

Б А К А Л А В Р И А Т

*О.Д. Сидоренко, Е.В. Жукова*

**ТЕХНИЧЕСКАЯ  
МИКРОБИОЛОГИЯ  
ПРОДУКЦИИ  
ЖИВОТНОВОДСТВА**

У Ч Е Б Н О Е П О С О Б И Е



Электронно-  
Библиотечная  
Система  
znanium.com

ТЕХНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ  
ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА

О.Д. СИДОРЕНКО

Е.В. ЖУКОВА

2-е издание, переработанное и дополненное

Рекомендовано учебно-методическим объединением вузов Российской Федерации по агрономическому образованию в качестве учебного пособия для студентов по направлению подготовки 35.03.07 «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции»

Москва

ИНФРА-М

2021

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

УДК 663.18(075.8)  
ББК 30.16я73

С34

Сидоренко О.Д.  
С34

Техническая микробиология продукции животноводства : учебное пособие / О.Д. Сидоренко, Е.В. Жукова. – 2-е изд. перераб. и доп. – Москва : ИНФРА-М, 2021. – 224 с. – (Высшее образование: Бакалавриат). – DOI 10.12737/1071400.

ISBN 978-5-16-015952-2 (print)

ISBN 978-5-16-108340-6 (online)

В учебном пособии рассмотрена роль микроорганизмов в формировании качества продуктов животного происхождения, дано описание микроорганизмов, влияющих на качество продуктов питания и процессов, вызываемых технически и технологически важной микрофлорой. Изложены основные принципы микробиологического контроля производства продуктов переработки молока и мяса.

Во втором издании внимание сосредоточено на качестве и безопасности пищевых продуктов животного происхождения. Материал переработан и дополнен результатами последних исследований, что может быть использовано в программе подготовки технологов-микробиологов по пищевой технологии. Соответствует требованиям федеральных государственных образовательных стандартов высшего образования последнего поколения.

Для студентов, обучающихся по биологическим специальностям, агротехнологов по профилю «Технология производства, хранения и переработки продуктов животноводства» и по направлениям подготовки 35.03.07 «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции», 19.03.03, 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения».

УДК 663.18(075.8)  
ББК 30.16я73

Р е ц е н з е н т ы:

Т.Н. Грязнева, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, член Национального союза «Медико-биологическая защита»;

Е.В. Крюкова, доктор технических наук, профессор, профессор Московского государственного университета пищевых производств

ISBN 978-5-16-015952-2 (print)

ISBN 978-5-16-108340-6 (online)

© Сидоренко О.Д., Жукова Е.В.,  
2021

## **Рецензенты:**

Заведующий кафедрой микробиологии московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина, доктор биологических наук, профессор **Т.Н. Грязнева**

Профессор московского государственного университета пищевых производств, доктор технических наук, профессор **Е.В. Крюкова**

В учебном пособии рассмотрена роль микроорганизмов в формировании качества продуктов животного происхождения, дано описание микроорганизмов, влияющих на качество продуктов питания и процессов, вызываемых технически и технологически важной микрофлорой.

Изложены основные принципы микробиологического контроля производства продуктов переработки молока и мяса.

Во втором издании «Технической микробиологии продукции животноводства» сосредоточено внимание на качестве и безопасности пищевых продуктов животного происхождения. Почти все главы книги переработаны и дополнены результатами последних исследований, что может быть использовано в программе подготовки технологов-микробиологов по пищевой технологии.

Глава 1 и 2 посвящены микроорганизмам, их классификации и роли отдельных представителей, встречающихся в продуктах питания животного происхождения. Своеобразно представлены микроорганизмы общей специализации «пищевая биотехнология», что продиктовано современной экологической обстановкой и связанной с этой необходимостью микробиологического образования молодых технологов в области хранения и переработки продукции животноводства.

Затронуты биологические свойства так называемых «некультивируемых форм бактерий», микроорганизмов, с поврежденным метаболизмом, возникновение которых может быть связано с созданием многокомпонентных продуктов питания и их длительными сроками годности. Некультивируемые формы бактерий (*viablebutnotculturable*), но жизнеспособные, которые пока с трудом удается выделять на искусственных средах. Они вносят ошибку в оценку истинного биоразнообразия микроорганизмов в продукте питания и сроки его хранения.

В главах 2,3,4 представлены темы, конкретно посвященные микробиологии молока и молочным продуктам, мяса и мясным продуктам животного происхождения, а также биоконверсии вторичных продуктов и отходов мясной и молочной промышленности. Рассматриваются методы контроля.

Учебное пособие предназначено для подготовки студентов биологических специальностей, агротехнологов, а также бакалавров по профилям "Технология производства, хранения и переработки продуктов животноводства" и по направлениям: 35.03.07 "Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции", 19.03.03 и 19.04.03 "Продукты питания животного происхождения".

Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения курса «Техническая микробиология продукции животноводства»

Знать морфологические и биологических свойства и методы определения основных групп микроорганизмов, влияющих на качество продуктов животного происхождения; риски и меры по обеспечению безопасности разрабатываемых новых технологий и продуктов; современные методы исследований в области современных проблем науки, естествознания, молекулярной биологии, микробиологии, техники и технологии продукции животного происхождения

Уметь самостоятельно выполнять исследования для решения научно-исследовательских и производственных задач с использованием современной аппаратуры и методов исследования свойств сырья, полуфабрикатов и готовой продукции; оценивать риск и определять меры по обеспечению безопасности разрабатываемых новых технологий и продуктов; организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

Владеть способностью к профессиональной эксплуатации современного оборудования и приборов в соответствии с целями; способностью и готовностью применять знания современных методов исследований; самостоятельно выполнять исследования для решения научно-исследовательских и производственных задач с использованием современной аппаратуры и методов исследования свойств сырья, полуфабрикатов и готовой продукции при выполнении исследований в области проектирования новых продуктов

Считаем своим долгом отметить невольный недостаток данного издания – отсутствие тем по энзимологии и биохимическим основам микробиологической природы трансформации продуктов питания, их пороков, порчи и развитию нового направления – предсказательной микробиологии.

Конструктивная критика коллег и их пожелания, замечания рецензентов помогли нам в работе над вторым изданием учебного пособия, за что им глубокая благодарность.

Профессор О.Д. Сидоренко, доцент Е.В. Жукова

## Введение

Микробиология (от греч. micros- малый, bios- жизнь, logos- учение) - наука, изучающая микроскопических живых организмов: бактерий, дрожжей, плесневых грибов, вирусов, величина которых в большинстве случаев не превышает 0,1-0,2 мм. Это бурно развивающееся направление современного естествознания. Наука об изучении путей метаболизма микроорганизмов, об управлении этими процессами жизнедеятельности, о конструировании новых высокоактивных штаммов – продуцентов разнообразных ценных продуктов обмена веществ. Она представляет собой основу крупнейшей отрасли биотехнологии.

Микробиология подразделяется на общую, медицинскую, сельскохозяйственную, ветеринарную, санитарную, космическую, техническую и др. Техническая, или промышленная микробиология изучает различные типы микробиологических процессов, производства пищевых продуктов, лекарственных препаратов, обогащенных микробных масс. Она решает проблемы усовершенствования микробиологических производств, а также разрабатывает производство метаболитов микроорганизмов - продуцентов антибиотиков, витаминов и других биологически активных соединений.

Предметом изучения технической микробиологии продуктов животного происхождения являются стартовые культуры (закваски), патогенные, условно-патогенные, санитарно-показательные микроорганизмы попадающие в исходное сырье и в процессе его переработки и получения готового продукта.

Существует тесная связь технической микробиологии и санитарной микробиологии, которая исследует микрофлору окружающей среды, а также возможное воздействие присутствующих в ней микроорганизмов на здоровье человека. Особенно известных микроорганизмов с измененными физиолого-биохимическими свойствами.

Цель микробиологического контроля любого пищевого производства заключается в выявлении нарушений санитарного состояния производства и

оборудования, обнаружения мест и путей микробного загрязнения, а также для принятия необходимых мер по ликвидации этих опасных очагов и выпуске продукции высокого качества.

В России государственный контроль санитарно-гигиенических условий производства осуществляют органы санитарного надзора. Проблемы санитарной охраны воздуха и воды определены как народнохозяйственные, имеющие государственное значение. Качество воды, пищевых продуктов гарантировано санитарно-микробиологическими показателями, входящими в общегосударственные стандарты, комплексные методы и т.д.

Улучшение качества сырья требует подготовки специалистов, обладающих не только глубокими познаниями в области пищевых производств, но и умением разрабатывать и оценивать методы обнаружения патогенных микроорганизмов в мясных и молочных продуктах, а также осуществлять санитарно-микробиологический контроль качества сырья, полуфабрикатов и готовой продукции.

Основы технической микробиологии были заложены В.Н. Шапошниковым и его школой. Им был выдвинут принцип двухфазности процессов брожения (ацетонобутилового, ацетонэтилового, молочнокислого, пропионовокислого, маслянокислого). Н.Д. Иерусалимский выдвинул положение в причинах старения клеток микроорганизмов, которое зависит исключительно от изменения внешних условий, так как клетки бактерий являются самонастраивающейся системой, нацеленной природой на самовоспроизведение в конкретных условиях.

Техническая микробиология как дисциплина имеет свой специфический объект исследований – продукты питания и сферу приложения – здоровье нации. В новом столетии эту дисциплину отнесут к одному из самых перспективных и многообещающих направлений дальнейшего развития государства.

# **Глава 1. Микроорганизмы, качество и безопасность продуктов животного происхождения**

## **1.1 Качество и безопасность продовольственного сырья**

Основная задача переработки продуктов, животного сырья, рыбы и гидробионтов - максимальное сохранение пищевой и биологической ценности. К примеру, получение натурального молока, продление его срока годности и получение безопасных продуктов для потребителей.

Показатели качества и безопасности продуктов питания, во многом определяются микроорганизмами, находящимися в исходном сырье. Чем больше количество и разнообразие видов микроорганизмов, присутствующих в сырье, тем быстрее происходит порча и сложнее вырабатывать продукты с требуемыми характеристиками.

Для производства безопасных продуктов питания должно использоваться сырье только от здоровых животных, птиц, рыбы и гидробионтов. Однако этот принцип на практике не всегда возможно реализовать. Микробиологический контроль качества продовольственного сырья и пищевых продуктов предусматривает определение соответствия качества продукта по микробиологическим показателям, установленным для данного продукта. Микробиологические показатели, характеризующие безопасность продукта дают право на его использование. Приведенные в нормативной и технологической документации параметры на конкретный продукт и является обязательным критерием оценки качества продукта при санитарно-микробиологическом контроле.

