родов *Candida* и *Torulopsis*. Эти дрожжи не сбраживают молочный сахар, не разлагают в заметной степени белки и жиры и являются антагонистами не только микроскопических грибов, но и протеолитических бактерий. Обогащение сливочного масла дрожжами ведут из расчета 100-150 тысяч клеток на 1 г;
- Получение тонкодисперсной жироводной эмульсии;
- Использование природных и синтетических антиокислителей (например, сульфгидрильных соединений белков молока, токоферола (витамина E), аскорбиновой кислоты (витамина C), фосфолипидов, некоторых аминокислот);
- Использование поваренной соли;
- Использование консервантов (например, сорбиновой кислоты в количестве 0,01%);
- Высокие санитарно-гигиенические условия производства, строгое соблюдение технологии;

Охлаждение и хранение масла при низких отрицательных температурах, герметичная упаковка.

3. Микробиологический контроль производства масла

На маслозаводах проводят микробиологический контроль поступающих молока, сливок, закваски, вспомогательных материалов и готовой продукции, а также контроль санитарно-гигиенических режимов производства и воздуха в производственных цехах, складах, маслохранилище, заквасочной.

Так, после пастеризации определяют КМАФАнМ (допускается до 5000 КОЕ/см³ для сливок удовлетворительного качества) и БГКП (не допускаются в 10 см³ сливок).

По результатам микробиологического контроля по ходу технологического процесса производства масла выявляют места с высокой степенью обсеменения технически вредной микрофлорой и принимают меры к ее ограничению.

При проведении контроля санитарно-гигиенического состояния производства масла ведут определение микробиологической чистоты оборудования, трубопроводов, инвентаря, фляг, ушатов, деревянной тары, рук работников, воздуха, воды, пергамента, кашированной фольги, клепки, соли.

В готовой продукции определение микробиологических показателей проводят 2 раза в месяц.

В кисломолочном масле нормируются наличие БГКП и патогенных микроорганизмов, в том числе и сальмонелл. БГКП в зависимости от вида масла не должны содержаться в массе 0,01-0,001 г, а сальмонеллы не допускаются в 25 г масла.

В сладкомолочном масле помимо вышеуказанных показателей определяют КМАФАнМ. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г сладкомолочного масла не должно превышать количества 10⁴...10⁵ КОЕ в зависимости от вида масла.

ТЕМА 9. Микробиология консервированных молочных продуктов и мороженого

Взаимоотношения между основными представителями микрофлоры цельномолочной продукции

Среди микроорганизмов молока распространены следующие виды взаимоотношений: симбиоз, антагонизм и паразитизм. Симбиотические взаимоотношения характеризуются взаимной пользой, которую получают два или более микроорганизмов при совместном развитии. Возможно, что при этом один микроорганизм вырабатывает вещества (аминокислоты, витамины), без которых на данной среде не может жить другой, а этот

последний потребляет продукты обмена, угнетающие развитие первого. Возможны также случаи, когда каждый из симбионтов вырабатывает какое-то вещество, необходимое для другого. В понятие симбиоза входят также синергизм и комменсализм. О синергизме говорят, когда два вида, развиваясь в среде, вызывают в ней такие изменения, которые не может вызвать каждый из видов, развиваясь отдельно. Случаи, когда один вид микроорганизмов живет за счет продуктов обмена другого или стимулируется ими, не давая ничего другому виду, рассматриваются как комменсализм (“комменсал” в буквальном смысле - питающийся с одного стола). Разновидностью комменсализма, когда один вид микробов подготавливает благоприятные условия для последующего развития другого, является метабиоз. Под антагонизмом понимают взаимную борьбу между двумя или несколькими микроорганизмами. Причинами антагонистической действия могут быть: конкуренция в потреблении необходимого питательного или ростового вещества; накопление продуктов обмена например молочной кислоты; изменение рН или окислительно-восстановительного потенциала в неблагоприятную сторону; выделена специфических антибиотических веществ, которые оказывают прямое или косвенное воздействие на обмен веществ других видов, или задерживают их рост, либо приводят к полной гибели. Как крайнюю степень антагонизма можно рассматривать паразитизм, при котором один организм развивается за счет живого вещества другого и приводит к его гибели.

Следует учитывать, что характер взаимоотношений в большой степени зависит от состава среды, в которой развиваются микроорганизмы, температуры, соотношения между микроорганизмами и другие факторов. Характер взаимоотношений можно установить только после тщательного и разностороннего исследования. Особенно трудно судить о взаимоотношениях между микроорганизмами в такой сложной среде, как молоко.

Взаимоотношения между молочнокислыми бактериями могут быть как симбиотическими, так и антагонистическими. Кроме того, характер взаимоотношений между одними и теми же молочнокислыми бактериями может меняться в зависимости от состава среды и условий культивирования.

Имеются наблюдения о благоприятном действии одних видов молочнокислых бактерий на другие. По данным С. А. Королева (1932), очень часто энергия смешанной культуры молочнокислых бактерий значительно выше энергии каждой из составляющих ее культур, повышение числа клеток обоих микроорганизмов в смешанной культуре *Str. lactis* и *Lbm. caseie* (или - *Lbm. helveticum*) и энергии кислотообразования было установлено М. Богдановым. Это же явление значительна позднее было отмечено П. Риттером

(1964). Из культур *Str. Lactis*, выделены клеточные экстракты, которые оказывали стимулирующее действие на рост молочнокислых палочек (А. Л. Бранен, Т. В. Кинан, 1969).

В результате изучения микрофлоры йогурта (Дж. В. Петте, Лолкема, 1950, 1957) установлено, что при развитии в молоке совместной культуры *Str. thermophilus* и *Lbm. bulgaricum* кислотообразование происходит интенсивнее, чем при развитии каждой культуры отдельно. Считается, что стрептококки как бы подготавливают условия для развития молочнокислых палочек, снижая окислительно-восстановительный потенциал до величины, благоприятной для развития молочнокислых палочек. С другой стороны, молочнокислые палочки вырабатывают водорастворимое, термостабильное ростовое вещество, которое стрептококки не могут сами продуцировать. Вероятнее всего, что в состав этого вещества входит аминокислота валин (Дж. В. Петте, 1957, Дж. Дэвис, 1963). Имеются сообщения о взаимном стимулирующем действии отдельных видов молочнокислых бактерий - *Str. faecalis* и *Str. arabinosus*, молочнокислых палочек *Lbm. casei* и *Leuc. citrovorum* и т. д. Наблюдаемые между этими микроорганизмами симбиотические взаимоотношения основаны на снабжении ими друг друга необходимыми для развития веществами.

Р. С. Дехайя и М. Л. Спекк (1962) выделили стрептококки - слабые кислотообразователи, которые оказывали стимулирующее действие на сильных кислотообразователей. Стимулирующим действием обладали не только живые культуры, но и их фильтраты. Этими же авторами (1966) установлено образование пептидов, стимулирующих рост и кислотообразование *Str. lactis* в совместной культуре их с *Lbm. casei*. Палочки вырабатывали вещества, стимулирующие рост только в присутствии стрептококков.

Возможность получения симбиозов из *Str. lactis* и *Str. cremoris* при составлении двухштаммовых заквасок для сыра показана С. Л. Котари, и др.(1970), Л. Е. Персе (1970) и многоштаммовых - для кисломолочных продуктов - Л. А. Банниковой (1966). При этом было достигнуто повышение кислотообразования в комбинациях по сравнению с чистыми культурами на 30...50%. По-видимому, этот эффект обусловлен тем, что между микроорганизмами происходит сложный обмен продуктами. Общая закономерность их жизнедеятельности, отмечаемая большинством исследователей, состоит в том, что культуры со слабой протеолитической активностью стимулируются культурами с более высокой протеолитической активностью.

Антагонистические взаимоотношения между молочнокислыми бактериями обусловлены, по-видимому, главным образом выделением

специфических антибиотических веществ. Способность штаммов *Str. lactis* вырабатывать антибиотическое вещество низин впервые была отмечена Х. Р. Уайтхедом и Дж. А. Коксом в 1933 г. Лишь 10 лет спустя над этой проблемой начали работать в Англии Мэттик, Хирш и Берридж. В чистом виде выделил низин А. Хирш (1951); была установлена его полипептидная природа. Полипептиды вырабатываемые разными штаммами, несколько отличаются по химическому составу, поэтому их принято называть низинами. Низины оказывают антибиотическое действие на все стрептококки (в том числе и на молочнокислые), включая серологические группы С и D, пневмококки, коринебактерии, актиномицеты, молочнокислые палочки, кластридии и другие спорообразующие бактерии. На бактерии группы кишечной палочки они не действуют.

При наличии в сыром молоке большого количества (до 80 - 160 тыс./мл) стрептококков, образующих низин, наблюдалось подавление молочнокислых палочек, вводимых с закваской при выработке швейцарского сыра (П. Риттер, 1964). Имеются культуры молочнокислых бактерий, чувствительные и малочувствительные к продуктам обмена антагонистов (К. М. Шэхэни, 1962). У некоторых штаммов *Str. thermophilus* выявлена способность выделять фермент низиназу, разрушающий низин (ГГ. Р. Алифакс и Р. Шевалье, 1962). Возможно, что этим в какой-то степени объясняется нечувствительность отдельных культур к низину.

Недостаточно тщательный учет наличия внутривидового антагонизма у молочнокислых стрептококков может привести к превращению многоштаммовой закваски в одноштаммовую). По данным Е. Б. Коллинза (1961), некоторые штаммы молочнокислых стрептококков в смеси с другими культурами того же вида - становятся преобладающими, даже если они не продуцируют антибиотики. Возможно, что это связано с различиями в энергии размножения, кислотообразования, а также с различиями в устойчивости к конечным продуктам брожения, потребности в питательных веществах и пр. Так, Л. Г. Лайтбоди и Л. Дж. Минуэлл (1955) выявили способность *Str. cremoris* вытеснять *Str. lactis* из комбинированной закваски.

М. Хитаранте (1955) удалось получить хорошую закваску, состоящую из *Str. diaceti lactis* и *Str. cremoris*, выделявшего антибиотическое вещество тина низина. Это вещество подавляло в закваске рост всех бактерий, кроме *Str. diacetilactis*. Отмечено также свойство культур *Str. diacetilactis* вырабатывать антибиотические вещества, подавляющие развитие главным образом посторонних (не молочнокислых) бактерий (Р. Радич, В. Е. Сандин, П. Р. Элликер, 1969; Е. Р. Ведамуту, Б. А. Хаузер и др., 1971), а также выявлена их способность становиться доминирующим видом в заквасках, состоящих из *Str.*

lactis. *Str. cremoris* и *Str. diacetylactis*. Ц. Д. Бурроу, В. Е. Сандип и др. (1970) получены мутанты *Str. diacetylactis*, неспособные вырабатывать диацетил, но сохранившие способность подавлять микроорганизмы, вызывающие порчу пищевых продуктов. Высокая энергия кислотообразования молочнокислых палочек способствует улучшению аромата, особенно при низких рН (А. К. Максимова, 1954). Такое сочетание микроорганизмов было изучено также при производстве ацидофильной простокваши (Н. А. Бавина). Получаемый продукт имел прекрасный вкус и аромат.

И. Рашич и З. Миланович (1971) установили образование диацетила в совместной культуре *Str. diacetylactis* с закваской для йогурта при 43° С. При температуре сквашивания и созревания 30...32° С образование диацетила значительно усиливалось.