Санитарно-микробиологический контроль продовольственного сырья и пищевых продуктов, производимых в стране, осуществляют органы санитарного надзора, а также производственные и ведомственные лаборатории, которые имеют на это разрешение санитарной службы государства. Контроль безопасности продуктов питания осуществляется на всех этапах обращения продуктов питания: при переработке продовольственного сырья, производ-

стве пищевых продуктов, а при необходимости — и на этапах движения к потребителю (хранение, транспорт, реализация).

При разработке новых видов пищевых продуктов, продовольственного сырья, пищевых добавок, а также при создании в области пищевой промышленности и общественного питания новых технологических процессов или при внесении изменений в них, разработчики обосновывают показатели качества и безопасности новой продукции, вносят её в нормативную и техническую документацию, которая утверждается в соответствующих санитарных органах.

Особого внимания требует продукция, ввозимая на территорию государства из-за границы. Её безопасность, в том числе микробиологическая, устанавливается на основе гигиенической экспертизы и оценки её соответствия требованиям государственных санитарных правил, а также требованиям безопасности, предусмотренных для такой продукции в государстве-производителе. Утвержденный Роспотребнадзором сертификат, который определяет показатели безопасности импортируемой продукции, должны иметь все организации, осуществляющие закупку и поставку этих продуктов питания.

Нормативы безопасности пищевых продуктов по микробиологическим показателям содержат контроль за четырьмя группами микроорганизмов:

- Санитарно-показательные, к которым относятся мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (МАФАМ) и бактерии группы кишечных палочек (БГКП), в том числе *E.coli*. По содержанию БГКП судят о степени загрязнения выделениями человека продуктов питания и наличие бактерий этой группы нормируется для всех без исключения продуктов.
- Потенциально патогенные микроорганизмы, в группу которых входят *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, сульфитредуцирующие клостридии.
- Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, шигеллы и

др., бактерии, вызывающие пищевые гастроэнтериты.

- Микроорганизмы порчи, к которым относятся плесневые грибы и дрожжи, бактерии: аэробы и анаэробы и др.

Качественный и количественный состав микрофлоры определяется многими методами и способами, а также некоторыми показателями:

- начальным микробным обсеменением исходного сырья;
- условиями транспортировки;
- температурой и длительностью хранения продуктов; полезной микрофлорой, вносимой со стартовыми культурами;
- содержанием микрофлоры, остающейся после термической обработки продукта;
- вторичным обсеменением в процессе технологического процесса на предприятии;
- условиями хранения и реализации продукта.

Регламентация по микробиологическим показателям безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов осуществляется прямым подсчетом (микроскопированием) или альтернативным методом.

Для определения микробного загрязнения одними микроорганизмами норматив указывает на количество колониобразующих единиц в 1 г (мл) продукта (КОЕ/г, мл). Так определяют общее содержание микроорганизмов (МАФАМ) в продукте независимо от их видовой принадлежности, а также содержание микроорганизмов порчи – дрожжей и плесеней. Для большинства продуктов регламент общего микробного загрязнения устанавливают в КОЕ/г (мл)  $10^3 - 10^5$ , что соответствует эпидемиологической безопасности продукта и его стабильности при хранении.

Большинство микроорганизмов – бактерии группы кишечных палочек (БГКП), потенциально патогенные и патогенные микроорганизмы регламентируют по так называемому альтернативному признаку, т.е. нормируется масса продукта, в котором наличие этого вида микроорганизмов не допуска-

ется. Таким образом, при микробиологическом контроле ответ рассматривается по принципу «да-нет».

Следует отметить, что по данному способу регламентирования микробиологической безопасности учитываются микроорганизмы определенной группы (семейство или род) бактерий. Как правило, масса продукта, в которой не допускается наличие определенных микроорганизмов, составляет 1,0-0,01 г (мл) продукта. Исключение составляют патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, которые не допускаются в 25 г, а в некоторых продуктах — в 50 г, что практически указывает на их полное отсутствие в среде, которая исследуется.

Следует отметить, что исследование на наличие сальмонелл является обязательным во всех случаях санитарно-микробиологического контроля продовольственного сырья и пищевых продуктов. Проведению анализа на наличие сальмонелл подлежат даже те продукты, в нормативно-технической документации которых отсутствуют микробиологические регламенты безопасности. Строгие требования к отсутствию сальмонелл в продуктах питания обоснованы тем, что эти микроорганизмы способны вызвать не только пищевые токсикоинфекции при их массовом размножении в пищевых продуктах, но и инфекционные заболевания при заражении человека небольшими количествами этих бактерий.

Микробиологические нормативы пищевых продуктов разрабатываются специалистами на основе комплексных многоплановых исследований, которые включают изучение свойств возбудителей и распространение пищевых заболеваний микробного происхождения, оценку обезвреживающей эффективности технологической обработки продуктов, анализ их рецептуры и назначения. В зависимости от этих условий перечень микробиологических показателей качества и их регламенты, в пределах указанных выше четырех групп микроорганизмов, устанавливаются отдельно для различных продуктов питания.

При эпидемиологическом неблагополучии в регионе, в частности, при регистрации значительного количества случаев кишечных инфекций, перечень микробиологических показателей для некоторых пищевых продуктов может быть расширен по сравнению с установленным в нормативных и технических документах. Так, например, при регистрации в регионе случаев кишечных инфекций неустановленной этиологии (то есть с неопределенным возбудителем) рыбная продукция, доброкачественная по всем традиционным микробиологическим показателям, дополнительно контролируется на наличие гемолитических вибрионов (*Vibrio parahaemolyticus*), которые известны как возможные возбудители пищевой токсикоинфекции. В салатах и смесях из сырых овощей, готовых к употреблению, в условиях эпидемиологической нестабильности определяют наличие бактерий рода *Yersinia*.

В условиях распространения инфекционного заболевания среди населения, когда есть опасность пищевого пути передачи возбудителя, по требованию Роспотребнадзора проводят исследования пищевых продуктов, направленные на выявление в них конкретного вида патогенных микробов (холерного вибриона, возбудителей дизентерии, брюшного тифа, сибирской язвы и др.). Такие исследования выполняются только Центрами эпидемиологии в специализированных бактериологических лабораториях, и являются одним из важных этапов эпидемиологического расследования микробного инфекционного заболевания.

Состав микрофлоры зависит от качества исходного сырья, применяемых стартовых культур, состояния оборудования и соблюдения санитарно-гигиенических условий производства.

Таким образом, санитарно-микробиологический контроль продуктов питания и его эффективность в профилактике пищевых заболеваний микробного происхождения — это результат многоплановых научных исследований специалистов всего мира и комплексной повседневной работы государственных органов санитарного надзора и ведомственных служб, производящих и реализующих продукты питания.

Порядок проведения санитарно-микробиологического контроля качества и безопасности продуктов питания и документы, определяющие микробиологические нормативы, строго регламентируются и контролируются государством.

В условиях распространения инфекционного заболевания среди населения, когда есть опасность пищевого пути передачи возбудителя, по требованию Роспотребнадзора проводят исследования пищевых продуктов, направленные на выявление в них конкретного вида патогенных микробов (холерного вибриона, возбудителей дизентерии, брюшного тифа, сибирской язвы и др.). Такие исследования выполняются только Центрами эпидемиологии в специализированных бактериологических лабораториях, и являются одним из важных этапов, эпидемиологического расследования микробного инфекционного заболевания.

Микробиологические риски могут возникать на всех этапах производства продуктов питания из продукции животноводства.

С глобальной точки зрения контроль и оценка стабильности характеристик, свойств продукта и срока его годности или хранения требуют знаний о соответствующих микроорганизмах и их способности вызывать порчу, позволяющих определить пределы порчи и понять взаимосвязь между общей численностью микроорганизмов и их метаболической активностью.

Методы микробиологического контроля продукции животноводства должны постоянно меняться, совершенствоваться и углубляться, так как управление биосинтезом микроорганизмов основывается на знаниях сложных, динамичных энзиматических процессов. Большим тормозом в их развитии и совершенствовании является плохое оснащение микробиологических лабораторий, использование устаревших методов исследования, требующих в большинстве случаев больших трудозатрат и длительного времени выполнения исследования.

В последнее время активно внедряются *экспресс-методы* микробиологического анализа продукции, экспресс-контроля чистоты поверхностей в

режиме реального времени непосредственно на рабочем месте. Позволяют быстро определить степень загрязнения производства и своевременно провести дополнительную дезинфекцию, тем самым обеспечивая надлежащий контроль качества и безопасность производимой продукции.

Система экспресс-контроля микроорганизмов, имеющихся в исследуемом материале, позволяет быстро и точно их обнаружить, используя дополнительно культуральные и микроскопические приемы. *Тест-пластины* ЗМ «Petrifilm», представляющие собой готовую питательную среду, используют для быстрого подсчета гетеротрофных микроорганизмов: колиформных бактерий, энтеробактерий, дрожжей и плесневых грибов. Используют также индикаторы (тест-пластины) для продукции, чувствительной к температурным воздействиям, и которая может испортиться в ходе транспортировки и хранения. На заключительном этапе исследований продукции – проведение идентификации различных групп – используют автоматизацию (микротест системы и компьютерные программы идентификационных программ).

## **1.2 Особенности взаимоотношений микроорганизмов**

### **в пищевых продуктах**

Благодаря разнообразию механизмов использования источников питания и энергии, а также выраженной адаптации к внешним воздействиям, микроорганизмы могут обитать там, где другие формы жизни невозможны. Естественные среды обитания большей части организмов — вода, почва и воздух. Число микроорганизмов, *обитающих на растениях и в организмах животных, значительно меньше.* Число микроорганизмов, обитающих на растениях и животных, в организме человека и животных также немало. Широкое распространение микроорганизмов связано с легкостью их перемещения по воздуху и воде; в частности, поверхность и дно пресноводных и соленых водоемов, а также несколько сантиметров верхнего слоя почвы изобилуют микроорганизмами, разрушающими органические вещества. Меньшее

количество микроорганизмов колонизирует поверхность растений, кожу и волосяной покров, а также некоторые внутренние полости животных (например, ЖКТ, верхние отделы дыхательных путей). В зонах обитания микроорганизмы образуют *микроценозы* — сообщества со специфическими и часто необычными взаимоотношениями - специфичные микробные популяции: например, аутохтонных микроорганизмов в естественном местообитании

Каждое микробное сообщество в конкретном природном ценозе состоит из совокупности взаимодействующих между собой специфичных *аутохтонных микроорганизмов* (от греч. *autos* — свой, *chthon* — страна). Они связаны единством времени и пространства. В природных биоценозах (почва, вода, воздух) выживают и размножаются лишь те микроорганизмы, которым благоприятствует окружающая среда; их рост прекращается и снижается активность, как только условия окружающей среды меняются. В природе большую часть бактерий поедают хищные простейшие, но часть клеток каждого вида выживает; при наступлении благоприятных условий они дают начало новым клонам микроорганизмов.