Имеется немало указаний на стимулирующее действие дрожжей по отношению к молочнокислым бактериям. С. А. Королев (1932) констатировал консервирующее действие дрожжей на жидкие культуры (в молоке) молочнокислых бактерий. Молочнокислые бактерии в смешанной культуре с дрожжами сохраняли активность в течение многих месяцев без перевивок при комнатной температуре. По наблюдениям С. А. Королева, “защитное” действие дрожжей не зависит от их способности к образованию спирта. С. А. Королев указывает на следующие теоретически возможные причины “защитного” действия дрожжей:

изменение рН среды вследствие образования щелочных продуктов и прямого потребления кислоты;

изменение состояния белковой части молока в результате протеолиза, который вызывают дрожжи при совместном развитии с молочнокислыми бактериями;

выделение ферментов или витаминов.

Сообщество молочнокислых бактерий и дрожжей широко распространено в природе. Оно наблюдается не только в молочных продуктах, но и в других естественных субстратах: вине и виноматериалах (Е. И. Квасников, 1960), тесте (Г. Л. Селибер и А. Л. Бычкова, 1956), силосе (М. М. Макарова, 1962), содержимом кишечника (В. В. Леонович, М. П. Бибердиева, 1964). По данным Е. И. Квасникова, устойчивость молочнокислых бактерий к этиловому спирту - основному продукту брожения дрожжей - значительно выше, чем у самих дрожжей и большинства не молочнокислых бактерий. Некоторые молочнокислые бактерии, выделенные из вина, выдерживали содержание в среде до 20...22% спирта. Молочнокислые бактерии, выделенные из молочных продуктов, были несколько чувствительнее к спирту, но все же выдерживали достаточно

высокие его концентрации - до 12...18% (Е. И. Квасников, 1960). Дрожжи в свою очередь проявляют высокую устойчивость к молочной кислоте - основному продукту жизнедеятельности молочнокислых бактерий.

Естественные закваски более устойчивы к неблагоприятным условиям, чем закваски на чистых культурах. Возможно это объясняется тем, что естественные закваски, как правило, содержат дрожжи. Примером прочных симбиотических взаимоотношений между молочнокислыми бактериями и дрожжами является кефирный грибок.

Совместно с палочками типа *Streptobacterium* дрожжи могут сохраняться в молоке продолжительное время без заметного снижения количества. То же наблюдается при совместном культивировании в молоке ацидофильных бактерий с дрожжами.

Опыты по сквашиванию молока совместными культурами стрептококков и дрожжей показали, что количество дрожжей в закваске не должно превышать 50 тыс./мл. В противном случае в закваске отмечался дрожжевой привкус, иногда - газообразование. В результате длительного совместного культивирования с дрожжами молочнокислые бактерии нередко изменяют свои морфологические, культуральные и биохимические свойства. Так, ацидофильные палочки из S-формы переходят в R-форму. При этом повышается их энергия кислотообразования и антибиотическая активность (Н. С. Королева, 1959; М. С. Полонская и др. 1958). По данным Л. А. Банниковой (1953), при культивировании молочнокислых стрептококков с молочными дрожжами существенно изменялась биохимическая активность стрептококков, повышалась энергия кислотообразования и снижалась или утрачивалась способность к образованию ацетона и летучих кислот. Совместное культивирование с дрожжами позволяет длительное время (до 3...6 месяцев) сохранить жизнеспособность молочнокислых бактерий. Взаимоотношения между молочнокислыми бактериями и дрожжами могут быть не только симбиотическими. Описаны случаи, когда при определенных условиях (в заквасках для хлеба и силоса) молочнокислые бактерии проникают в дрожжевые клетки и разрушают их, выступая в роли антагонистов (С. А. Ковровцева, 1937, М. М. Макарова, 1962). Е. И. Квасников (1960) установил, что молочнокислые палочки проникают в дрожжевые клетки только при сравнительно высоких рН (около 6) и в средах, на которых молочнокислые бактерии испытывают недостаток в азотном питании.

В некоторых случаях угнетающее действие на дрожжи оказывают и молочнокислые стрептококки. При культивировании закваски, состоящей из стрептококков и дрожжей, сбраживающих лактозу, последние полностью исчезали через 10 пересадок.

Подавляющее действие препарата полилактона, выделенного из молочнокислых бактерий, на дрожжи типа *Candida* установлено С. Коматсу и Т. Суяма (1969).

Многими исследователями отмечены симбиотические взаимоотношения между уксуснокислыми и молочнокислыми бактериями и установлена высокая протеолитическая активность симбиотических культур, а также значительное продление жизнеспособности молочнокислых бактерий в присутствии уксуснокислых. По данным М. Р. Гибшман (1952), типичные уксуснокислые бактерии (выделенные не из молочных субстратов) приспособлялись к несвойственным для них условиям среды, и постепенно приобретали новые свойства. Появилась способность использовать молочную кислоту, усиливалась способность к протеолизу казеина. Не менее сильное влияние на молочнокислой бактерии оказывают и уксуснокислые бактерии. Л. А. Банникова (1953) установила, что при совместном культивировании *Str. diacetylactis* с уксуснокислыми бактериями повышалась энергия кислотообразования *Str. diacetylactis*, но утрачивалась способность к образованию ацетоина и снижалось образование летучих кислот.

Активирующее действие уксуснокислых бактерий на молочнокислые изучено недостаточно. Возможно, что оно связано с образованием продуктов распада белка и с витаминизацией среды, т. е. по своему характеру близко к влиянию дрожжей. Л. А. Мелузовой, Н. В. Новотельновым и Д. А. Яковлевым (1958) установлено, что уксуснокислые бактерии синтезируют рибофлавин и никотиновую кислоту. При совместном культивировании с молочнокислыми бактериями эти витамины потребляются последними почти полностью.

В. М. Богданов и И. Н. Пятницына (1959) показали, что при совместном культивировании в молоке *Str. lactis* и *Streptobacterium* с уксуснокислыми бактериями в течение 3 суток при 30° С аминного азота накапливалось в 2,5 раза больше, чем при культивировании каждой культуры молочнокислых бактерий отдельно. Использование симбиотических взаимоотношений между этими двумя группами: весьма перспективно, но возможность их применения может быть ограничена изменением вкусовых свойств продукта и его консистенции в результате жизнедеятельности уксуснокислых бактерий.

Кроме того, необходимо учитывать и возможное изменение свойств молочнокислых бактерий, особенно в отношении ароматообразования. Отмечено, что уксуснокислые бактерии, развиваясь вместе с молочнокислыми, резко снижают окислительно-восстановительный потенциал, в результате чего создаются условия, не благоприятные для образования диацетила.

Дрожжи и уксуснокислые бактерии, стимулируя развитие молочнокислых бактерий, по-видимому, безразлично относятся и друг к другу.

В кефире, приготовленном на закваске, в которую входили дрожжи и уксуснокислые бактерии, не наблюдалось накопления спирта (А. К. Максимова, Э. Е. Грудзинская, 1959). При последовательных пересадках кефирных заквасок, приготовленных на чистых культурах (В. М. Богданов, И. Н. Пятницына, 1959; А. К. Максимова и Э. Е. Грудзинская, 1959), уксуснокислые бактерии вытесняли дрожжи после четырех пересадок. Однако известно, что при культивировании кефирных грибков уксуснокислые бактерии и дрожжи составляют обязательную микрофлору закваски и ни та, ни другая группа полностью не исчезает. Иногда крайне трудно разделить эти микроорганизмы при расеве на плотные питательные среды с низким рН. так как они образуют одну общую колонию.

Исследования, проведенные разными авторами, показали, что кишечная палочка может не только задерживать, но и ускорять рост молочнокислых бактерий. В свою очередь молочнокислые бактерии оказывают на кишечную палочку как угнетающее, так и стимулирующее влияние.

По данным М. С. Полонской (1953), в фильтрах культуральной жидкости *E. coli* содержатся термолабильные вещества, угнетающие молочнокислые палочки — ацидофильную и болгарскую. В то же время в фильтрах культур *Lbm. acidophilum* имеются термостабильные вещества, задерживающие развитие *E. coli*. Характер и сила воздействия фильтратов в значительной мере зависят от состава среды. Так, при разведении фильтратов ацидофильной палочки гидролизированным молоком рост *E. coli* угнетался, а при разведении МПБ наблюдалась стимуляция роста.

Установлено, что если в фильтрате культуральной жидкости ацидофильных бактерий, а также в разведениях фильтрата 1:4, 1:8 (иногда и более) кишечная палочка не росла, то при совместном культивировании этих двух микроорганизмов в молоке и в гидролизованном молоке (при равном количестве посевного материала и температуре выращивания 38...40° С) клетки кишечной палочки сохранялись в культуре после трех и четырех пассажей. По-видимому, в этом случае закономерности те же, что и при совместном развитии молочнокислых стрептококков и термоустойчивой молочнокислой палочки. Это еще раз подтверждает необходимость особой осторожности при решении вопроса о характере взаимоотношений между микроорганизмами в такой сложной среде, как молоко. Исследования К. А. Мудрецово-Висс и Д. В. Завьялово-й (1970) показали, что при производстве творога в первые часы происходит заметное размножение кишечной палочки,

затем по мере снижения рН их количество постепенно снижается. Т. С. Сухова (1972) установила, что различные виды мезофильных молочнокислых стрептококков оказывают разное влияние на кишечные палочки. Среди штаммов *Str. cremoris* обнаружены довольно сильные антагонисты по отношению к кишечным палочкам; наоборот, штаммы *Str. lactis* оказывали как угнетающее, так и стимулирующее влияние на развитие этих микроорганизмов. В среднем при совместном развитии в молоке со *Str. cremoris* количество кишечных палочек повышалось в 10 раз (реже в 100), со *Str. lactis* — в 100 раз и более. Подавляющее действие *Str. cremoris* выявлялось только в тех случаях, когда в 1 мл молока содержалось первоначально не более 1—10 клеток кишечных палочек. При более обильном обсеменении ими молока подавления не наблюдалось.

В производстве творога на конечное содержание кишечной палочки в продукте оказывали влияние также санитарно-гигиенические условия его выработки, длительность процессов сквашивания.

Т. С. Суховой (1974) установлено также изменение культурально-биохимических свойств бактерий группы кишечной палочки под влиянием совместного развития с мезофильными молочнокислыми стрептококками. В этом отношении наиболее лабильными были цитратположительные палочки (*Gitrob. freundii*), у которых менялись такие свойства, как способность продуцировать ацетаэтилкарбинол и сероводород H_2S , характер реакции с метиловым красным, способность использовать цитрат.

При производстве кефира отмечалась обратная закономерность в изменении содержания кишечных палочек: в отдельных случаях небольшое количество их можно обнаружить в молоке в момент заквашивания, а из готового продукта их уже не удастся выделить. По наблюдениям В. И. Букановой (1952, 1955) такую резкую разницу в характере развития кишечной палочки при производстве кефира можно отчасти объяснить бактерицидными свойствами отдельных образцов кефира по отношению к кишечной палочке. В этих образцах кефира всегда обнаруживались дрожжи типа *Torulopsis kefir*, сбраживающие лактозу. В тех же образцах кефира, в которых дрожжей не было, кишечная палочка выявлялась в больших количествах.

Представляют интерес данные, полученные А. К. Максимовой и Э. Е. Грудзинской (1969), о подавляющем действии на бактерии группы кишечной палочки уксуснокислых бактерий, выделенных из кефирных грибков. Возможно, что уксуснокислые бактерии также влияют на конечный результат, связанный с антибиотическим действием кефира на кишечные палочки. Эти наблюдения позволяют сделать вывод о том, что в зависимости от условий производства количество бактерий группы кишечной палочки в

кисломолочных продуктах может как резко уменьшаться, так и значительно увеличиваться.