*Микробиологический синтез* - промышленный способ получения химических соединений и продуктов (например, дрожжей кормовых), осуществляемый благодаря жизнедеятельности микробных клеток. Иногда к микробиологическому синтезу относят также промышленные процессы, основанные на использовании иммобилизованных клеток, которые позволяют многократно использовать ферментный препарат.

Некоторые продукты микробиологического синтеза, например, пекарские дрожжи, давно использовались человеком, однако широкое применение микробиологический синтез началось в 40-50-х гг. 20 в. в связи с освоением производства пенициллина. К этому же времени относится возникновение новой отрасли народного хозяйства - микробиологической промышленности.

В микробиологическом синтезе сложные вещества образуются из более простых в результате функционирования ферментных систем микробной

клетки. Этим он отличается от брожения, в результате которого также образуются различные продукты обмена веществ микроорганизмов (спирты, органические кислоты и др.), но преимущественно в результате ферментативного распада органических веществ.

Микробиологический синтез использует способность некоторых организмов размножаться с большой скоростью (выделены бактерии и дрожжи, биомасса которых увеличивается в 500 раз быстрее, чем у самых урожайных сельскохозяйственных культур) и к "сверхсинтезу" - избыточному образованию продуктов обмена веществ (аминокислот, витаминов и др.), превышающему потребности микробной клетки. Такие микроорганизмы выделяют из природных источников или получают их мутантные штаммы (напр., мутантные штаммы плесневых грибов продуцируют пенициллин в 100-150 раз быстрее, чем природные). В качестве продуцентов находят применение культуры, полученные методами генетической инженерии, в которых функционирует чужеродный для них ген, например, в бактерии кишечной палочки (*Escherichia coli*)-ген гормона роста человека.

Для микробиологического синтеза органических соединений в качестве сырья применяют наиболее дешевые источники азота и углерода.

Некоторые продукты микробного синтеза, например, ферменты, антибиотики, ростовые вещества и другие широко используются в жизни человека. Растет объем выпускаемых препаратов, расширяется и их ассортимент, а также области их применения. При этом создаются новые штаммы- продуценты методами генной инженерии, распространяются методы иммобилизации клеток, способы получения стабильных форм готовых препаратов и т.д. Такое быстрое развитие современной биотехнологии связано с тем, что продукты микробного синтеза белкового происхождения, которые широко распространены в природе, без них невозможно осуществление многих биохимических процессов и жизнь в целом.

Микробиологический синтез включает ряд последовательных стадий. Главные из них - подготовка необходимой культуры микроорганизма-

продуцента, выращивание продуцента в заданных условиях, в ходе которого и осуществляется микробиологический синтез (эту стадию часто называют ферментацией), фильтрация и отделение биомассы, выделение и очистка требуемого продукта (если это необходимо), сушка.

Ферментацию проводят в специальных реакторах (ферментерах), снабженных устройствами для перемешивания среды и подачи стерильного воздуха. Управление процессом может осуществляться с помощью ЭВМ. Наиболее удобно ферментацию осуществлять непрерывным способом - при постоянной подаче питательной среды и выводе продуктов микробиологического синтеза. Так производят, например, кормовые дрожжи. Однако большинство метаболитов получают периодическим способом - с выводом продукта в конце процесса.

Для культивирования микроорганизмов применяют поверхностный и глубинный способы. При поверхностном способе аэробные микроорганизмы культивируют на твердых средах (увлажненные отруби и другие растительные остатки – сыпучие), пропитанных питательной средой и засеянной чистой культурой микроорганизма – продуцента. Термостатируют или выращивают микроорганизмы в камерах при определенной температуре, влажности и аэрации. Процесс заканчивается накоплением максимального количества продукта-метаболита микроорганизма.

Производственное культивирование проводят в стерильных условиях. Постоянно контролируют состояние культуры-продуцента и накопление продуктов биосинтеза, следят за потреблением основных компонентов среды (источников С, N, D), рН культуральной жидкости. Непрерывный процесс выращивания проточным методом культивирования микроорганизма-продуцента экономически выгодный. Он имеет большое число вариантов и возможности регулирования, максимальной скорости роста, концентрации клеток микроорганизмов и поддержания их числа на постоянном уровне за счет изменения скорости протока питательной среды

Для выделения и очистки веществ, получаемых с использованием микробиологического синтеза, используют экстракцию из водной фазы органическими растворителями при различных значениях рН, хроматографические методы (в том числе ионообменную хроматографию), кристаллизацию, осаждение. При выделении продуктов белковой природы (ферменты, токсины) предварительно осаждают белки сульфатом аммония или орг. растворителями. Многие операции по выделению проводят на холоде вследствие нестабильности некоторых продуктов обмена веществ.

### **Продукты микробиологического синтеза**

**Антибиотики.** Изучение явлений антагонизма в жизнедеятельности микроорганизмов привело к открытию антибиотиков. Это органические соединения, образуемые микробами и обладающие способностью в незначительных концентрациях тормозить рост других микроорганизмов (бактериостатическое действие) или убивать их (бактерицидное действие). Некоторые антибиотики могут растворять (лизировать) микробные клетки. По химической природе они очень разнообразны.

Большинство антибиотиков накапливается вне клеток микроорганизма-продуцента, которыми в основном являются актиномицеты, некоторые грибы и бактерии (главным образом их мутантные формы). Антибиотики, употребляемые преимущественно в медицине, подвергаются высокой степени очистки. Антибиотики для лечения сельскохозяйственных животных имеют специфическую активность относительно наиболее распространенных для них заболеваний, например, гельминтозов, кокцидиозов и др. Для добавки в корма обычно выпускают концентрат среды после выращивания в ней продуцента, иногда вместе с биомассой, содержащей значительное количество других продуктов обмена веществ продуцента, в т.ч. витамины, аминокислоты, нуклеотиды и др.

Известно более 6000 антибиотиков, относящихся главным образом к пенициллинам, аминогликозидам, тетрациклинам и макролидам. Мировая промышленность выпускает в год более 25000 тонн антибиотиков.

Пенициллины составляют большое семейство антибиотических веществ в виде лекарственных форм. Родоначальником пенициллинов был пенициллин – соединение, образуемое отдельными вилами *Penicillium*. Впервые антибиотик получен Х. Флори, Е. Чейном, А. Флемингом и З.В. Ермольевой (ученицей В.С.Буткевича – зав.кафедрой микробиологии МСХА имени КА. Тимирязева).

Первый фермент был назван пенициллин-β-лактомазой (пенициллиназой), второй пенициллинамидазой (пенициллинацилазой). Пенициллиназу и пенициллинамидазу образуют многие микроорганизмы (*Bac.cereus*, *Bac.subtilis*, *E.coli* и др.), включая бактерии кокки, актиномицеты и грибы.

Аминогликозидные антибиотики содержат ряд противомикробных веществ, включающих в химическую структуру гликозидные связи: стрептомицины, неомицины и др. Продуцируют их различные виды актиномицетов, они широкого спектра действия и более активны в щелочной среде.

Антибиотики-макролиды содержат в своей структуре макроциклическое лактонное кольцо, связанное с остатками углеводов (обычно это аминоксахара). В класс макролидных структур входят и полиеновые антибиотики, имеющие несколько сопряженных двойных связей. Продуцирующий эти антибиотики актиномицеты – *Streptomyces* sp.

**Аминокислоты.** Важнейшие макромолекулы клеток микроорганизмов – белки. Они состоят из мономерных единиц – аминокислот, определяющих основные свойства полимеров. Известно около 300 аминокислот, а для формирования белковых макромолекул природа отобрала лишь 20.

Причем белок, содержащий последовательность аминокислот в порядке 1,2,3,4,5.....20, отличается от белков в которых последовательность аминокислот будет например, 1,3,4,2,5....20 и др. Главная реакция аминокислот в живой клетке – образование пептидной связи. В отдельных случаях некоторые аминокислоты служат исходными продуктами для синтеза органических аминов, пуринов и других веществ.

Аминокислоты являются важнейшими соединениями, которые активно участвуют в обмене веществ всех живых существ на Земле. Производство аминокислот в мире составляет 1 млн. тонн в год. В промышленных масштабах микробиологическим и химическим способом получают 30 аминокислот.

В последние годы большое внимание привлекают аминокислоты, необходимые для синтеза белка. Микробный синтез таких аминокислот, как глутаминовая кислота, лизин, валин, изолейцин представляет собой быстро растущую область биотехнологии. Первой кислотой полученной микробиологической промышленностью была глутаминовая. Микроорганизм (*Micrococcus glutamicus*) выделял в питательную среду более 50% используемой глюкозы. В настоящее время многие микроорганизмы производят глутаминовую кислоту (*Bac. Mesentericus*, *Bac. subtilis*, *E. coli*), среди грибов, актиномицетов и дрожжей также были найдены активные формы, синтезирующие глутаминовую кислоту.

Существенное преимущество микробиологического синтеза аминокислот - возможность их получения в виде природных изомеров (L-форм). Продуцентами аминокислот служат главным образом мутанты, лишенные ряда ферментных систем, благодаря чему происходит сверхсинтез необходимого продукта. Обычно используют бактерии, относящиеся к роду *Brevibacterium*. Наибольший удельный вес среди аминокислот, вырабатываемых мировой промышленностью, занимают лизин и глутаминовая кислота. Получены мутанты микроорганизмов, способные к сверхсинтезу всех кодируемых аминокислот.

**Нуклеозидфосфаты.** Развитие микробиологического синтеза нуклеотидов (инозиновой, гуаниловой и др. кислот) связано с перспективами получения искусственной пищи, где их используют в качестве вкусовых добавок. При введении в состав среды для культивирования микроорганизмов метаболитических предшественников продуктов синтеза можно получать практически все известные нуклеозидфосфаты, в т.ч. АТФ. Накопление нуклеозидфосфатов происходит преим. вне клеток микроорганизмов.

### ***Витамины, провитамины, коферменты.***

Продуктами микробного синтеза служат витамины, алкалоиды, ростовые вещества (гиббереллины) и т.п. Широко используют инозин (рибоксин)-продуцент *Vac.pumilis*, *Brevibacteriumammoniagenes* и др. – при заболеваниях сердца.

Методом микробиологический синтез производят в основном витамин В12 и его коферментную форму. Продуцентами в этом процессе служат пропионовокислые бактерии. Для получения кормовых концентратов, содержащих витамин В12, на отходах бродильной промышленности (после-спиртовые, ацетон-бутиловые барды и др.) применяют комплекс метанообразующих бактерий. Разработаны способы получения витамина В2, р-каротина и дрожжей, обогащенных эргостеринами. При использовании соответствующих метаболических предшественников возможен также микробиологический синтез никотинамидных коферментов. например никотинамидадениндинуклеотида.

Витамины группы В ( $B_2$ ,  $B_{12}$ ), каротин (А) образуют соответственно *Candidaguilliermondii*, *Propionibacteriumsp.*, *Rhodotorulasp.* Витамины используются как предшественники соответствующих ферментов.

**Гиббереллины** – производные дитерпенов, выступаю гормонами растений. Известна серия гибберелинов, обозначаемых заглавной буквой А ( $A_1$ ,  $A_2$  и т.д.). На практике чаще используют гиббереловую кислоту, продуцируемую грибом *Gibberellafujikuroi* (его конидиальная стадия относится к *Fusariummoniliforme*). Число гибберелинов постоянно множится. Их классифицируют по числу углеродных атомов на  $C_{19}$  и  $C_{20}$  гиббереллины.

Биосинтез абсцизовой кислоты также как и синтез гибберелинов идет по пути образования изопреноидов. Она может легко превращаться и быть побочным продуктом в биосинтезе каратиноидов. Но также легко может инактивироваться, образуя инертные и малоактивные продукты.

**В-каротин** (провитамин А - природный антиоксидант, позволяет повышать пищевую ценность продуктов питания, обладает лечебно-

профилактическим действием и повышает уровень адаптации организма человека. Снижает риск возникновения злокачественных новообразований.

В-каротин получают микробиологическим синтезом, он предшественник витамина А, выполняет в организме важные функции: для поддержания нормального состояния слизистой, дыхательного и пищеварительного тракта человека. Недостаточность витамина А у детей задерживает их рост. Для получения В-каротина используют микроскопический гриб *Blakesleatrispora*, выращенный на обогащенной растительной питательной среде.

Витаминизация молочных и молочнокислых продуктов при внесении В-каротина обеспечивает 50% суточной потребности взрослого человека. Препарат не оказывает отрицательного влияния на микрофлору ферментированных молочных продуктов, играет профилактическую роль при желудочно-кишечных заболеваниях и оказывает иммуностимулирующее действие.

**Витамин В<sub>12</sub>**(цианкобаламин) – участвует в процессах кроветворения и в синтезе amino и нуклеиновых кислот. Он не содержится в продуктах растительного происхождения и в дрожжах. Синтезируют его многие микроорганизмы, но особой активностью отличаются пропионовокислые бактерии. Их выращивают в анаэробных условиях для накопления биомассы. В конце культивирования пропионовокислых бактерий (*Propionibacterium*) культуральную жидкость аэрируют и вносят предшественник – 5,6-диметилбензимидазол для повышения выхода витамина В<sub>12</sub>, который находится в биомассе. Затем жидкость сепарируют и их биомассы экстрагируют водой витамин. Существуют различные способы выделения и очистки витамина В<sub>12</sub>.

Пропионовокислые бактерии весьма требовательны к составу питательной среды (особенно к источнику азота и витаминов), не развиваются при рН среды ниже 5 и 4,5. Они факультативные анаэробы, но могут переносить лишь низкое парциальное давление кислорода. Развиваются при оптимальной температуре инкубации 30-35<sup>0</sup>С, но хорошо растут и при 15-25<sup>0</sup>С, отмирают при температуре 60-70<sup>0</sup>С.

Пропионовокислые бактерии могут сбраживать пировиноградную кислоту, дезаминируют аминокислоты, являются ингибиторами плесени. Некоторые штаммы пропионовокислых бактерий применяют для получения витамина В<sub>12</sub>. При созревании сыра пропионовокислое брожение является одним из самых важных. На практике используют продукты, выделяемые бактериями при брожении: пропионовую, уксусную кислоты и продукты синтеза, включая биомассу как белок. Последний богат серосодержащими аминокислотами, особенно метионином, а также треонином и лизином. Бактерии допущены к применению в пищевой промышленности и в животноводстве.

Энзиматически активная биомасса пропионовокислых бактерий используется в производстве заквасок для сыроделия, хлебопечения, силосования, обессахаривания белка куриных яиц и др.

При всех преимущества иммобилизованных клеток (многократное использование биокатализатора, автоматизированный проточный процесс получения ценных продуктов) пропионовокислые бактерии, не требующие аэрации, имеют еще одно преимущество перед аэробами – стабильный эффект работы биокатализатора. Как известно, иммобилизованные биокатализаторы теряют ферментативную активность.

С помощью пропионовокислых бактерий возможно получение ряда практически ценных веществ: летучие жирные кислоты (пропионовая и уксусная), порфирины, аспаргиновая и яблочная кислоты, нуклеотиды и их производные, витамин В<sub>12</sub>.

**Витамин С** (аскорбиновая кислота) раньше выделялась из лимонного сока. В настоящее время витамин можно получать с помощью микроорганизмов. В достаточно больших количествах синтезируют витамин С их глюкозы грибы родов *Fusarium*, *Aspergillus*, дрожжи *Lipomycesstarkeryi* и бактерии *Streptococcus thermophilus*, *Acetobacter*. Аскорбиновую кислоту широко применяют в пищевой промышленности (для сохранения продуктов, как антиоксидант). Синтез витамина С можно значительно увеличить. Это зависит

от индивидуальных особенностей гриба или микроорганизма и состава питательной среды на которой их выращивают.

Особенно большое влияние обеспечивает источниками азота и микроэлементами. В благоприятных для роста и синтетической деятельности условиях они весьма эффективно используют органические вещества питательного субстрата.

**Алкалоиды.** Грибы рода спорыньи (*Claviceps*)-продуценты эргоалкалоидов в основе строения молекул которых лежит гетероцикл эрголин. Некоторые из этих алкалоидов (напр., эргометрин и эрготамин) используют как маточные средства. Описаны также многочисленные продуценты других алкалоидов.

### ***Ферменты.***

Продуцентами ферментов служат многочисленные представители микроскопических грибов, некоторые актиномицеты и др. бактерии. Технология получения ферментных препаратов упрощается, если фермент продуцируется в питательную среду. При выделении внутриклеточных ферментов необходимо предварительно разрушить клетки микроорганизмов. Для исследовательских работ, аналитических целей и т. п. обычно получают ферменты в виде гомогенных (индивидуальных) белков. При промышленной переработке сельскохозяйственного сырья в пищевой промышленности иногда применяют комплексные ферментные препараты. Так, при переработке растительного сырья ферментный комплекс должен содержать целлюлазы, гемицеллюлазы, пектиназы, протеазы и некоторые другие ферменты. Один из важнейших ферментов, получаемый с помощью микробиологического синтеза - глюкоизомераза, катализирующая изомеризацию глюкозы во фруктозу. Образующийся глюкозо-фруктозный сироп используют в пищевой промышленности вместо сахарозы.

Технология ферментных препаратов микробного происхождения включает совокупность технологических приемов, обеспечивающих получение ферментных препаратов заданных свойств. Сюда входит: оборудование,

соответствующая температура, исходные материалы и культуры микроорганизмов соответствующей активности. Активность штаммов зависит от способов хранения живых культур микроорганизмов и сохранения их продуктивности. Поддержание микроорганизмов в жизнеспособном активном состоянии требует строгого контроля, регулярных пересевов на свежие питательные среды (субкультивирование). Надо помнить, что по мере потребления питательных веществ из среды начинают накапливаться побочные токсические продукты, что способствует гибели микроорганизмов (лучше пересевать на скошенные агаризованные среды).

Методы сохранения штамма постоянно модифицируются, они имеют свои преимущества и недостатки. При выборе способа хранения культуры надо учитывать физиологические особенности каждого микроорганизма и подобрать методы сохранения и консервации: замораживание, высушивание и т.п.

При выборе питательной среды для культивирования микроорганизмов в стационарных условиях необходимо учитывать качественный состав среды, количественное соотношение ее компонентов, рН. Накопление в среде продуктов ферментативной реакции подавляет синтез соответствующего фермента, так как накапливается репрессор, тормозящий процесс биосинтеза.

Репрессию и индукцию синтеза ферментов следует рассматривать как противоположные стороны единого биохимического процесса и как адаптивные процессы, обеспечивающие выживание микроорганизма. Эта особенность микроорганизмов позволяет направлять синтез необходимых ферментов путем подбора качественного и количественного состава питательной среды.

В настоящее время установлено, что присутствие в среде крахмала, пектиновых веществ, гемицеллюлозы и т.д. активизирует биосинтез амилаз, пектиназ, гемицеллюлаз и т.д. По-видимому, продукты частичного гидролиза этих высокополимерных субстратов или какие-то низкомолекулярные соединения являются индукторами биосинтеза этих ферментов.

## *Иммобилизованные ферментные препараты*

В живых системах ферменты способны длительно работать без возобновления и потери активности. Однако часто фермент после одноразового использования инактивируется. Ученые решили эту проблему, создав новые формы ферментных препаратов многократного использования, так называемые иммобилизованные ферменты. Иммобилизованный ферментный препарат - это единая система, которая состоит из трех частей: фермента, носителя и связующего их звена.

Для иммобилизации ферментов большое значение имеют природа функциональных групп белка, характер реакций, которые они катализируют, наличие или отсутствие простетической группы, небелкового фрагмента и т.д.

Носителями могут быть органические полимерные соединения и неорганические. От них зависит успешность иммобилизации ферментов. Поэтому они должны быть нерастворимы в реакционной среде, быть разнозаряженными с ферментом, иметь высокую гидрофильность, химическую и биологическую стойкость, механическую прочность, легко гранулироваться и активироваться. Носители могут иметь зернистую структуру в виде волокон, пленок, мембран и т.д. Природными полисахаридными носителями могут быть целлюлоза, агароза, хитин и др.

Неорганическими носителями могут быть синтетические кремнеземные сорбенты, металлы и их окислы, различные виды глин и природные минералы. Они имеют ряд преимуществ: легко регенерируются, им можно придать любой вид (порошок, шарики, пористый материал).

Сшивающими агентами для иммобилизации используется широкий круг полимерных носителей, для непосредственной конденсации белков на носителях, содержащих различные функциональные группы. Сшивающими соединениями могут быть глутаровый альдегид, галогенцианы (чаще бромциан), ненасыщенные сульфоны и др.

Все способы иммобилизации ферментов (физические и химические) заключаются в образовании ковалентных связей (адсорбционная иммобилизация) и получение микрокапсул с раствором фермента.

***Белково-витаминные препараты.*** Особое внимание как источник белка привлекает микробная биомасса.

Производство такой биомассы на дешевом сырье рассматривают как одно из ср-в устранения растущего белкового дефицита в питании животных. Наиболее интенсивное развитие получили промышленные методы микробиологический синтез кормовых дрожжей, применяемых в виде сухой биомассы как источник белка и витаминов в животноводстве. Для выращивания кормовых дрожжей используют углеводороды, гидролизаты различных отходов деревообрабатывающей промышленности, непригодных растительных материалов (подсолнечная лузга, стержни кукурузных початков и т.п.), сульфитные щелока, различные виды барды и т. д. Дрожжи, которые используют для получения белково-витаминных препаратов из углеводов, обладают специфические ферментными системами, позволяющими осуществлять акт первичного окисления углеводов и затем ассимилировать их, накапливая значительную биомассу. Кроме жидких углеводов в качестве ассимилируемых компонентов среды могут быть использованы газы (напр., метан), пропускаемые в среду, содержащую минеральные компоненты, в которой происходит размножение клеток метанооксиляющих микроорганизмов. Для получения кормовых микробных препаратов в качестве компонентов среды могут быть также использованы этанол, метанол, уксусная кислота. Культивирование дрожжей на углеводородах требует высокой культуры производства. В частности, необходима надежная герметизация аппаратуры, исключая вынос микробных клеток в окружающую среду.