Взаимоотношения, складывающиеся между молочнокислыми бактериями и плесенями (*Oidium lactis*), носят примерно такой же характер, как и взаимоотношения между молочнокислыми бактериями и дрожжами. Плесени предпочитают для своего развития низкие значения рН среды, что создается в результате жизнедеятельности молочнокислых бактерий. В то же время присутствие плесеней, вызывающих протеолиз белков молока и повышение рН, благоприятно действует на молочнокислые бактерии и продлевает их жизнеспособность при совместном длительном культивировании с этими микроорганизмами. М. Антила, В. Антила и Ж. Каукка (1966), добавляя к закваске для финского кислого молока молочную плесень и дрожжи *Candida pseudotropicalis*, добились улучшения вкуса, уменьшения отделения сыворотки и повышения количества летучих кислот в готовом продукте.

Из всех представителей микрофлоры молока и молочных продуктов молочнокислые бактерии проявляют наиболее высокую требовательность к наличию отдельных веществ для питания, особенно к ее белковому и аминокислотному, а также витаминному составу. Так как молочнокислое брожение является ведущим при производстве кисломолочных продуктов, то основное внимание должно быть уделено удовлетворению потребностей в питании именно молочнокислых бактерий.

В молоке азотистые соединения представлены белками - казеином (около 85% от общего количества белков), лактоальбумином (до 13%) и лактоглобулином (около 2%), а также липопротеином оболочек жировых шариков (небольшое количество). Из небелковых азотистых соединений в молоке содержатся мочевины, креатин, креатинин, мочевая кислота, пуриновые основания, аммиак, гиппуровая кислота, аминокислоты и пептоны. Количество небелкового азота в молоке составляет около 0,05% (Г. С. Инихов, 1970). Содержание свободных аминокислот в молоке незначительно - от 0,5 до 2 мг%. Различные исследователи обнаруживали в нем аргинин, гистидин, лизин, лейцин, изолейцин, валин, глицин, аланин, глютаминовую кислоту, пролин, треонин, аспарагиновую кислоту, серии. Последние две аминокислоты присутствуют в очень небольшом количестве (Л. Дейч и Е. Самуэльсон, 1959; Р. Дж. Блок, 1951). Исследования Э. Е. Грудзинской и Н. С. Королевой (1970) также показали наличие в молоке метионина и тирозина. Р. Дж. Блоком (1951) и В. Ц. Зантом и Ф. Е. Нельсоном (1953) в безбелковые фракции обезжиренного молока обнаружены три пептида. Азотистые соединения молока служат источником питания микроорганизмов.

Возможность и интенсивность развития молочнокислых бактерий зависят прежде всего от их потребностей в тех или иных источниках питания, наличия нужных веществ в молоке в свободном виде и имеющегося набора ферментов для разложения и усвоения этих веществ. Чем более выражена способность микроорганизмов к протеолизу, тем меньше влияют на микроорганизмы различные колебания в составе молока.

Требования, предъявляемые молочнокислыми бактериями к азотистому составу среды, были впервые исследованы С. Орла-Йенсенем с сотрудниками (1936). Им была установлена потребность молочнокислых бактерий в отдельных аминокислотах и стимуляция их роста при добавлении различных естественных экстрактов (дрожжевого автолизата, печеночного экстракта и пр.). Он отметил, что потребность в дополнительных источниках азотного питания у термобактерий выше, чем у стрептобактерии и стрептококков. В зависимости от потребности в различных источниках азота С. Орла-Йенсен разделил молочнокислые бактерии на три группы:

бактерии, нуждающиеся в сложном комплексе аминокислот и витаминах (род *Thermobacterium*); бактерии, хорошо развивающиеся на цистеине и на аммонийных солях (род *Streptobacterium*); бактерии, которые могут развиваться на аммонийных солях в качестве единственного источника азота (род *Streptococcus*).

Пептоны. Добавление пептонов к молоку и молочной сыворотке усиливает рост многих штаммов молочнокислых стрептококков (*Str. lactis* и *Str. cremoris*) и некоторых палочек (Х. Уолкер, 1957). Пептоны используются молочнокислыми бактериями (Т. Дульман, 1937, 1939), однако на средах, содержащих в качестве единственного источника азота пептон, большинство молочнокислых бактерий, особенно палочек, не дает максимального роста (С. А. Королев, 1932, А. М. Скородумова, 1962).

Пептиды. Установлено, что некоторые пептиды способствуют росту молочнокислых бактерий в значительно большей степени, чем эквивалентные количества аминокислот, входящих в их состав. В то время как структурно-близкие аминокислоты могли оказывать угнетающее воздействие, если количество их в среде не было строго сбалансировано, с пептидами такого явления не наблюдалось (Б. Рпйтер и А. Моллер-Мадсен, 1963). Очищенные пептиды оказывают заметное стимулирующее действие на *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Lbm. casei*.

Витамины. Молочнокислые бактерии проявляют довольно высокую требовательность к наличию ряда витаминов в питательной среде. Многие микроорганизмы, например, дрожжи, уксуснокислые, пропионовокислые бактерии, способны синтезировать витамины. Молочнокислые стрептококки

(*Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis*) испытывают потребность в никотиновой кислоте, ниацине и биотине. Не требуются для этих микроорганизмов тиамин, фолиевая кислота и Bi_2 . Пиридоксаль стимулирует их развитие. Рибофлавин нужен только *Str. cremoris* (Б. Рийтер и А. Моллер-Мадсен, 1963; Ц. Ф. Нивен, 1944). По данным А. Андерсона и П. Р. Элликера (1953), тиамин и фолиевая кислота все же оказывали стимулирующее действие на большинство исследованных ими штаммов стрептококков. Возможно, что такое расхождение в результате объясняется различной сбалансированностью использованных сред. Потребности молочнокислых бактерий в витаминах для роста и образования ароматических веществ различны. Так, по данным С. Анантарамаиаха, Ц. Анантакришнана и К. Йя (1962), *Leuc. citrovorum* хорошо развивались при отсутствии тиамина, но не могли без него образовывать ацетоин. При отсутствии пантотената кальция эти микроорганизмы плохо росли, но хорошо продуцировали ацетоин. Те же результаты были получены с никотиновой кислотой. Это очень важно учитывать при выборе состава среды. С. Орла-Йенсен с сотрудниками (1936а) установил, что молочнокислые бактерии ощущают наибольшую потребность в витаминах группы В. Этот факт подтвержден также М. Непомнящей, М. Тевелевич (1955), Я. Черна, Я. Пиковой, Я. Блаттна (1972) и другими авторами. В натуральном молоке содержатся почти все витамины этой группы. Стимуляцию развития молочнокислых бактерий при добавлении к молоку дрожжевого автолизата либо растительных экстрактов можно объяснить наличием в них витаминов группы В или неизвестных факторов роста. Усиление развития молочнокислых бактерий при совместном культивировании с дрожжами, уксуснокислыми бактериями и другими микроорганизмами в какой-то степени, несомненно, связано со способностью дрожжей и уксуснокислых бактерий к синтезу витаминов.

Для большинства штаммов *Str. thermophilus* требуются рибофлавин, биотин, пантотеновая и никотиновая кислоты. Стимулирующее действие оказывали также тиамин и пиридоксаль (Б. Рийтер и А. Моллер-Мадсен, 1963). М. Е. Шарп (1962) установила, что для развития молочнокислых палочек большое значение имеет концентрация фолевой кислоты в среде. Для развития молочнокислых бактерий в молоке наибольшее значение как источник энергии имеет лактоза. Эти микроорганизмы предварительно расщепляют лактазу на глюкозу и галактозу. Прежде чем галактоза может быть использована организмом, она должна быть превращена в форму глюкозы (В. Е. Сандин и др., 1962). Это превращение осуществляется в результате реакций фосфорилирования, конечным продуктом которых является глюкозо-1-фосфат, подвергающийся в дальнейшем брожению по той же схеме, что и

глюкоза. Молочнокислые бактерии по характеру продуктов брожения делят на гомоферментативные и гетероферментативные. Гомоферментативное молочнокислое брожение характеризуется количественным превращением сбраживаемых углеводов в молочную кислоту, выход которой достигает 98...98,6%.

Гомоферментативные молочнокислые бактерии почти не используют углеводы в конструктивном обмене, который осуществляется в основном за счет использования готовых аминокислот субстрата. Гетероферментативные молочнокислые бактерии обладают ферментами, необходимыми для прямого окисления и декарбонирования промежуточных продуктов брожения. Однако в их ферментной системе нет альдолазы и триозофосфатизомеразы. Поэтому они не могут проводить молочнокислое брожение по гексозодифосфорной схеме и образуют из глюкозы, кроме молочной кислоты, приблизительно в эквимолекулярных количествах этиловый спирт, уксусную кислоту, углекислый газ, а также ряд других побочных продуктов. Считается, что способность молочнокислых бактерий образовывать ферменты, свойственные лишь одному из метаболических путей (гексозомонофосфорному или гексозодифосфорному), служит энзиматической основой для их разделения на гетероферментативные и гомоферментативные (И. И. Климовский, 1966, и др.). Однако, по-видимому, это положение может быть в дальнейшем подвергнуто корректировке. Так, Р. Нандан (1969), изучая метаболизм *Str. diacetylactis*, *Str. cremoris* и *Str. lactis*, установил, что все эти микроорганизмы способны доводить до конца декарбонирование пирувата и других α -кетокислот. На основании этих данных он высказывает сомнение в целесообразности отнесения этих микробов к строго гомоферментативной группе.

Наиболее ценными побочными продуктами молочнокислого брожения являются ацетоин, ацетальдегид и особенно диацетил. Существуют разные мнения об источниках, из которых получают эти вещества. Установлено, что при добавлении к среде лимонной кислоты образование диацетила и ацетоина усиливается.

Основным побочным продуктом брожения термофильных молочнокислых палочек (*Lbm. bulgaricum*) является ацетальдегид (И. В. Петте и Х. Лолкема, 19506, М. Шульц и Г. Хингст, 1954; Ф. Горнер, В. Пало, М. Сегинова, 1972). При этом в первые часы сквашивания йогурта накопление ацетальдегида происходит одновременно с накоплением молочной кислоты. Выдержка продукта после образования сгустка при 45° С приводила к снижению ацетальдегида через 4...5 ч. Хранение продукта после сквашивания

на холоду позволяло поддерживать содержание ацетальдегида в нем на первоначальном уровне в течение.

ТЕМА 10. Микрофлора мяса мясопродуктов

Мясо является очень благоприятной средой для развития многих микроорганизмов. Качество и эпидемиологическая безопасность мяса зависят от многих факторов: здоровья животного и условий его содержания, транспортировки, технологии первичной переработки, а также последующих процессов холодильной обработки и хранения мяса.

У больного животного мясо может инфицироваться прижизненно. Прижизненное обсеменение микробами органов и тканей происходит у животных, больных инфекционными заболеваниями, или при снижении сопротивляемости организма в результате утомления, голодания, травмы и т.п. Обсеменение мяса здоровых животных может происходить в результате нарушения санитарных правил во время убоя, последующей переработки, транспортировки и хранения. Бактериальная обсемененность мяса особенно быстро возрастает при плохом обескровливании туши.

На поверхности мяса обычно содержатся гнилостные, молочнокислые, маслянокислые и другие бактерии, микрококки, плесневые грибы, дрожжи и др. При нарушении условий хранения мясо и мясные продукты быстро подвергаются микробиальной порче, могут развиваться различные пороки: гниение, ослизнение, плесневение, пигментация и др. Мясо и мясные продукты часто становятся причиной микробных пищевых отравлений.