К числу продуктов микробиологический синтез относятся также некоторые средства защиты растений, например бактериальные *энтмопатоген-*

ные препараты, вызывающие гибель вредных насекомых и предотвращающие их массовое размножение, и мн. бактериальные удобрения.

Частный случай микробиологический синтез-микробиологической трансформация органических соединений. Она осуществляется благодаря высокой активности специфических ферментных систем микроорганизмов, которые катализируют превращения вещества без изменения его основной структуры. Наиболее изучена трансформация стероидных соединений, например их дегидрирование, деацетилирование и гидроксילирование в строго определенных положениях. Благодаря широкой возможности подбора микроорганизмов (носителей специфических ферментных систем) метод микробиологической трансформации получает все большее распространение.

## **Среда обитания и особенности**

### **взаимоотношения микроорганизмов**

В естественных условиях обитания, в том числе на товарах, на продуктах питания всегда присутствуют и совместно развиваются различные микроорганизмы. Микробное сообщество – это совокупность взаимодействующих между собой функционально различных микроорганизмов. Виды в бактериальном сообществе существуют за счет катализируемых ими химических энергодающих реакций. Полнота использования энергии химических реакций и есть главнейшее правило в организации трофической системы микробного сообщества. Доминируют те из них, чьи кинетические характеристики более всего соответствуют условиям, складывающимся в сообществе, т.е. от биологических особенностей организмов (способности к выживанию). Взаимоотношения, устанавливающиеся между ними, могут быть безразличны для участников, приносить пользу или вред одному или всем. Основными из них являются следующие, хотя иногда взаимоотношения микроорганизмов сложно охарактеризовать одним термином.

- 1. *Нейтрализм* (от лат. *neutralis* — не принадлежащий ни тому, ни другому) — взаимоотношения, при которых микроорганизмы не оказывают друг на друга никакого влияния.
- 2. *Конкуренция* (от лат. *concurrere* — сталкиваться) — взаимоотношения, при которых микроорганизмы конкурируют между собой за питание. Конкуренция бывает активная и пассивная.
- 3. *Ассоциация* — взаимоотношения, когда одни микроорганизмы создают благоприятные условия для существования других. Жизнедеятельность одних способствует развитию других или один живет за счет другого (или других), не причиняя вреда. Основу их связей представляют трофические связи, обусловленные образованием и использованием веществ микроорганизмами. Например, микроорганизмы, расщепляющие белки на более простые соединения, создают возможность для развития других микробов, которые сами белок разлагать не могут, а продукты его распада усваивают хорошо.
- 4. *Синтрофия* (от греч. *syn* — вместе + *trophe* — пища) — взаимоотношения, когда микроорганизмам приходится осуществлять процесс разложения органического вещества вместе. Отдельно, сами по себе, они не могут выполнить необходимые процессы.
- 5. *Симбиоз* (от греч. *symbiosis* — совместно) — тип взаимоотношений, когда совместная жизнедеятельность двух или нескольких видов микроорганизмов приводит к взаимной пользе; вместе они развиваются лучше, чем порознь. Симбионты как бы обмениваются продуктами жизнедеятельности. Пример симбиоза — совместное развитие дрожжей и молочнокислых бактерий: бактерии, продуцируя молочную кислоту, создают условия, благоприятные для роста дрожжей, а продукты жизнедеятельности дрожжей (например, витамины группы В) используются бактериями. Кроме того, дрожжи потребляют молочную кислоту, а снижение кислотности среды благоприятно для развития молочнокислых бактерий. Кефир и кумыс являются продуктами симбиотических взаимоотношений микроорганизмов.

В настоящее время выделяют несколько типов симбиоза:

- *комменсализм* (от лат. *com* — вместе + *mensa* — трапеза) — взаимоотношения, когда взаимная польза не выражена отчетливо, но совместное сосуществование не приносит микроорганизмам вреда. Примерами являются нормальная микробиота организма человека, эпифиты наземных частей растений;

- *мутуализм* (от лат. *mutuus* — взаимный) — взаимоотношения, при которых оба участника извлекают пользу из взаимного существования, но при этом они не могут существовать отдельно. Примером являются взаимоотношения молочнокислых бактерий и дрожжей.

- *паразитизм* (от греч. *parasitos* — нахлебник) — взаимоотношения, когда совместное существование выгодно только одному микроорганизму, а другому приносит вред. Паразитами являются патогенные микроорганизмы, вызывающие заболевания растений, животных и человека.

- *синергизм* — взаимоотношения, когда совместное существование приводит к активизации всех или одного микроорганизма;

- *метобиоз* — взаимоотношения, когда один из симбионтов существует за счет продуктов жизнедеятельности другого, но вреда ему не причиняет.

- 6. *Хищничество* — это взаимоотношения, когда один микроорганизм использует другого в качестве пищи, прикрепляясь к клеточной стенке. Примерами являются некоторые бактерии, грибы и др. Например, *Vdellovibrio* поражает псевдомонады и энтеробактерии.

- 7. *Антагонизм* (от греч. *antagonisma* — борьба) — вид взаимоотношений, когда один вид микробов угнетает другой или вызывает его гибель, или задерживает его рост. Губительное воздействие микробов-антагонистов связано с выделением ими в среду продуктов своей жизнедеятельности и (или) особых биологически активных химических веществ, называемых *антибиотиками* (от греч. *anti* — против + *bios* — жизнь).

Антибиотики (полипептиды, аминогликозиды и др.), синтезируемые многими микроорганизмами в процессе жизнедеятельности, характеризуются неблагоприятным действием на другие микроорганизмы. Микроорганизмы, выделяющие антибиотики, широко распространены в природе. Этой способностью, позволяющей некоторым микроорганизмам выживать в естественной среде, защищаться, обладают многие грибы, бактерии, особенно актиномицеты. Некоторые микроорганизмы образуют не один, а несколько антибиотиков, ингибируют грамположительные и грамотрицательные бактерии.

Антагонизм в мире микробов нередко определяет состав микробного сообщества субстратов. Известно, что молочнокислые бактерии являются антагонистами гнилостных, так как молочная кислота тормозит их развитие. Антагонистические взаимоотношения между этими группами микроорганизмов используют при переработке ряда пищевых продуктов (при квашении овощей, изготовлении кисломолочных продуктов и др.). Идея использования антагонизма между молочнокислыми и гнилостными бактериями принадлежит И. И. Мечникову.

Наглядно увидеть действие антибиотиков можно при культивировании микробов на искусственных средах. Вокруг колонии микроба-антагониста образуется стерильная зона — зона отсутствия роста микроорганизма, чувствительного к данному микробу, продуцирующему антибиотик (рис. 4.4). Диаметр стерильной зоны менее 10 мм свидетельствует об отсутствии активности данного антибиотика, 10—15 мм — активность слабая, более 20 мм — высокая.

Выделено и изучено большое количество антибиотиков, каждый из которых характеризуется своим антимикробным спектром действия. Характерным свойством антибиотиков является их избирательное действие — каждый действует только на определенные микроорганизмы, т.е. характеризуется специфическим антимикробным спектром действия. Одни антибиотики активно действуют на грибы, другие — на бактерии.

Имеются антибиотики, действующие на многие микроорганизмы, так называемого широкого спектра действия. Имеется более 6000 антибиотиков, относящихся главным образом к пенициллинам, цефалоспорином, аминогликозидам, тетрациклинам и макролидам. Следует вспомнить первооткрывателей пенициллина в 40-х годах прошлого века: З.В. Ермольева, Х.Флори, Е. Чейн и А. Флеминг.

Механизм повреждения антибиотиками микробных клеток разнообразен и полностью не изучен. Известно, что они разрушают клеточные структуры, инактивируют ферменты, подавляют синтез нуклеиновых кислот и др. Некоторые антибиотики способны лизировать (растворять) микробные клетки. Активность антибиотиков очень высока, она в десятки тысяч раз превышает активность самых сильнодействующих антисептиков. Эффективность действия зависит от концентрации, температуры и состава среды и др.

Антимикробное действие антибиотиков проявляется в очень малых концентрациях, но микроорганизмы способны адаптироваться к антибиотикам, в результате чего возникают нечувствительные, *резистентные* (от лат. *resistentia* — противодействие) к ним виды.

Промышленное производство антибиотиков открыло эру антибиотикотерапии. Антибиотики достаточно успешно используются в борьбе со многими опасными микроорганизмами, но, к сожалению, оказывают негативное действие на макроорганизмы. Кроме гибели возбудителей заболевания, могут погибать и представители нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Могут возникать дисбактериозы, токсические реакции вплоть до шокового состояния, может происходить поражение печени, почек, слухового аппарата и др. Применение антибиотиков может приводить к снижению иммунитета.

Антибиотики используются в сельском хозяйстве для борьбы с возбудителями заболеваний растений и животных, а также в качестве стимуляторов их роста, для сохранения продовольственных и непродовольственных

товаров. Однако при этом возникают определенные проблемы, связанные с неконтролируемым воздействием антибиотиков на макроорганизмы, особенно из-за их малых доз. Это направление использования антибиотиков нуждается в серьезных исследованиях, прежде чем будет активно развиваться.

Многokратное поступление в организм человека даже малых количеств антибиотиков, приводит к появлению устойчивых форм патогенных микроорганизмов. С одной стороны, это ведет к потере лечебного действия данного антибиотика, с другой — антибиотики вытесняют полезные микроорганизмы из нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта человека. Поэтому постоянно ведется изучение действия на макроорганизмы все новых антибиотиков перед началом их широкого использования.

В настоящее время в пищевой промышленности разрешается использование таких антибиотиков, как нистатин и биомицин. Они используются при транспортировании в холодных условиях сырых мясных и рыбных продуктов при условии их полного разрушения в процессе обычной тепловой кулинарной обработки.

Широкое применение находит низин, вырабатываемый молочнокислыми стрептококками. Он является ингибитором роста патогенных стафилококков, стрептококков и анаэробных спорообразующих термофилов - частых возбудителей порчи консервов и пресервов. Низин используется в консервной промышленности, при изготовлении сгущенного молока и плавленых сыров. Низин воздействует на споры бактерий, задерживая их прорастание. Наиболее активно его действие проявляется в кислых субстратах.

Антибиотики — это не только продукты жизнедеятельности микроорганизмов. Они также вырабатываются растениями и животными.

*Фитонциды* (от греч. *Fitov* — растение + лат. *caedo* — убиваю) — антибиотические вещества растительного происхождения. Они обнаруживаются не только в покоящихся органах, но и в растущих частях растений —

листьях, стеблях и корнях. В 1928 г. советским ученым-биологом Б. П. Токиным было обнаружено, что некоторые растения вызывают гибель определенных микроорганизмов.

Фитонциды широко распространены в мире растений, они природой предназначены в качестве средства борьбы с микробами. Действие фитонцидов на микроорганизмы избирательно: сок того или иного растения губителен для одних микробов и безвреден для других. Антимикробным действием обладают многие вещества, находящиеся в чесноке, луке, эфирных маслах, многих лекарственных растениях и пряностях.

Химическая природа фитонцидов разнообразна: это гликозиды, антоцианы, дубильные вещества и др. Примером фитонцидов является аллицин — фитонцид чеснока. Это очень неустойчивое соединение, которое при комнатной температуре разрушается за нескольких дней. Но в чесноке аллицин содержится не в виде свободного вещества, а в виде соединения, переходящего в антибиотик, и чеснок сохраняет антибиотическую активность до года. Аллицин подавляет развитие многих микроорганизмов, в том числе патогенных.

Ведутся исследования по использованию фитонцидов (в виде препаратов или измельченной растительной массы) в практике хранения продовольственных товаров, прежде всего плодоовощных. Так, пересыпка в хранилище клубней картофеля измельченной растительной массой (полынью, коноплей, чешуями луковиц репчатого лука, хвоей пихты и др.) снижает поражение клубней фомозом и сухой гнилью.

Примерами антибиотиков животного происхождения являются такие соединения, как *лизоцим*, *эритрин* и *экмолин*. Лизоцим (от греч. *lisis* — растворение) растворяет клетки микроорганизмов. Он имеет белковую природу, вырабатывается различными тканями и органами животных и человека, содержится в слезах, слюне, присутствует в яичном белке, рыбной икре. Эритрин (от греч. *erythros* — красный) — вещество, получаемое из эритроцитов животных. Эритрин активен против стафилококков и стрептококков.

Экмолин (белковый антибиотик) выделен из молок осетровых рыб, губительно действует на патогенные бактерии, особенно кишечные.

### **Методы хранения с учетом жизнедеятельности микроорганизмов**

Развитие микробов зависит от многих факторов внешней среды. Изменяя условия существования микроорганизмов, можно регулировать их развитие и биохимическую деятельность. Если при использовании микроорганизмов в производственных процессах необходимо создавать оптимальные условия для их развития, то в практике товароведения необходимо, наоборот, препятствовать росту микробов. Применяемые на практике и разрабатываемые приемы хранения товаров, прежде всего пищевых продуктов, можно подразделить на четыре группы.

1. Методы хранения, основанные на принципе *биоза* (от греч. *bios* — жизнь). Это методы, направленные на поддержание жизненных процессов объектов, являющихся товарами, с сохранением их естественного иммунитета, но на более низком уровне. Примером является хранение свежих плодов или овощей, живой рыбы.

2. Методы хранения, основанные на принципе *абиоза* (отсутствие жизни). Это методы, направленные на уничтожение микробов в товаре с помощью различных факторов: высоких температур (пастеризации и стерилизации), добавления антисептиков и др.

3. Методы хранения, основанные на принципе *анабиоза* (подавление жизни). Создаются условия, при которых микроорганизмы остаются в жизнеспособном состоянии, но активности не проявляют. Это использование низких температур, высушивание, консервация солью и сахаром, маринование и др.

4. Методы хранения, основанные на принципе *ценоанабиоза* (от греч. *kainos* — новый). Эти методы направлены на использование антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами, входящими в состав микрофлоры продукта. При этом специально вызывают развитие микроорганизмов, которые в процессе своей жизнедеятельности улучшают пищевые и вкусовые

свойства продукта. Продукты же жизнедеятельности этих микроорганизмов способны подавлять развитие возбудителей порчи. Пример — квашение овощей и плодов.

## **Метаболизм микроорганизмов и сбалансированность процессов клеточного обмена**

При росте в лабораторных или промышленных условиях микроорганизм представляет собой популяцию, генетически детерминированных клеток одного вида, образующих сложную саморегулируемую и саморазвивающуюся систему. Она проходит определенный цикл развития (лаг-фазу, фазу активного роста, стационарную, фазу отмирания или гибели и образования покоящихся репродуктивных форм). Если условия внешней среды изменяются (наступает стресс), в ответ на неблагоприятные воздействия включаются механизмы антистрессовой защиты. Прежде всего это совокупность биохимических и физико-химических реакций, формирующих физиологический ответ клетки, т.е. организм включает свой генетический ресурс. Происходит экспрессия генов новых регулонов, изменяется тип метаболизма.

Продолжительный стресс, изменяющий условия, благоприятствующие росту размножающихся клеток прекращают деление и переходят в состояние пролиферативного покоя с резко отличным эндотрофным типом обмена. Это состояние нестабильно. Если условия среды меняются на благоприятствующие росту, то микроорганизмы меняют генетическую программу и возвращаются к размножению. Если стрессовая ситуация сохраняется, то наступает гибель клеток (их автолиз) или образование покоящихся репродуктивных форм с уникальным типом обмена – анабиоз-полное отсутствие обмена с внешней средой.

Покоящиеся формы микроорганизмов характеризуются метаболическим покоем и различаются способом их образования и клеточной формой покоя. Покоящимися формами прокариот являются: эндоспоры бактерий, конидии стрептомицетов, миксоспоры миксобактерий, цисты азотобактера,

акинеты цианобактерий, экзоспоры метилотрофов и метаноокисляющих бактерий.

Общим свойством покоящихся форм разных типов является обратимое резкое снижение или полное отсутствие метаболической активности – анабиоз. Метаболическая активация специализированных клеток сопровождается повышенной их устойчивостью к действию неблагоприятных факторов окружающей среды: экстремальным температурам, концентрации водородных ионов, действию литических ферментов, спиртов, ксенобиотиков, радиации и др.

Покоящиеся формы длительное время сохраняют жизнеспособность клетки и изменяют структуру их протопласта: конденсация нуклеоида, агрегация рибосом, модификация внутриклеточных мембранных структур, утолщение клеточной стенки, развитие специальных покровов и оболочек. Специализированные покоящиеся формы микроорганизмов – это жизнеспособные клетки, предназначенные для репродукции и характеризующиеся резко сниженным уровнем метаболизма.

Способы переживания стрессовых ситуаций вегетативными клетками бактерий довольно разнообразны, имеют длительное время состояния покоя те, у которых метаболизм блокирован настолько, что не выявляется экспериментально.

Некоторые микроорганизмы переходят в некультивируемое состояние. Известно несколько типов некультивируемых форм клеток: ультрамикробактерии (УМБ), нанобактерии (НБ) и жизнеспособные некультивируемые клетки (ЖНК). Они имеют мелкие размеры: 0,2-0,6 мкм, 0,03-0,2 мкм), неспособность размножаться и образовывать колонии при высеве на питательные среды в стандартных лабораторных условиях культивирования.

Реверсии метаболической активности посвящено огромное число экспериментальных исследований и теоретических работ. Глубокие различия морфологических, биохимических и физико-химических свойств вегетативных клеток и покоящихся форм, выход из состояния покоя и превращение в

метаболически активную клетку представляет собой сложный процесс. Временной интервал его зависит от глубины покоя и определяется внутренними свойствами «спор».

Необходим ряд манипуляций для прорастания покоящихся некультивируемых форм: активация, инициация и выростание – образование первой зрелой клетки; условия: полноценная питательная среда и оптимальные для роста физико-химические параметры среды.

Искусственно покоящиеся клетки – или экзогенный покой – анабиоз клеток, создают для приготовления покоящихся суспензий и сухих препаратов. Экзогенный покой наступает при дегитратации клетки различными способами (высушивание, замораживание и т.п.). При этом важно предохранение клеток и их структур от повреждений, обуславливающих потерю клетками жизнеспособности.

### **1.3 Коллекции микроорганизмов**

Коллекционирование микроорганизмов имеет большое теоретическое и практическое значение. Последнее связано с направленным селекционированием ценных свойств и отбором микроорганизмов, необходимых при создании лечебно-профилактических молочных продуктов и препаратов. Теоретически коллекционирование состоит в том, чтобы создать научную основу, позволяющую распределить микроорганизмы, систематизировать их на основании их сходства и родства, используя набор таксономических признаков.

Вместе с тем создание коллекций невозможно без разработки методов длительного сохранения жизнеспособности микроорганизмов, их исходных физиологических и биохимических свойств. Необходимы также методы технологических совершенствования их определенных признаков. Это связано с разработками индивидуальных оптимальных защитных сред для перехода культур из анабиоза в вегетативное состояние.

Сохранение основных свойств микроорганизмов, продуцентов ростовых, антибиотических, ароматических и др. веществ является весьма важной

и трудной задачей. Чтобы избежать падения активности микроорганизмов, которое постоянно наблюдается при культивировании продуцентов на питательных средах, прибегают к трудоемкой поддерживающей селекции (регулярный отбор активных вариантов из популяции клеток). Давно существует метод хранения культур на плотных питательных средах под минеральным маслом. Этот метод можно совершенствовать, подбирая соответствующие среды, что позволит полнее использовать не раскрытые потенциальные возможности этих штаммов.

Однако длительное хранение под минеральным маслом требует пересева культур и проведения селекционной работы. Лучшие результаты получаются при лиофильно – высушенном методе хранения.

В молочной промышленности лактобактерии трудно сохранять в активном состоянии. Для предупреждения изменений свойств закваски в результате действия бактериофага или другого постороннего микроорганизма, в состав заквасок включают по несколько штаммов каждого вида молочно-кислых бактерий. Так проводят ротацию лактобактерий в течении не более 7 дней, а затем заменяют новой закваской с другим штаммовым составом. В связи с этим многостаммовость и ротация заквасок заставляет иметь в обращении большое количество штаммов лактобактерий с хорошо изученными свойствами.

Хранимые культуры коллекции необходимо исследовать постоянно и глубоко, нужна паспортизация культур. Уход за коллекцией является обязательным мероприятием.

Коллекция дрожжей также контролируется. Особенно тщательно изучаются вновь поступающие штаммы. Описываются их производственные качества. Помимо работ по описанию отдельных представителей коллекции и поддержанию всей коллекции в жизнеспособном состоянии ведутся исследования в направлении получения новых рас с повышенной производственной активностью методом гибридизации.

Наиболее эффективным в этом отношении является изучение и применение наиболее активных местных штаммов, являющихся приспособленными к специфическим условиям определенного региона. При этом необходимо подбирать для них питательные среды, сроки и условия культивирования.