Мясо и мясные продукты, полученные от больных животных и не прошедшие обезвреживания, могут стать причиной заболевания людей сальмонеллезом и зоонозными инфекциями - сибирской язвой, бруцеллезом, ящуром и др.

Свежее парное мясо здоровых животных обсеменено незначительно. В охлажденном мясе число микробов возрастает. При замораживании мяса происходит отмирание микрофлоры поверхностных слоев, но в глубине этот процесс идет замедленно. Известно, что многие микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, сохраняют жизнеспособность в мороженом мясе. При размораживании мяса микроорганизмы начинают интенсивно размножаться.

При изготовлении мясных полуфабрикатов количество микроорганизмов в мясе увеличивается. Степень обсеменения и условия для развития микроорганизмов прямо пропорциональны степени измельченности мяса.

Фарш представляет собой очень благоприятную среду для размножения микроорганизмов. Микрофлора с поверхности, из лимфоузлов, а также из добавляемых компонентов при перемешивании распространяется по всей массе фарша. Обсемененность фарша может быть в десятки-сотни раз выше, чем у исходного продукта. Использование дополнительных ингредиентов (хлеба, сухого молока, яиц или меланжа, панировки и др.) также является источником инфицирования рубленых и других мясных полуфабрикатов.

Мясные субпродукты имеют тот же состав микрофлоры, что и мясо. Однако в эпидемиологическом аспекте опасность субпродуктов значительно выше вследствие их повышенной обсемененности и высокой влажности, создающей очень благоприятные условия для размножения микроорганизмов.

Мясо птицы. Эпидемиологическая роль мяса птиц связана с опасностью сальмонеллеза, туберкулеза, листериоза, орнитоза и других инфекционных заболеваний птицы, передающихся человеку. Наиболее часто встречается обсемененность мяса птиц, особенно водоплавающих, сальмонеллами. При обследовании свежих тушек птицы часто обнаруживаются золотистые стафилококки, кампилобактеры и другие микроорганизмы, способные вызывать пищевые отравления человека. На предприятия общественного питания водоплавающая птица должна поступать полностью потрошенной, куры - в полупотрошенном виде. Обработка птицы производится на специализированной поточной линии.

Колбасные изделия. В производстве колбасных изделий в качестве сырья наряду с мясом могут использоваться субпродукты, мясная обрезь, обезвреженное условно годное мясо и другие опасные компоненты. Наибольшую опасность представляет использование крови и продуктов из нее. Микроорганизмы в колбасный фарш вносятся также со специями, льдом и водой, пищевыми добавками, оболочками и др. Изготовление колбас состоит из ряда операций, значительно повышающих микробную обсемененность фарша и готовых изделий. Многократное измельчение мяса с использованием различных механизмов (волчков, фаршемешалок, куттеров и др.) способствует выходу микробов из лимфоузлов и распространению их по всей массе фарша. Повышение температуры в процессе измельчения способствует размножению микрофлоры. В то же время варка является единственным технологическим процессом, при котором значительно уменьшается количество микроорганизмов. В дальнейшем при хранении в вареных колбасах из-за высокой влажности создаются наиболее благоприятные условия для размножения многих микроорганизмов. Остаточная микрофлора колбас после варки состоит в основном из спорообразующих аэробных и анаэробных бактерий, наиболее опасной из которых является ботулиновая палочка. На

оболочке колбас может развиваться гнилостная и плесневая микрофлора, вызывая порчу колбасных изделий.

Определение мяса животных различных видов

Замена мяса более ценного менее ценным (или даже мясом, употребление которого в пищу не принято) является фальсификацией. Распознавать мясо животных различных видов ветеринарно-санитарному эксперту приходится не очень часто. Однако он должен знать методы отличия мяса животного одного вида от мяса животного другого вида. В практике могут встретиться случаи, когда необходимо различить мясо крупного рогатого скота от мяса лошади или лося, мясо овцы от козы или собаки, кролика от кошки. Мясо животных различных видов определяют по цвету мышечной ткани, конфигурации туш и анатомическому строению костей, физическим и химическим показателям жира, качественной реакции на гликоген и по реакции преципитации.

Цвет мяса и строение мускулов не являются достаточно надежными показателями для определения видового происхождения мяса, так как они изменяются в зависимости от возраста, пола, упитанности животных и других причин. Мясо животных различных видов можно определять по цвету после варки. Так, мясо свиней и телят приобретает белый или светло-серый цвет, мясо крупного рогатого скота, овец и лошадей - темно-серый цвет. При осмотре целых туш видовую принадлежность мяса можно устанавливать по форме туши или ее части. Так, например, у лошади шея длинная, узкая, на верхней ее части встречаются отложения жира; у крупного рогатого скота шея короткая, толстая и широкая, в верхней трети шеи отложений жира нет. У лошади круп выпуклый, у крупного рогатого скота - впавший. У собаки шея толстая, у овцы — тонкая и длинная. Баранину от козлятины отличают по следующим признакам. У туш овец задняя часть массивная и широкая, грудная клетка округлая, холка почти не выступает над линией спины, шея круглая. У козых туш задняя часть узкая, грудная клетка менее округлая, холка над линией спины заметно выступает, шея овально-сжатая.

Задание. Освоить методику определения видовой принадлежности мяса по особенностям строения костей, качественной реакции на гликоген и реакции преципитации.

План работы: 1) установить название костей в полученном комплекте и описать их внешний вид. "Определить вид животного по анатомическому строению костей;

2) описать внешний вид мяса, цвет, количество соединительнотканых образований, соотношение в мясе мышечной и соединительной тканей;

внешний вид мяса на поперечном разрезе (зернистость), цвет и консистенцию жировой ткани;

- 3) поставить качественную реакцию на гликоген;
- 4) поставить реакцию преципитации;
- 5) дать заключение о видовой принадлежности мяса.

Оборудование и реактивы: комплекты костей животных различных видов; куски мяса животных разных видов от 200 до 400 г -2; пинцет, скальпель и ножницы; кастрюля для варки мяса; электроплитка; весы теххимические (или аптечные) с разновесками; фильтры - 5; кусочки пергаментной бумаги - 5; пробирки химические - 4; пробирки для постановки реакции преципитации - 18; цилиндры - 2; воронки - 4; колбы конические - 4; пипетки пастеровские - 4...6; пипетки мерные на 1 мл - 2; пипетки мерные на 10 мл - 2; стекла часовые - 2; раствор Люголя - 10 мл; кислота азотная концентрированная - 10 мл; сыворотки, преципитирующие белок различных животных; сыворотки нормальные; физиологический раствор - 50 мл; дистиллированная вода - 150мл.

Качественная реакция на гликоген

Сущность этой реакции состоит в том, что сложные полисахариды являются индикаторами на йод и в присутствии его дают цветную реакцию (гликоген окрашивается в красный цвет, крахмал - в синий). В мясе количество гликогена к концу первых суток хранения уменьшается в 2...3 раза по сравнению с наличием его в первый час после убоя животного. В парном мясе крупного рогатого скота гликогена содержится 0,6...0,7%, в созревшем - 0,2...0,3 %; примерно такое же количество гликогена в мясе овец и свиней. В парном конском мясе гликогена более 2%, в созревшем - около 1%; в парном мясе собаки - 4%, в парном мясе кошки - 1%. Качественная реакция обнаруживает гликоген (по общепринятой постановке реакции) при наличии его в мясе около 1%. Поэтому этой реакцией ветсанэксперты могут пользоваться для отличия говядины от конины и баранины от мяса собаки.

Ход определения. Навеску мяса (15 г) измельчают ножницами на 40...60 кусочков и переносят в колбу, куда приливают 60 мл дистиллированной воды. (Пробу мяса можно взять больше или меньше указанного веса, но отношение мяса к воде должно быть 1 : 4.) Содержимое колбы кипятят 30 минут, считая с момента закипания. Бульон пропускают через бумажный фильтр и охлаждают. Затем в пробирку наливают 3...5 мл фильтрата и добавляют 5...10 капель люголевского раствора (2 части йода, 4 части йодистого калия и 100 частей воды). При положительной реакции бульон окрашивается в вишнево-красный цвет, при отрицательной - в желтый, при сомнительной - в оранжевый. Мясо собаки, лошади, верблюда, медведя и кошки в большинстве

случаев дает положительную реакцию на гликоген (экстракт из мяса кошки может окрашиваться также в оранжевый цвет). Мясо овцы, козы, крупного рогатого скота, кролика и свиньи на гликоген дает отрицательную реакцию. Показания этой реакции абсолютного значения для распознавания мяса животных различных видов не имеют. Так, например, мясо молодых животных всех видов дает положительную реакцию на гликоген, мясо же старых и больных животных, а также взятое из области головы и шеи, как правило, дает на гликоген отрицательную реакцию.

ТЕМА 11. Микрофлора яиц и яйцепродуктов

Не все составные части яйца имеют одинаковую устойчивость к микробам. Наиболее резистентны к разложению и заражению микробами плотный белок, что объясняется содержанием в нем лизоцима. Его больше в яичном белке кур (5,71 мг/мл) и значительно меньше в таком же белке водоплавающей птицы: уток (1,80 мг/мл), гусей (0,38 мг/мл). Содержимое свежеснесенного яйца, полученного от здоровой птицы, имеющей нормальное физиологическое состояние, стерильно, т. е. не содержит микроорганизмов. Стерильность яйца объясняется тем, что в яйцеводах здоровых птиц активно протекает фагоцитарная реакция, происходят перистальтические сокращения, которые механически удаляют микробы, и осуществляется бактерицидное действие белковины, содержащей антибиотическое вещество - лизоцим.

Яйца обсеменяются микробами эндогенным и экзогенным путем. *Эндогенное обсеменение.* Заражение содержимого яйца происходит в процессе его формирования в яичнике и яйцеводе больных птиц или бактерионосителей при сальмонеллезе, туберкулезе, орнитозе, Ку-лихорадке, пастереллезе, инфекционном бронхите, микоплазмозе, лейкозе и ряде других инфекционных болезней. Яйца, полученные от птицы, больной инфекционной болезнью, часто содержат возбудителя болезни. Возбудители многих инфекционных болезней птицы передаются трансвариальным путем, т. е. через яйцо. Нередко птицы являются скрытыми носителями возбудителей инфекционных болезней и также могут нести яйца, содержащие эти патогенные микроорганизмы. Количество инфицированных (зараженных) яиц, получаемых от птиц-бактерионосителей, сильно колеблется и составляет 10...95 %. Наибольшее число зараженных яиц наблюдается в период усиленной яйцекладки, что связано с ослаблением организма птицы и повышением вирулентности возбудителя.

Возникновение пищевых токсикоинфекций у людей часто связано с потреблением яиц и яичных продуктов, инфицированных сальмонеллами.

Эндогенное заражение яиц вирусами наблюдается также при иммунизации птицы живыми вирус-вакцинами, используемыми в промышленном птицеводстве. В связи с этим вакцинацию необходимо заканчивать до начала сбора пищевых яиц, т. е. перед комплектованием птичников. Кроме того, эндогенное обсеменение яиц микроорганизмами возможно при наличии у птицы авитаминоза А и при заболеваниях яичников и яйцеводов различной этиологии. При этом в яйцах кроме возбудителя болезни часто содержатся золотистые стафилококки, синегнойная палочка, флуоресцирующие бактерии, бактерии рода протеус, бактерии группы кишечных палочек и другие микроорганизмы.

Экзогенное обсеменение. Заражение яиц происходит во время сбора, хранения и транспортирования, в результате проникновения через поры скорлупы и подскорлупные оболочки сапрофитных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов (сальмонелл и др.). Экзогенному обсеменению яиц микробами способствует загрязнение скорлупы фекалиями птиц (пометом), землей, пером, подстилкой, грязной тарой, грязными руками и т. д. В зависимости от загрязненности скорлупы количество микроорганизмов на ней варьирует в больших пределах. На 1 см поверхности скорлупы чистых яиц обычно находятся десятки, сотни, очень редко тысячи микробных клеток, а на загрязненных яйцах - десятки тысяч и даже миллионы микробных клеток. Степень загрязнения скорлупы микроорганизмами в значительной степени зависит от условий содержания и кормления птицы. На скорость проникновения микробов в яйцо оказывают влияние температура, влажность воздуха, степень свежести яиц, инактивация лизоцима, наличие органов передвижения у микробов и т. д. Наиболее часто загрязнение скорлупы патогенными и условно-патогенными микроорганизмами происходит при напольной системе содержания птицы в птичниках с плохо оборудованными гнездами, с подстилкой неудовлетворительного качества и нарушением микроклимата. При напольном содержании птицы получают до 20...25 % яиц с загрязненной скорлупой.

При содержании птицы в одноярусной автоматизированной батарее с высоким уровнем механизации создаются хорошие санитарно-гигиенические условия, что обеспечивает наиболее высокий выход яиц с чистой поверхностью скорлупы (до 96 %). Попавшие на скорлупу микроорганизмы могут проникать в содержимое яйца. Проникновению микробов в яйцо способствуют повышенная влажность воздуха (так как влажная скорлупа наиболее проницаема для микроорганизмов) и колебания температуры. По данным И. С. Загаевского, при температуре 20°C и относительной влажности воздуха 80...85% бактерии *Pseudomonas* и *Proteus* проникают с поверхности

скорлупы внутрь яйца на 2...5-е сутки, *Salm. typhimurium* - на 8...11-е, *E. coli* - на 13...15-е, *Aspergillus* - на 5...9-е сутки. В этом случае наружный воздух всасывается в яйцо через поры скорлупы, с ним вовнутрь попадают микробы. Скорость проникновения мезофильных микробов при температуре ниже 15°C и влажности 60...65% замедляется до 11 недель, а ниже 10°C почти прекращается. Психрофильные микробы из группы *Pseudomonas* и плесневые грибы проходят через поры скорлупы и при нуле граду-сов. Вначале колонии образуются на подскорлупной оболочке, а затем на белке.

Гниение яиц - процесс разложения яичного белка протеолитическими ферментами микробов. По данным А. А. Романова и А. И. Романовой, в зависимости от микроба различают следующие виды гниения яиц.

Зеленая гниль появляется в результате проникновения в яйцо микробов рода *Pseudomonas* (*Ps. fluorescens* и др.). Они образуют зеленый пигмент, который придает соответствующую окраску содержимому яйца.

Красная или розовая гниль вызывается не только представителями рода *Pseudomonas*, но и *Micrococcus roseus*, *Serratia marcescens*, а также другими микробами. Такие бактерии в результате образования пигмента придают красное или розовое окрашивание продуктам распада.

Черная гниль появляется при размножении *Proteus vulgaris* и некоторых представителей рода *Pseudomonas*. Содержимое яйца разжижается и принимает коричневый или черный оттенок. Образовавшиеся газы часто разрывают скорлупу, а содержимое выливается на соседние яйца и загрязняет их.

Смешанная гниль вызывается *E. coli*, *Staphylococcus aureus* и другими микробами. При этом изменяется не только консистенция белка, но и его окраска. Чаще всего он становится серым и издает гнилостный запах.

Плесневение яиц. Из почвы и с загрязненных предметов на поверхность скорлупы попадают плесневые грибы и актиномицеты. При низких плюсовых температурах и повышенной влажности споры грибов прорастают и проникают в поры скорлупы, а затем на подскорлуповые оболочки. Наиболее благоприятные условия они находят вблизи воздушной камеры. При овоскопии пораженных яиц видны темные пятна колонии грибов. В последующем гифы грибов пронизывают белок, образуя разветвленную сеть и под действием ферментов разжижают его. Среди грибов чаще обнаруживаются плесневые рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и реже другие. В местах развития плесневых грибов гнилостная микрофлора обычно отсутствует. Яйца здоровой птицы, как уже отмечалось ранее, не содержат микроорганизмов. Стерильность яиц при соответствующих условиях хранения может сохраняться продолжительное время, несмотря на наличие

пор в скорлупе. Это объясняется тем, что яйцо представляет собой живую зародышевую клетку, обладающую естественным иммунитетом. Защита яйца от проникновения и размножения в нем микробов обеспечивается скорлупой, подскорлупными оболочками и бактерицидными свойствами белка. На поверхности скорлупы при снесении яйца откладывается слой слизи, который, подсыхая, образует надскорлупную пленку - кутикулу. В состав кутикулы входит лизоцим, обладающий бактерицидным действием. Кутикула легко повреждается, поэтому яйца, предназначенные для хранения, не рекомендуется мыть. В составе подскорлупных оболочек также имеется лизоцим. Белок яйца обладает наиболее сильным бактерицидным действием, он способен убивать многие микроорганизмы, особенно грамположительные палочки, плесневые грибы и дрожжи. Бактерицидная способность белка обусловлена наличием в нем антибиотических веществ: лизоцима, авидина, овокональбумина, овомукоида, овомуцина и диоксида углерода, которые убивают или подавляют рост микроорганизмов. Кроме того, размножение микробов в белке подавляется его высоким рН (9,2) и устойчивостью протеинов белка к воздействию протеолитических ферментов микроорганизмов. Более сильным антимикробным действием обладает внутренний слой белка, прилегающий к желтку. Скорлупа, подскорлупные оболочки и яичный белок свежеснесенных яиц обладают наиболее выраженными антимикробными свойствами. При хранении постепенно изменяются физико-химические свойства содержимого яйца (оно высыхает, повышается рН белка); ослабляется антимикробное действие белка, скорлупы и подскорлупных оболочек, так как инактивируются лизоцим и другие бактерицидные вещества; поры скорлупы становятся более проницаемыми. Все это создает благоприятные условия для проникновения и размножения в яйце микроорганизмов. Для того чтобы замедлить естественные биохимические изменения в яйце и сохранить защитные свойства скорлупы, оболочек и яичного белка, необходимо хранить яйца в прохладных сухих помещениях при температуре от - 2 до 0 °С и относительной влажности воздуха не выше 85 %. В условиях повышенных температур и высокой влажности инактивация бактерицидных веществ яйца ускоряется. Например, если хранить яйца при высокой влажности и температуре 16...18 °С и выше, уже через 5...6 дней в них проникают подвижные мезофильные бактерии, тогда как при температуре ниже 15 °С и невысокой влажности воздуха (60...65 %) проникновение и развитие в яйце мезофильных микробов сильно замедляется.

При снижении бактерицидной активности скорлупы и подскорлупных оболочек микроорганизмы, находящиеся на поверхности яйца, проникают

через скорлупу и подскорлупные оболочки в содержимое яйца. Бактерии, проникнув через поры скорлупы, размножаются на наружной подскорлупной оболочке в месте внедрения, образуя мелкие колонии. Под действием протеолитических ферментов бактерий подскорлупные оболочки растворяются, бактерии проникают в содержимое яйца и активно растут и размножаются в желтке яйца. Споры плесневых грибов и актиномицетов вследствие большого размера не могут проникнуть через поры скорлупы, поэтому прорастают на ее поверхности, образуя мелкие колонии, после чего нити мицелия проникают в пору, механически раздвигая клетки подскорлупных оболочек. Увлажнение скорлупы ускоряет прорастание спор. После этого плесени и актиномицеты размножаются, образуя мелкие колонии на подскорлупных оболочках, оболочке воздушной камеры и наружной поверхности белка. Затем мицелий проникает внутрь белка, где образуются крупные колонии. При размножении в яйце гнилостных бактерий, плесневых грибов, актиномицетов и других микроорганизмов под действием выделяемых ими ферментов разлагаются составные части яйца (белок, желток) с образованием специфических продуктов распада протеинов, жиров, углеводов, лецитина, т. е. наступает его порча.

В зависимости от того, в какой составной части яйца (белке или желтке) размножаются микроорганизмы, их биохимической активности и других физиологических особенностей изменения содержимого яйца разнообразны. Так, при размножении аэробных гнилостных бактерий рода псевдомонас и золотистого стафилококка белок становится серым, мутным и разжиженным, в дальнейшем белок и желток приобретают зеленоватый оттенок, переходящий в темно-зеленый цвет (зеленая гниль). В результате размножения аэробных гнилостных бацилл желток приобретает светло-желтый цвет. Вследствие разрушения желточной оболочки белок перемешивается с желтком и образуется однородная мутная жидкая масса. При овоскопии такое яйцо не просвечивается. Размножение в яйце чудесной палочки, розового микрококка, а также некоторых дрожжей и плесневых грибов, образующих красный пигмент, вызывает окрашивание его содержимого в розовый или красный цвет. При овоскопии заметен красный оттенок в желтке и покраснение белка, который может быть разжиженным или вязким (красная или розовая гниль). В том случае, когда в яйце размножаются кишечная палочка, палочка протей, некоторые бактерии рода псевдомонас и другие гнилостные микробы, содержимое становится черным и мутным и не просвечивается при овоскопии. Желток мутный, свободно плавает в жидком белке, который может быть зернистым и вязким, с зеленым или коричневым оттенком. Из-за образования большого количества газов возрастает давление

внутри яйца, поэтому скорлупа разрывается, и содержимое яйца издает фекальный запах (черная гниль).

Порчу яиц, вызываемую гнилостными бактериями, при которой они не просвечиваются при овоскопии, называют «тумак бактериальный».

Кроме гнилостных бактерий в яйцах часто размножаются плесневые грибы и актиномицеты. При размножении плесеней на подскорлупных оболочках, где они образуют колонии в виде окрашенных пятен, в зависимости от размеров колоний различают порок «малое или большое пятно». Когда подскорлупные оболочки сплошь покрыты колониями плесневых грибов, белок и желток смешаны, яйцо не просвечивается при овоскопии, порок называют «тумак плесневелый».

Яйца с признаками порчи «тумак бактериальный» и «тумак плесневелый» для пищевых целей непригодны. При пороке «малое или большое пятно» яйца используют после лабораторно-го исследования по указанию органов санитарного надзора.

Через яйцо передаются инфекции, общие для человека и птицы. Яйца птицы, особенно водоплавающей, часто служат источником заражения туберкулезом и салмонеллезом. Наибольшую опасность среди салмонелл представляет *Salm. typhimurium*, которой бывают заражены не только утиные, но и куриные яйца. Считавшиеся ранее безопасными *Salm. pullorum* и *S. gallinarum*, по данным зарубежных авторов (P. Edwards, 1958; G. Dack, 1957, и др., привожу по И. С. Загаевскому), иногда вызывают пищевые отравления. Заражение яиц происходит эндогенным и экзогенным путем. Находящиеся в яйцах салмонеллы беспрепятственно размножаются, так как лизоцим на них не действует. Наиболее благоприятная часть яйца для развития салмонелл - желток. Кроме салмонелл, через поры скорлупы в яйцо проникают холерный вибрион и другие микробы.

Туберкулезные бактерии были выделены из яиц не только явно больной, но и реагирующей на туберкулин птицы. Для полного уничтожения возбудителей туберкулеза и салмонеллеза, а также других инфекций куриные и утиные яйца рекомендуется выдерживать в кипящей воде 13 мин, а гусиные -14 мин. Яйцо водоплавающей птицы, а также кур из хозяйств, неблагополучных по туберкулезу и другим инфекциям, разрешается употреблять только в производстве кондитерских изделий. Реализация таких яиц через торговую сеть и предприятия общественного питания запрещена!