Сроки хранения влияют на жизнеспособность штаммов: с увеличением срока хранения культур повышается процесс лизиса клеток, заметны изменения формы, размера и структуры клетки, изменяется биохимическая активность. Для защиты питательной среды от быстрого высыхания на период хранения культуре дрожжей необходимо плотное прикрывание пробирок полиэтиленовыми крышками.

В результате правильной работы с коллекционными культурами в лабораторных условиях и условиях производства удастся всесторонне изучить штаммы, определить и уточнить систематическое положение микроорганизмов, выявить их практически ценные свойства и вносить предложения, направляемые на улучшения качества молочной продукции.

Для животноводства важно рекомендовать лактобактерии и широко использовать рост стимулирующие препараты микробного происхождения. Введение их в рацион молодых животных позволяет увеличить привесы при одновременном сокращении затрат кормов, повысить выживаемость молодняка, сократить сроки откорма, повысить качество мяса, т.е их использование высоко эффективно и экономически выгодно. Уже давно известно, что кормовые антибиотики нежелательны, так как антибиотические препараты способствуют возникновению и циркуляции в природе устойчивых форм патогенных микроорганизмов, а также распространению аллергических реакция по отношению к данным антибиотикам

Препараты молочнокислых бактерий комплексного действия, содержащие ряд биологически активных соединений, таких как: бактериоцины, витамины, ферменты, пигменты, аминокислоты, которые чрезвычайно эффективны при добавлении в корма молодым животным. Исследования кафедры хранения и переработки продуктов животноводства РГАУ-МСХА

имени К.А. Тимирязева показали биохимические возможности лактобактерий продуцировать бактериоцины, пигменты, ферменты и т.п. Было установлено, что штаммы местных географических зон лактобактерий и дрожжей резистентны к антибиотикам, обладают протеолизом и интенсивным пигментогенезом.

Сохранение основных свойств микроорганизмов, продуцентов биологически активных веществ является трудной задачей. Чтобы избежать падения биохимической активности которая с различной скоростью, но постоянно (постепенно) наблюдается при культивировании продуктов на питательных средах, необходимо применять «поддерживающую» селекцию.

### **Хранение штаммов лактобактерий**

Ценные для производства штаммы молочнокислых бактерий можно получать из различных природных источников. Успех производства будет зависеть от умения длительно сохранять живую и генетически стабильную культуру и изменяя свойства коллекционных культур, повышать их биохимическую активность. Изменение свойств и повышение биологической активности молочнокислых бактерий дают возможность переделывать (модифицировать) природу микроорганизмов в нужном для производства направлении под влиянием химических, физических и биологических факторов.

Основой всех методов хранения является торможение процессов метаболизма микроорганизмов. Это достигается различными методами : дегидратацией клеток при действии низких и ультранизких температур, высушиванием из замороженного состояния под вакуумом (лиофилизацией), высушиванием из жидкости под вакуумом (Л-высушивание), хранением высушенных культур в стерильной почве, песке, силикагеле, естественно высохших питательных средах на фильтровальной бумаге; уменьшение доступа кислорода – под минеральным маслом, в запаянных ампулах, под резиновыми и парафиновыми пробками; хранением густых суспензий клеток в дистиллированной воде, физиологическом растворе, 10%-ном растворе сахарозы.

Следует подчеркнуть, что для гарантии длительного поддержания жизнеспособной и стабильной культуры рекомендуется одновременно хранить микроорганизмы различными методами. Надо полагать, что универсального метода хранения коллекции микроорганизмов не существует, так как реакция клеток в ответ на воздействие внешних факторов неоднородна. Особенности приемов хранения обуславливают некоторую изменчивость организма и всегда есть возможность получить разнокачественные особи с определенными биохимическими свойствами.

Для длительного хранения коллекции лактобактерий обязательно выполнение нижеследующих приемов работниками высокой квалификации:

- подготовка штаммов к хранению;
- приготовление соответствующей питательной агаризованной среды;
- контроль титра жизнеспособных клеток;
- периодические пересевы культур.

Перед началом хранения проверяют однородность популяции по типу колоний, наличие R-S- и G-вариантов, пигментных колоний. Микроорганизмы выращивают при оптимальных условиях до начала стационарной фазы роста (в этот период микроорганизмы лучше переносят действия различных стрессов). Затем собирают густую суспензию клеток ( $10^8$ -  $10^{12}$  кл/мл) стерильным центрифугированием жидкой культуры или смывом с поверхности агаризованных сред соответствующей суспензионной средой или раствором в зависимости от выбранного метода хранения. После хранения подсчитывают число колоний, выросших из соответствующих разведений на богатых питательных средах. Процент выживаемости микроорганизмов определяют по отношению к числу живых клеток до начала хранения, принятому за 100%.

Периодические пересевы являются краткосрочными методами. Сроки пересевов варьируют от нескольких дней до нескольких месяцев (у лактобактерий – 20 дней). Причем молочнокислые бактерии требуют для роста сложной питательной среды и частых пересевов из-за накопления конечных про-

дуктов метаболизма. Частые пересевы из отдельных колоний способствуют возникновению спонтанных мутантов.

Культуры хранят при комнатной температуре в темноте: хранение при 4-6<sup>0</sup>С удлиняет сроки пересевов от 3 до 5 месяцев. Периодические пересевы проводят перед длительным хранением культуры. Этот метод прост и удобен для контроля за чистотой культуры, но он несет один недостаток – вероятность заражения, возникновения мутантов, снижение активности продуцентов биологически важных и ценных веществ.

Хранение под маслом -вазелиновое масло высокоочищенное медицинское, плотность 0,8-0,9, стерильное, слой 1-2 см. Продолжительность хранения культур под маслом различная у разных систематических групп микроорганизмов.

Высушивание – сопровождается потерей клетками свободной воды и при остаточной влажности (10-12%) прекращением развития. Высушивают микроорганизмы также на воздухе в стерильных сорбентах. Высушивание под вакуумом гарантирует большую выживаемость клеток. Наибольшую выживаемость обеспечивает сублимационное высушивание (лиофилизация) и конвекционная (в сухом воздухе) сушка для хранения заквасок молочнокислых бактерий.

Хранение в ампулах лиофилизированных штаммов удобно для транспортировки и длительного хранения большинства культур микроорганизмов.

В целом, метод лиофилизации клеток является наиболее благоприятным для сохранения высокого уровня ферментативной активности продуцентов биологически активных веществ. При этом обеспечивается длительное сохранения жизнеспособности и генетической стабильности признаков различных родов лактобактерий.

При производстве кисломолочных продуктов обычно используют закваски (моно- и поли-штаммовые) различных видов лактобактерий и дрожжей. Молочнокислые бактерии должны обладать определёнными производственно-ценными свойствами: активностью кислотообразования, про-

теолитической и антибиотической активностью, ароматобразованием и другими органолептическими показателями. Дрожжи, используемые при изготовлении кисломолочных продуктов, должны активно сбраживать лактозу, образовывать антибиотические вещества в отношении ряда сапротрофных и патогенных микроорганизмов. Различные виды лактобактерий обладают разной стойкостью при периодических перепрививках в молоке. Наиболее лабильными являются мезофильные молочнокислые стрептококки. На плотных питательных средах они дают S,R и G формы колоний, которые имеют различную биохимическую активность.

Лучшим методом сохранения лактобактерий является их сушка в защитной среде сублимационным методом, что отражается и на качестве продукта, который зависит не только от вида, но и от физиолого-биохимических свойств входящих в него штаммов. Каждая лаборатория, вырабатывающая бактериальные закваски должна иметь собственную коллекцию молочнокислых микроорганизмов. Хранимые культуры должны глубоко изучаться и систематически (планово) проверяться. Для предотвращения плеоморфной дегенерации лактобактерий необходимы частые пересевы их в оптимальную питательную среду и постоянное пополнение коллекции местными штаммами различных географических зон. Систематическое пополнение музея лактобактерий географическим расами молочнокислых бактерий потребует постоянный контроль за поступлением новых штаммов и соответствующей документации хранения коллекции.

## **1.4 Таксономия и значение микроорганизмов**

### **пищевых продуктов**

#### **Систематика прокариот**

Общее количество прокариотных микроорганизмов на нашей планете к настоящему времени составляет  $4-6 \cdot 10^{30}$  клеток, в них содержится 350-550

млрд.т органического углерода, что составляет весьма значительную долю от углерода, запасенного в растениях.

Микробы являются самыми древними обитателями Земли. Их распространение в природе зависит от ряда факторов окружающей среды. Главным следствием глобальной циркуляции для микроорганизмов служит формирование климатических зон. Зональный климат меняется в зависимости от рельефа и перераспределения воздушных потоков, создавая региональные климатические условия. Зависимость биоты от климата была установлена А.Гумбольдом.

Микробное сообщество представляет совокупность взаимодействующих между собой функционально различных микроорганизмов. Они связаны единством времени и пространства. Микробное сообщество подчиняется системным закономерностям. Организация сообщества обеспечивает наибольшую устойчивость в природе.

По мнению Д.И. Никитина разнообразие форм бактерий их численность определяются «комфортностью» среды обитания, а устойчивость биоразнообразия обеспечивается адаптацией к соответствующим внешним условиям.

Огромное разнообразие бактерий определяет необходимость их классификации (лат. Classic – ранг, класс; facio – делаю, распределяю), т.е систематизации и упорядочения бактерий по таксонам (гр. taxon- соподчиненный ранг).

Таксономия или систематика – распределение организмов по группам в соответствии с определенными признаками и установление родственных связей между ними. При этом важна номенклатура (лат. nomenclatura - перечень, наименование) для идентификации (лпт.identifico – отождествление) или опознание ранее известных (уже описанных) бактерий. Иными словами – это система наименований.

В соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры самой мелкой единицей и основной таксономической единицей является вид (species)- это совокупность особей одного генотипа. Далее следует род

(genus), семейство (familia), порядок (ordo), класс (classis), отдел (divisio), царство (regnum).

Культуры микроорганизма одного и того же вида, выделенные из различных субстратов, называются штаммами; культура, полученная из одной клетки – клан. Популяция микроорганизмов, состоящая из особей одного вида, называется чистой культурой.

Наиболее простыми из всех организмов, существующих на Земле, являются прокариоты (безъядерные), а в целом живой мир подразделяют на четыре царства: растения (Plantae), животные (Animalia), грибы (Mycota) и бактерии прокариоты (Procarvotae). В отдельные царства выделены протисты (Protista), архебактерии (Archaea), бактерии (Bacteria), все эукариоты (Eucarya).

Различают естественную (филогенетическую- гр. phyle - род, племя) и искусственную (фенотипическую – гр.phaino- являю) классификации живых микроорганизмов.