Для сохранения качества из яиц вырабатывают мороженые и сухие яйцепродукты.

Мороженые яйцепродукты. К мороженым яйцепродуктам относят яичный меланж - смесь белка и желтка в естественном соотношении, а также мороженный белок и мороженный желток отдельно. В процессе приготовления мороженые яйцепродукты обсеменяются микроорганизмами из различных источников. Поэтому в готовом виде они могут иногда содержать значительное количество микроорганизмов в 1 г. Наиболее часто в яичном меланже встречаются микрококки, сарцины, стафилококки, аэробные бациллы, бактерии рода псевдомонас, плесневые грибы, палочка протей, кишечная палочка. Иногда в готовых замороженных яйцепродуктах обнаруживают сальмонелл и других патогенных бактерий.

Яичную массу замораживают при температуре не выше - 18...20 °С. В процессе замораживания часть микроорганизмов отмирает. Последующее хранение при температуре не выше - 8...9 °С приводит к дальнейшему постепенному уменьшению количества жизнеспособных микробных клеток. Так, через 12 дней микробная обсемененность снижается примерно до 45 %, через 30 дней - до 38 и через 60 и 90 дней - соответственно до 13 и 10 % от исходного количества микроорганизмов. Однако полной гибели всех микроорганизмов в мороженных яйцепродуктах не происходит. При размораживании меланж можно хранить в охлажденном состоянии при температуре не выше 4...5 °С не более нескольких часов. Он является хорошей питательной средой, и оставшиеся в живых микроорганизмы начинают активно размножаться и могут вызвать его порчу.

Сухие яйцепродукты. Для длительного хранения яичную массу высушивают в распыленном состоянии в дисковых сушилках при температуре, не превышающей 60 °С, или методом сублимационной сушки. Сухие яйцепродукты вырабатывают из свежих цельных яиц (смеси белка и желтка), а также отдельно из белка и желтка. Кроме того, для сушки используют готовые мороженые яйцепродукты. Яичную массу для высушивания готовят в меланжевом цехе. В процессе приготовления она обсеменяется микроорганизмами из тех же источников, что и при выработке мороженых яйцепродуктов: содержимое яиц, их скорлупа, оборудование, тара и др., Следовательно, степень микробной обсемененности используемых яиц и их санитарная обработка, санитарно-гигиенические условия производства существенно влияют на обсемененность микроорганизмами сухих яйцепродуктов. В процессе сушки сохраняют жизнеспособность споры и часть вегетативных форм бактерий. Поэтому микробная обсемененность готовых высушенных яйцепродуктов остается достаточно

высокой. В составе остаточной микрофлоры высушенных яйцепродуктов постоянно присутствуют аэробные бациллы, анаэробные клостридии, микрококки, стафилококки. Часто обнаруживают бактерий группы кишечных палочек, бактерий рода протеус, иногда присутствуют сальмонеллы. В процессе хранения микроорганизмы, сохранившие жизнеспособность при сушке, не развиваются и постепенно отмирают, так как из-за малой влажности (4...8 %) яичного порошка создаются условия, неблагоприятные для их развития. Степень отмирания микробов в сухих яйцепродуктах зависит от температуры хранения. Так, при комнатной температуре (18...20 °С) отмирает больше микроорганизмов, чем при температуре 1...2 °С. Наиболее интенсивное отмирание микробов происходит только в первые 2...3 мес. хранения сухих яйцепродуктов. Однако полной гибели всех вегетативных форм бактерий, в том числе стафилококков, сальмонелл и бактерий группы кишечных палочек, не наблюдается даже после 2...3 лет хранения сухих яйцепродуктов. При хранении сухих яйцепродуктов в условиях повышенной влажности они увлажняются, и микроорганизмы могут начать в них размножаться.

Для предупреждения обсеменения яиц микроорганизмами с загрязненной скорлупой необходимо строго выполнять правила их сбора, хранения и предусмотренные технологией санитарно-гигиенические требования: брать яйца чистыми руками за тупой и острый концы большим и указательным пальцами, целые чистые яйца укладывать отдельно от загрязненных и надтреснутых, собирать яйца в специальную чистую тару и др.

Для удаления микроорганизмов с загрязненной поверхности скорлупы небольших партий яиц применяют моющие и дезинфицирующие препараты, а при массовой обработке яиц их дезинфицируют парами формальдегида, йода, хлора.

Яйца, инфицированные патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, обычно обезвреживают тепловой обработкой. Из хозяйств, неблагополучных по сальмонеллезу, туберкулезу, орнитозу и другим инфекционным болезням, яйца разрешают продавать после их тщательной проварки при 100 °С. Особую опасность представляют яйца водоплавающей птицы, которые часто бывают заражены сальмонеллами. В связи с этим продавать утиные и гусиные яйца в магазинах, на рынках, а также реализовывать их в сыром виде через сеть общественного питания запрещено.

ТЕМА 12. Основы промышленной санитарии на предприятиях молочной промышленности

Понятие о санитарии и гигиене

Санитарно-эпидемическое качество молочных продуктов обуславливается наличием в них патогенных и других микроорганизмов. В связи с этим на предприятиях молочной промышленности необходимо неукоснительно соблюдать санитарно-гигиенические правила, направленные на создание должного санитарного режима производства продукции гарантированного качества.

Для обеспечения выпуска высококачественной, безвредной в эпидемическом отношении продукции на молокоперерабатывающих предприятиях организуется санитарно-микробиологический контроль, на основании данных которого дается оценка санитарно-гигиенического состояния производства и готовой продукции.

При проведении микробиологического контроля основным определяемым показателем является наличие санитарно-показательных микроорганизмов.

Гигиена – наука, изучающая влияние внешней среды на здоровье человека. Она неразрывно связана с санитарией.

Санитария – наука о профилактике инфекционных и инвазионных болезней людей, о получении продуктов, сырья и кормов животного происхождения высокого санитарного качества. Разделами промышленной санитарии являются дезинфекция, дезинсекция, дератизация и дезодорация.

Дезинфекция – наука, изучающая способы и средства уничтожения патогенных микроорганизмов. Наряду с дезинфекцией используют мероприятия, направленные на уничтожение микроорганизмов: обезвреживание объектов внешней среды, стерилизацию и пастеризацию.

При обеззараживании объектов внешней среды происходит уничтожение не только патогенных микроорганизмов, но и выделенных ими продуктов жизнедеятельности – токсинов с одновременной ликвидацией агрессивных и опасных для жизни человека и животных химических веществ. Химические вещества, применяемые для уничтожения микроорганизмов, называют дезинфицирующими или асептическими.

Под антисептикой понимают уничтожение при помощи физических или химических средств микроорганизмов, попавших в продукт или на оборудование.

Асептика – это мероприятия, направленные на предупреждение попадания микроорганизмов в продукты из окружающей среды. Молоко,

получаемое в условиях, когда в него не попадают микробы извне, называется асептическим.

Дезинсекция – методы и средства борьбы с членистоногими.

Дератизация – методы и средства борьбы с грызунами.

Дезодорация – это устранение неприятных запахов. Для дезодорации производственных цехов применяют приточно-вытяжную вентиляцию, а для дезодорации объектов – растворы перманганата калия, хлорамина и осветленные растворы хлорной извести с содержанием активного хлора 0,1-0,2%. Режимы дезодорации изложены в специальных рекомендациях.

Виды стерилизации, применяемые в микробиологической лаборатории.

Стерилизация – один из важных и необходимых приемов в микробиологической практике. Стерилизация – это обеспложивание, т.е. уничтожение всех живых микроорганизмов. В микробиологической практике стерилизуют питательные среды, посуду, инструменты и другие необходимые материалы, чтобы не допустить развития посторонней микрофлоры. Важное значение имеет стерилизации в бактериологической практике. Полное обеспложивание питательных сред, бактериологической посуды – необходимое условие для получения чистых культур микроорганизмов.

Стерилизацию проводят различными методами.

Термические

Холодные

Влажная стерилизация

Сухая стерилизация

1. Фильтрование через бактериологические фильтры

2. Кипячение

3. Флабирование

4. Ионизирующие лучи

5. Паром под давлением (автоклавирование)

Термические методы стерилизации

Стерилизация кипячением

Стерилизовать можно металлические инструменты, шприцы, иглы в течение 30-40 минут. Кипячение убивает вегетативные формы бактерий и споры некоторых бацилл.

Стерилизация паром под давлением (автоклавирование).

Самый эффективный метод стерилизации, так как с его помощью быстро достигается полное и надежное обеспложивание, ведущее к гибели не только вегетативных, но и споровых форм наиболее устойчивых бацилл. Губительное действие высокой температуры обуславливается повреждением коллоидного

состояния плазмы, денатурацией белка с последующей коагуляцией его, а также нарушением ферментных систем микроорганизмов. Этот способ стерилизации основан на том, что образующийся при кипячении воды пар не выходит наружу, а скапливается в замкнутом пространстве, повышает давление. Горячий водяной пар быстро проникает в живые клетки микробов и вызывает их гибель. Действие горячего пара будет эффективнее при увеличении давления, так как при этом повышается температура пара.

Стерилизация насыщенным паром под давлением проводится в автоклавах.

Тиндализация

Это дробная стерилизация при низкой температуре, предназначена для объектов, не переносящих температуру 1000С (среды с кровяной сывороткой, яичным белком). Их подвергают нагреванию в течение 5-6 дней подряд при температуре 56-580С по 1 часу ежедневно (в первый день – в течение 2 часов).

В промежутках между прогреванием стерилизуемая жидкость храниться в термостате при этом оставшиеся в живых споры прорастают в вегетативные клетки, которые погибают при последующем нагревании. Тиндализацию проводят в специальных приборах с терморегулятором или на водяных банях.

Стерилизация текучим паром в аппарате Коха

Текучим паром стерилизуют питательные среды, содержащие вещества, разрушающиеся при стерилизации в автоклаве при температуре 1210С (желатин, молоко, углеводные среды).

Стерилизацию текучим паром проводят в течение 3 дней подряд по 30-60 минут ежедневно. В промежутках стерилизуемый объект выдерживают при комнатной температуре.

В основу метода дробной стерилизации положен следующий принцип: при нагревании до 1000С в течение 30-60 минут погибают все вегетативные формы микроорганизмов, но споры остаются и в промежутке между стерилизацией прорастают и в вегетативную форму. Через сутки снова стерилизуют. Обычно после третьей стерилизации достигается полное обеспложивание объекта.

Стерилизацию текучим паром проводят в аппарате Коха или в автоклаве. Крышку автоклава не привинчивают, кран пароотводной трубки оставляют открытым и пар свободно вытекает наружу.

Фламбирование (прокаливание)

Прокаливать можно непосредственно перед употреблением бактериологические петли, иглы, шпатели, мелкие металлические предметы (ножницы, пинцеты и т.д.), предметные стекла, стеклянные палочки и прочее.

Стерилизация сухим жаром

Стерилизацию сухим жаром (сухим нагретым воздухом) проводят в особых аппаратах – печах Пастера или сушильных шкафах. Стерилизуют сухим жаром стеклянную посуду, пипетки, чашки Петри. Посуду перед стерилизацией высушивают и заворачивают в бумагу, пробирки и колбы закрывают ватными пробками. Это делается для того, чтобы после стерилизации они не обсеменялись микробами из воздуха. Режим стерилизации сухим жаром при температуре + 1500С – в течение 2 часов; при температуре 160-1700С – 1-1,5 часа. При температуре 160-1700С бумага желтеет, что является показателем правильной стерилизации.

По окончании стерилизации печь открывают только после того, как она остынет, иначе в следствие резкого перепада температуры стеклянная посуда может лопнуть.

Методы холодной стерилизации

Стерилизация фильтрованием

Применяется для стерилизации жидкостей в тех случаях, когда их нельзя подвергнуть нагреванию (сыворотка крови, кровь, ряд лекарственных веществ). Проводится путем фильтрации жидкости через специальные фильтрованные приборы. Фильтровальные приборы имеют настолько мелкие поры, что на своей поверхности задерживают все механические, взвешенные в жидкости частицы, в том числе и микроорганизмы. Для фильтрования в микробиологической практике применяют следующие приборы.

Фильтр Зейтца. Для стерилизации используются асбестовые пластинки. Их выпускают 2-х степеней пористости: фильтрующие (Ф) и стерилизующие (СФ). В лабораториях для стерилизации применяют асбестовые пластинки СФ. Для монтирования пластинок применяют следующие аппараты, состоящие из 2-х металлических частей – цилиндрического стаканчика без дна и нижней воронкообразной части с сеткой. Одна поверхность пластинки гладкая, другая – шероховатая. Фильтр закладывается гладкой поверхностью в сторону сетки и прибор стерилизуется в автоклаве при 0,1 МПа в течение 20-30 минут.

Бактериальные фильтры-свечи Шамберлана – цилиндрические полые сосуды, изготовленные из мелкопористых веществ (каолина с примесью кварцевого песка). Имеют обозначения: L, L1, L1 (bis), L3, L5 (F), L7 (B), L9, L11, L13.

Свечи Мандлера. Они состоят из массы, содержащей от 60% до 80% инфузорной земли, 10-30% асбеста и 10-15% гипса. Имеют размерности: «Р», «R», «F».

Свечи Беркефильда (с металлической головкой). Они изготовлены из инфузорной земли (кремнекислоты). Свечи по пористости имеют размерности

W, N, V. Свечи всех типов после проверки целостности стерилизуют в автоклаве.

Ионизирующие излучения

Коротковолновые излучения, обладающие энергией, способны выбить электрон из атома, называются ионизирующими. Ионизирующие лучи в больших дозах (1000Дж/кг) вызывают гибель в 90-97% случаях гибель бактерий, а дозы 7-10 тыс. Дж/кг приводит к полному отмиранию бактерий.

Стерилизация с помощью ультразвуковых волн.

Ультразвук – это механическое колебание с частотой выше 20000 колебаний в секунду. Ультразвуки способны распространяться в твердой, жидкой и газообразной средах. Под влиянием определенной интенсивности ультразвука инактивируются ферменты, токсины, вирусы. Бактериальная клетка погибает под влиянием ультразвука с разрывом оболочки. Ультразвук применяется для стерилизации молока, воды и различных продуктов.

Инфракрасные лучи

Это излучение нагревает стерилизуемый объект очень быстро и по всей толщине, в отличие от нагревания паром, когда нагревание идет с поверхности внутрь. Скорость отмирания микробов зависит от температуры нагревания. Тепло, получаемое от инфракрасных лучей, может использоваться для обезвоживания, варки, копчения, вытапливания жира, размораживания, бланширование.

Ультрафиолетовые лучи

Применяется для стерилизации воздуха в холодильниках и цехах предприятий, используют для стерилизации напитков и воды, рассолов, поверхностей сыра, для облучения молока с целью обогащения его витаминами группы «Д».

Химические методы стерилизации

Химические методы стерилизации (консервирование) имеет ограниченное применение в микробиологической лаборатории. В лабораторной практике консервируют питательные среды хлороформом, толуолом, иногда эфиром. Для освобождения от консерванта питательные среды нагревают на водяной бане при температуре 560С.

Вакцины и лечебные сыворотки консервируют 0,25-0,5% раствором фенола, 0,5% растворами хлороформа и формалина, раствором мертиолата в конечном разведении 1:5000-1:10000. для консервирования диагностических (агглютинирующих) сывороток используют борную кислоту, толуол, глицерин.

Производственная санитария

Производственная санитария – это комплекс санитарно-гигиенических мероприятий по очистке и дезинфекции на всех этапах производства, включая технологические процессы изготовления и хранения продуктов питания, а также соблюдению личной гигиены персонала.

К таким мероприятиям относятся:

- *Мойка и дезинфекция внешних поверхностей* технологического оборудования, емкостей, резервуаров, танков трубопроводов, коммуникаций.
- *Мойка и дезинфекция внутренних поверхностей* различного технологического оборудования, комплексных технологических линий без их разборки (СП-мойка), ёмкостей, танков, резервуаров, сборников, трубопроводов.
- *Мойка и дезинфекция тары, ёмкостей, резервуаров для хранения* и транспортировки продуктов, транспортных средств.
- *Мойка и дезинфекция инвентаря, посуды, инструментов, разделочного и упаковочного оборудования.*
- *Уборка и дезинфекция производственных площадей* (полов, стен, потолков), складских помещений и холодильников.
- *Очистка и дезинфекция сантехнического оборудования, душевых, качественная уборка административных помещений.*
- *Мойка и дезинфекция рук персонала, содержание в чистоте спецодежды.*

Производственная санитария является неотъемлемой частью технологического процесса изготовления продуктов питания.

В современных рыночных условиях залогом успешного продвижения продуктов питания является их качество, высокие вкусовые свойства и физиологическая безопасность для потребителя. Выпуск высококачественной пищевой продукции зависит от многих факторов – качества сырья, технологии переработки и в значительной степени от санитарно-гигиенического состояния технологического оборудования и производственных площадей, т.е. от соблюдения чистоты на предприятиях, от культуры производства.

Важнейшими характеристиками продуктов питания являются их безопасность и микробиологическая стойкость.

Под безопасностью понимают отсутствие вредных примесей химической и биологической природы, в том числе патогенных микроорганизмов и ядовитых продуктов их жизнедеятельности.

Понятие «микробиологическая стойкость» подразумевает потенциальные возможности сохранения продукта без порчи.

Источников возможного инфицирования пищевых продуктов в процессе производства немало. Ими могут быть сырье, технологическое оборудование, инструменты, тара, упаковочные материалы, вода и воздух, полы и стены производственных помещений, обслуживающий персонал и т.п.

Особенно высокие санитарные требования предъявляются к поверхностям, имеющим непосредственный контакт с продуктами питания в процессе производства. Это внутренние поверхности технологического оборудования, различных емкостей, трубопроводов, тара, упаковка, инструменты, инвентарь, разделочные столы и доски, холодильное оборудование, транспортные средства. Так же очень важно соблюдать условия хранения, транспортирования и реализации готовых продуктов, исключающие повторное обсеменение микроорганизмами.

В процессе изготовления на поверхностях технологического оборудования неизбежно остаётся продукт. Остатки продукта и различные производственные загрязнения являются благоприятной питательной средой для развития многообразной микрофлоры в т.ч. патогенной (бактерий, плесени, спор, грибов, дрожжей). Заражение продуктов питания микроорганизмами в процессе производства и хранения приводит к их порче. Под воздействием жизнедеятельности микроорганизмов, происходит распад белков, разложение углеводов, окисление жиров, накопление токсичных веществ химической и микробиологической природы, т.е. происходит ухудшение биологической ценности продуктов питания.

В случае плесневения продуктов, возможно образование биологически опасных микотоксинов. В результате, ухудшаются вкусовые и потребительские свойства, сокращаются сроки хранения, создаётся опасность для здоровья потребителей

Одним из важнейших условий повышения качества продуктов питания является соблюдение высоких требований санитарии на всех этапах производства – от подготовки сырья до реализации готовой продукции.

Только комплексный подход к решению вопросов санитарно-гигиенического состояния производства и поддержанию его на должном уровне позволит достигнуть высоких результатов по выпуску качественной продукции. Так же достижение передового уровня производственной санитарии невозможно без применения современных моющих и дезинфицирующих средств.

- ✓ Соблюдение санитарии на всех этапах производства – от подготовки сырья до реализации готовой продукции.
- ✓ Правильная организация процесса мойки (составление плана санитарной мойки).
- ✓ Применение современных моющих и дезинфицирующих средств.
- ✓ Использование передовых способов и методов очистки.
- ✓ Соблюдение строгих гигиенических норм всего персонала.
- ✓ Обучение персонала, повышение профессионального уровня.
- ✓ Постоянный контроль над выполнением программы мойки.

Санитарная мойка и дезинфекция на предприятии

Главная задача санитарной обработки на пищевых предприятиях – это полное, 100%-ное удаление остатков продуктов, различных производственных загрязнений и микроорганизмов с поверхностей

технологического оборудования, тары, инвентаря, производственных площадей.

Чистота обработки поверхностей определяется как по физико-химическим, так и по микробиологическим показателям.

Процесс санитарной обработки оборудования

Процесс санитарной обработки оборудования в основном проводят в два приёма: вначале производят его мойку растворами моющих средств, а затем, после ополаскивания водой, дезинфицируют. В некоторых случаях данные процессы можно совместить, если для очистки использовать моюще-дезинфицирующие композиции

1. *Мойка.* Под мойкой и очисткой следует понимать физико-химические процессы, направленные на удаление с различных поверхностей всевозможных загрязнений. Данные процессы проводят с помощью специальных средств, обладающих моющим и очищающим действием.

Моющие средства для очистки оборудования и помещений, а также технологические режимы, подбираются в зависимости от вида оборудования, типа и структуры обрабатываемой поверхности, характера и степени загрязнения, методов и способов мойки.

2. *Дезинфекция.* На предприятиях пищевой промышленности основное назначение дезинфекции заключается в предупреждении микробного инфицирования продуктов питания, обеззараживания поверхностей. Дезинфекцию оборудования и производственных площадей осуществляют *физическими и химическими* методами.

К *физическим* способам дезинфекции относятся обработка горячей водой, кипячением, паром, пастеризация, обработка горячим воздухом, ультрафиолетовыми лучами, ультразвуком и т.д. Большинство патогенных вегетативных микроорганизмов погибает в воде температурой 60-90°C в течении 25-30мин.

На практике наиболее широкое применение имеют *химические* средства, обладающие дезинфицирующим действием. Это водные растворы содержащие активный хлор, четвертично – аммонийные соединения, перекись водорода, надуксусную кислоту.

При неправильно организованной мойке оборудования на производстве, происходит процесс накопления остатков продукта (жиров, белков, молочного и пивного камня, различных органических и минеральных отложений) и производственных загрязнений на поверхностях, особенно в застойных зонах, труднодоступных местах, пористых материалах. Это происходит при несоблюдении технологических режимов, при использовании неэффективных или неправильно подобранных моющих и дезинфицирующих средств, не рациональных методах мойки и т.п.

Под воздействием температуры, солей жесткости воды и различных химических компонентов продукта, происходит постепенный процесс образования отложений, адгезионно-прочно связанных между собой и с

поверхностью. Удаление таких отложений является сложной технологической задачей.

Многослойные прочные загрязнения являются главным источником заражения продукта. Микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности – токсины, находятся во всех слоях отложений.

Часто на предприятиях возникает такая ситуация, что после мойки и дезинфекции оборудования, несмотря на хорошие показатели по смывам, в готовом продукте присутствуют патогенные микроорганизмы.

Промывка водой, даже горячей или мойка малоэффективными моющими растворами приводит к лишь удалению свежего, верхнего слоя отложения. Дальнейшее воздействие дезинфектанта, даже очень эффективного, на плохо отмытую поверхность, не приносит желаемого результата. В этом случае происходит лишь бактериостатическое действие дезинфицирующего раствора, т.е. подавление жизнедеятельности микробов в верхних слоях отложений, а не уничтожение микроорганизмов.

Проведение санитарной мойки только одним дезинфицирующим средством, (например, раствором гипохлорита, ЧАС и т.п.) без предварительной химической очистки поверхностей от остатков продукта, является бессмысленным и малоэффективным процессом.

Кроме того, при контакте дезинфицирующих веществ (например, содержащих активный хлор) с остатками загрязнения и органическими веществами (белок, жиры), происходит химическое взаимодействие между ними (хлор является очень сильным окислителем). Причем на окисление остатков продукта может израсходоваться значительная часть активного хлора, в результате чего резко снизится антимикробное действие дезинфицирующего препарата

Для получения чистого по бактериологическим показателям оборудования, необходима полная очистка поверхностей от органических веществ, остатков продукта, и тем самым создание оптимальных условий для непосредственного контакта дезинфицирующего препарата с микробной клеткой. Эффективно продезинфицировать можно только хорошо вымытое оборудование.

Очищаемая поверхность должна быть тщательно отмыта с использованием специальных, эффективных моющих средств, при этом удаляется основная масса загрязнения и микроорганизмов более чем на 99,99% (до 2-го логарифмического порядка).

И только затем должна проводиться дезинфекция. На этой стадии очистки происходит окончательное уничтожение микроорганизмов (до 4-5 логарифмического порядка). Происходит бактерицидное действие дезинфицирующего раствора на патогенные вегетативные микроорганизмы.

Таким образом, на предприятиях пищевой промышленности санитарную обработку технологического оборудования проводят в две стадии. Сначала с оборудования удаляют остатки продуктов и загрязнения, а затем его дезинфицируют. Раздельное проведение этих операций обусловлено тем, что

применяемые моющие препараты почти не обладают дезинфицирующим действием, а дезинфицирующие - необходимым моющим эффектом.

Таким образом, правильный уход за оборудованием, его мойка и дезинфекция, соблюдение личной гигиены персонала, исключают инфицирование продуктов питания микроорганизмами, что позволяет предприятиям выпускать продукцию высокого качества, повышать культуру производства.

3 КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ И ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ

Вопросы для экзамена

1. Экзогенные пути контаминации мяса.
2. Эндогенные пути контаминации мяса.
3. Санитарные требования к транспортировке и предубойному содержанию животных.
4. Санитарные требования к убою скота.
5. Санитарные требования при разделке туш.
6. Микрофлора мяса при хранении в замороженном состоянии.
7. Микрофлора мяса при хранении в охлажденном состоянии.
8. Микрофлора мяса при посоле.
9. Микрофлора мяса при сублимационной сушке.
10. Санитарные требования к хранению продуктов убоя.
11. Санитарные требования к транспортировке продуктов убоя.
12. Санитарные требования при реализации продуктов убоя.
13. Пути контаминации консервируемых продуктов.
14. Влияние остаточной микрофлоры на качество консервов.
15. Санитарные требования к технологии производства консервов.
16. Микробиология производства колбасных сырах.
17. Микробиология производства полукопченых колбас.
18. Микробиология производства сырокопченых колбас.
19. Пути контаминации колбас микроорганизмами.
20. Влияние остаточной микрофлоры на качество вареных колбас.
21. Влияние остаточной микрофлоры на качество сырокопченых колбас.
22. Влияние остаточной микрофлоры на качество полукопченых колбас.
23. Санитарные требования к технологии производства колбас.
24. Экзогенные пути контаминации молока.

25. Эндогенные пути контаминации молока.
26. Изменение микрофлоры при хранении молока.
27. Требования, предъявляемые к молоку при хранении.
28. Методы снижения контаминации молока.
29. Контроль производства пастеризованного молока.
30. Контроль стерилизованного молока.
31. Молочнокислые бактерии.
32. Классификация заквасок и их использование в лабораторных и производственных условиях.
33. Микробиология кисломолочных продуктов.
34. Мезофильные молочнокислые стрептококки.
35. Термофильные молочнокислые бактерии.
36. Ацидофильные палочки.
37. Микробиология сливочного масла,
38. Микробиология сыра.
39. Микробиология молочных консервов.
40. Микробиология мороженого.
41. Микробиология кефира.
42. Микробиология простокваш.
43. Источники контаминации яиц микроорганизмами.
44. Патогенные микроорганизмы, передаваемые через яйца.

ФОРМА ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ - зачет по лабораторным работам;
экзамен по теоретическому курсу.

Доцент: _____ Н.Х. Курьянова

**4 ФОНД РАЗНОУРОВНЕВЫХ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ ДЛЯ
ИЗМЕРЕНИЯ УРОВНЯ ЗНАНИЙ И УМЕНИЙ
ОБУЧАЮЩЕГОСЯ И ДЛЯ ОЦЕНИВАНИЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ
КОМПЕТЕНЦИИ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ»**

*ПК-3 способностью изучать научно-техническую информацию
отечественного и зарубежного опыта по тематике исследования*

Знать

? Микробиологический контроль производства рекомендуется проводить:

1. не реже одного раза в месяц
2. не реже 2 раз в месяц
3. 1 раз в год
4. 2 раза в год

? Каждую партию молочных продуктов контролируют на наличие:

- 1.. БГКП и КМАФАнМ
2. бифидобактерии
3. лактобактерии
4. КМАФАнМ

? Микробиологический контроль производства мороженого включает:

1. контроль санитарно-гигиенических условий производства, технологического процесса и готовой продукции
2. контроль санитарно-гигиенических условий производства
3. чистоту рук оператора

? В готовом мороженом определяют:

1. КМАФАнМ, наличие БГКП, золотистого стафилококка, а при необходимости – наличие патогенных микроорганизмов
2. наличие бифидобактерии
3. лактобактерии
4. КМАФАнМ

? Молочнокислые бактерии сбраживают:

1. клетчатку
2. лактозу
3. крахмал

? Первым, кто увидел микрофлору кисломолочных продуктов:

1. Луи Пастер

2. Роберт Кох
3. Ивановский
4. Менделеев

? Пороки творога:

1. красноватый цвет
2. тягучесть, ослизнение, плесневение
3. жидкая консистенция
4. крошливость

? Clostridium имеют форму:

1. шаровидную
2. палочковидную
3. извитую

? Оптимальная температура развития Str. Lactis:

1. 30 °С
2. 25 °С
3. 21-25 °С
4. 40-45 °С

Уметь

? Каков источник эндогенного обсеменения молока сырого:

1. воздух
2. вымя животного
3. руки рабочих
4. подстилочный материал

? Вещества белковой природы (ферменты), образующиеся в организме животного и обладающие бактерицидными и бактериостатическим действием по отношению ко многим видам бактериям:

1. лизоцимы
2. сывороточные белки
3. антитела
4. лейкоциты

? Перечисленных микроорганизмов характерно спорообразование:

1. бациллы, клостридии
2. актиномицеты
3. бактерии
4. вирусы

? Термостойкость спор обусловлена:

1. наличием эндоспоры, обладающей повышенной устойчивостью
2. кортекса
3. экзоспориума

? Для каких микроорганизмов характерно наличие нуклеотида:

1. прокариотов
2. эукариотов
3. грибов и дрожжей

? Споры бактерий выполняют функцию:

1. защитную
2. размножения
3. питания
4. дыхания

? Спорам бактерий в благоприятных условиях:

1. набухают, увеличиваются в объеме, прорастает
2. инактивируются
3. светятся
4. погибают

? По типу питания бактерии подразделяются:

1. автотрофы
2. гетеротрофы
3. фототрофы
4. хемотрофы

? К автотрофам относятся:

1. организмы, синтезирующие все вещества своих клеток из углерода CO_2 и из неорганических веществ
2. организмы, использующие, для синтеза веществ клетки, энергию света
3. микроорганизмы, питающиеся за счет органических веществ других живых организмов и наносящие им вред.

Владеть

? Укажите возбудителей холеры:

1. ботулинус
2. холерный вибрион
3. кишечная палочка
4. стрептококк

? Разновидности микотоксикозов:

1. «пьяный хлеб»
2. алиментарно-токсическая аллейка

3. сальмонеллез
4. БГКП
5. бифидобактерии

? Период размножения микробов в инфицированном организме называется:

1. продромальный период
2. период расцвета
3. инкубационный период

? Укажите показатели, имеющие санитарно-показательное значение:

1. термофильные микроорганизмы
2. БГКП
3. Коли-титр
4. Коли – индекс
5. все перечисленное

? Дайте определение: «Наименьшее количество продукта, в гр. или мл, в котором обнаружены цитроотрицательные разновидности бактерий кишечной палочки (после идентификации)»:

1. COLI – титр
2. бродильный титр
3. COLI – индекс
4. титр кишечной палочки

? Порок, вызываемый кишечной палочкой:

1. вспучивание сыров
2. горький вкус
3. прогорклый вкус
4. кислый вкус

? Дайте определение: «Наименьшее количество продукта, в гр. или мл., в котором обнаружены кишечные палочки по среде Кесслер»:

1. COLI – титр
2. бродильный титр
3. COLI – индекс
4. титр кишечной палочки

? На какой питательной среде *Escherichia coli* дает характерный рост в виде красных колоний с металлическим блеском:

1. Кесслер
2. Эндо
3. ЖФА
4. ГПС

? Разложение белков плазмы масла до пептонов при развитии в масле протеолитических и флюоресцирующих бактерий вызывает:

1. кислый вкус
2. горький вкус
3. плесневение масла
4. сырный вкус

Уметь

? Что вызывает изъясвление корки сыра:

1. осповидная плесень
2. кистевидная плесень
3. гроздевидная плесень
4. гнилостные бактерии

? Полное прекращение жизненных процессов в сырье, продукте и микрофлоре называется:

1. абиоз
2. анабиоз
3. осмоанабиоз
4. ксероанабиоз

? Подавление развития микроорганизмов созданием высоких концентраций сухих осмотически деятельных веществ в продукте, в результате чего происходит плазмолиз клетке называется:

1. абиоз
2. анабиоз
3. осмоанабиоз
4. ксероанабиоз

? Подавление биологических и физико-химических процессов, протекающих в сырье, пищевых продуктах и населяющей их микрофлоре называется:

1. абиоз
2. анабиоз
3. осмоанабиоз
4. ксероанабиоз

? В состав после пастеризационной микрофлоры в основном входят:

1. гнилостные бактерии
2. мезофильные микроорганизмы
3. термофильные микроорганизмы
4. маслянокислые бактерии

? Выявление в почве протеев свидетельствует о загрязнении:

1. ее органическими веществами животного происхождения, фекалиями людей
2. не органическими веществами животного происхождения
3. навозом
4. компостом

? Меньше микроорганизмов содержат:

1. озерная вода
2. атмосферная вода
3. подземные воды
4. речная вода

? Питьевая вода считается хорошей если показатель КМАФАнМ не превышает:

1. 100 КОЕ/мл
2. 150 КОЕ/мл
3. 500 КОЕ/мл

? Температура пастеризации молока для производства заквасок в производственных условиях:

1. 85 °С
2. 90 °С
3. 63 °С
4. 100 °С

? Бруцеллез - это:

1. хроническое инфекционное заболевание животных и людей, вызванное бактерией рода *Brucella*
2. хроническое инфекционное заболевание животных и людей, вызванное бактерией рода *Bacillus anthracis* (сибиреязвенная палочка)
3. хроническое инфекционное заболевание животных и людей, вызванное бактерией рода *Mycobacterium*, открытая Р. Кохом

НАЗИЯ ХУСАИНОВНА КУРЬЯНОВА

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

по дисциплине

**МИКРОБИОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ
ЖИВОТНОВОДСТВА**