Современные системы классификации микроорганизмов – искусственные. Они играют роль диагностических ключей или определителей. Такой искусственной классификацией служит нумерическая (числовая) таксономия М.Адансона. Она содержит около 100 признаков организмов, которые затруднительно применять, поэтому широкого распространения она не получила.

В последнее время стало возможным, помимо морфологических, культуральных и физиологических признаков клетки использовать химические признаки (анализ белка, нуклеиновых кислот, нуклеотидов, оснований ДНК, гибридизация ДНК разных клеток) Хемотаксономические и молекулярно-биологические методы внесли соответствующие дополнения и поправки в крупные таксономические группы, что позволяет ориентироваться в микробиологической литературе. Лучшим руководством по систематике бактерий является «Определитель бактерий Берджи».

По мнению академика Г.А.Заварзина (2003) систематика микроорганизмов, основанная на молекулярных характеристиках гена рибосомальной РНК, очень мало может дать для понимания функциональной роли организма и, тем более, его морфологии. В целом описание групп бактерий по их функционально значимым характеристикам для практических работников удобнее. Например, название рода бактерии *Cytophaga*- пожиратель клеточных стенок (целлюлозы).

Нами приведено описание наиболее важных групп микроорганизмов в соответствии с определителем Берджи, имеющих практическое значение в промышленной пищевой микробиологии и биотехнологии.

Появление и усовершенствование различных методов молекулярной биологии – гибридизационного анализа, секвенирования, молекулярного клонирования и полимеразной цепной реакции (ПЦР) дало многое в оценке биоразнообразия. Результаты экспериментов дополнили и расширили наши представления о микробном разнообразии – на основании анализа отдельных элементов их генетического материала. Применение рибосомальной филогенетики для изучения природных сообществ прокариот основывается на постулате, что каждый организм – член сообщества представлен уникальным типом последовательности гена 16S рРНК. Использование молекулярных методов позволяет получить филогенетическую информацию об отдельных членах сообщества конкретного объекта.

### **Систематика дрожжей**

Современный период систематики дрожжей связан с методами анализа нуклеотидных последовательностей ДНК: ПЦР-анализом, рестрикционным анализом и секвенированием.

Развитие этих методов сыграло ключевую роль в создании филогенетической системы дрожжей. Причем секвенирование нуклеотидных последовательностей позволило установить положение различных групп дрожжей на общем филогенетическом древе грибов. Это привело к существенным пере-

стройкам на уровне родов и более высших аксонов, система которых остается слабо разработанной.

Геносистематика дрожжей имеет дискуссионные аспекты. По-видимому, возможно для всех дрожжей применять единый видовой критерий, прежде всего потому, что это филогенетическая гетерогенная группа микроорганизмов: уровень значимости, характер изменчивости разных признаков для разных видов сильно различаются в разных филогенетических группах.

В последнее время все больше появляется работ с противоречивыми данными по анализам консервативных нуклеотидных последовательностей, подвергающие сомнению положение достаточности генотипических признаков для дифференцирования видов с традиционными, основанными на морфологических и физиологических признаках.

### **Трофические связи микробного сообщества**

Основу связей в сообществе представляет источник питания и использование его микроорганизмами. Полнота использования энергии химических реакций является главнейшим правилом в организации трофической системы любого микробного сообщества. Трофическая система бактериального сообщества основывается на специализации организмов по используемым субстратам и синтезируемым продуктам. При этом важным является процесс адаптации вида организма и сменой их в функциональной группировке. Сообщество микроорганизмов функционирует как единое целое с кооперативными трофическими связями, определяющими ход химических взаимодействий. Соответственно наблюдаются биохимические изменения в субстрате. Однако все изменения в микробном сообществе приводят к само поддержанию и функционированию продукт-субстратных взаимодействий.

Микроорганизмы, обнаруживаемые в пищевых продуктах, можно подразделить на гетеротрофы и автотрофы. Микробная порча продуктов питания – это попытка микроорганизмов-гетеротрофов выполнить свою функцию: использовать органическое соединение (белки, углеводы, липиды и т.д.) за счет химических реакций (циклы С, N, P и т.д.) и сохранить функциональное

сообщество. При этом, не подвергнутые термической обработке пищевые продукты содержат большую общую микробную обсемененность и различные количества бактерий, плесеней или дрожжей. Здесь важно знать какое количество микроорганизмов в грамме или миллиметре является существенным и какие типы организмов представлены в данном продукте.

В конкретном продукте надо знать организмы (бактерии, плесневые грибы, дрожжи, простейшие), место их расположения в природе (почва, вода, растения и т.п.) и «чужеродность» для данного продукта, т.е. основных представителей нормофлоры пищевых продуктов.

### **Микроорганизмы в продуктах питания**

Микробиологическая порча продуктов животноводства может принимать различные формы, но обычно все они являются следствием роста микроорганизмов, проявляющегося в изменении органолептических свойств.

В простейшем случае это может быть следствием самого роста, а зачастую — его видимыми проявлениями, что заметно в случае плесеней, которые образуют большие, иногда пигментированные колонии. Бактерии и дрожжи могут также образовывать видимые (иногда пигментированные) колонии на пищевых продуктах. Возможны и другие виды порчи: образование газов, слизи (внеклеточных полисахаридных веществ), диффундирующих пигментов и ферментов, вызывающих размягчение, загнивание, появление посторонних запахов и привкусов в результате разложения отдельных компонентов пищевых продуктов.

Порча обычно наиболее быстро происходит в белковых охлажденных продуктах — красном мясе (баранине, говядине), птице, рыбе, моллюсках, молоке и некоторых молочных продуктах, в которых создаются благоприятные условия для развития микроорганизмов (они высокопитательны, содержат много влаги и относительно близки к нейтральному значению рН).

В охлажденных продуктах эти изменения могут предотвращать рост микроорганизмов и порчу не полностью, лишь ограничивая ее скорость и характер. Обычно порчу охлажденных продуктов вызывают микроорганизмы,

способные расти в присутствии консервантов. Необходимо различать микроорганизмы, присутствующие в испорченных продуктах, и микроорганизмы, вызывающие порчу (иногда их называют микроорганизмами, вызывающими определенный вид порчи). Последние могут составлять лишь часть микрофлоры, и поэтому органолептическая порча в нем и количество микроорганизмов продукта зачастую слабо связаны.

Полезь от традиционной микробиологии для контроля микроорганизмов, вызывающих порчу, зачастую ограничена, поскольку время, необходимое для получения результатов, составляет значительную часть срока хранения. В последнее время для выявления как микроорганизмов вообще, так и вызывающих определенный вид порчи стали доступны более быстрые молекулярные методы.

Микроорганизмы, вызывающие порчу пищевых продуктов, чаще всего обладают выраженной протеолитической активностью. Их попадание в продукты нежелательно, так как они снижают биологическую и пищевую ценность, а в некоторых случаях делают невозможным использование продуктов в питании. Микроорганизмы способствуют накоплению токсических компонентов, которые могут привести к пищевому отравлению.

Микроорганизмы, вызывающие порчу, можно условно разделить на шесть категорий:

- грамотрицательные (оксидазоположительные) палочковидные бактерии;
- колиформы и энтеробактерии;
- грамположительные спорообразующие бактерии;
- молочнокислые бактерии;
- дрожжи и плесени;
- прочие бактерии.

«В тени» остаются микроорганизмы с поврежденным метаболизмом, которые не способны формировать колонии на селективных питательных средах. Не учтены анабиотические покоящиеся формы микроорганизмов, так

называемые специализированные покоящиеся формы, а также «некультивируемые» формы бактерий. Свойства покоящихся форм прокариот или пролиферативный покой определяется сохранением редуцированной метаболической активности (эндотрофный обмен) и длительностью переживаний условий среды или устойчивостью к повреждающим факторам. Как правило, клетки жизнеспособны, но некультивируемые ограничены условиями роста и, соответственно, нарушением обмена веществ.

## **1.5 Предсказательная микробиология и микробиологическое моделирование**

Прогностическая микробиология — это инструмент, который может быстро дать надежные ответы на вопросы, касающиеся вероятности роста определенных микроорганизмов в заданных условиях, включая условия, которые ранее не тестировались. Для прогнозирования вероятности роста, времени до начала роста или скорости роста микроорганизмов могут использоваться модели. Использование прогностических моделей для описания динамики развития микроорганизмов не ново, и ссылки на такие методы можно найти в публикациях, начиная с 1920-х гг.

Микробиологическое моделирование (или предсказательная микробиология) использует математические модели и уравнения для предсказания роста и активности микроорганизма в продукте с течением времени. Существуют компьютерные программы пакетов, использующие метод Монте-Карло (данные различных параметров, например, pH) для предсказания сроков хранения и безопасности продуктов.

При разработке микробиологической модели обычно используются следующие этапы:

- тщательный выбор и соответствующая подготовка тестируемого микроорганизма;

- инокуляция тестируемого микроорганизма в среду для выращивания (микробиологическую среду или пищевой продукт) с определенными характеристиками;
- хранение среды в контролируемых условиях;
- отбор проб среды через соответствующие интервалы времени для определения заданного тестируемого микроорганизма;
- построение модели, описывающей реакцию целевого микроорганизма;
- проверка правильности предсказаний модели — предпочтительно в продукте, чтобы убедиться в валидности прогноза;
- уточнение или дальнейшее совершенствование модели.

Развитие и выживание микроорганизмов в пищевых продуктах можно прогнозировать, используя компьютер с соответствующим программным обеспечением. Таким образом, появляется возможность оценить срок хранения изделия без проведения микробиологических исследований. Для этого необходимо иметь микробиологическую базу данных, содержащую детальную информацию о поведении микроорганизмов при определенных температурах, значениях pH, наличии консервантов и т.п., математическую базу данных (содержащую модели, которые позволяют рассчитывать и экстраполировать поведение микроорганизмов в определенных условиях), а также «интеллектуальный» интерфейс, который объединяет обе базы.

База данных по основным патогенным бактериям, которые встречаются в пищевых продуктах, уже существует в Великобритании и носит название Food Micromodel. Группа FLAIR начала реализацию программы по подготовке базы данных по микроорганизмам, вызывающим порчу пищевых продуктов. Все накопленные данные впоследствии могут быть объединены в единую систему. Уже сейчас имеется в наличии ряд математических моделей, которые могут использоваться для подобных расчетов.

Применение прогнозной микробиологии в пищевой промышленности может найти широкое применение, особенно в комбинации с барьерной тех-

нологией и концепцией НАССР. Она может использоваться для усиления микробиологической стабильности традиционных видов пищевых продуктов и для оценки уровня стабильности и безопасности новых, впервые разрабатываемых изделий или процессов. Существующие базы данных могут также использоваться регулирующими и нормирующими органами. Модели прогнозной микробиологии следует апробировать на широком ассортименте пищевых продуктов и четко определить (и по возможности преодолеть) различные ограничения, которые могут быть связаны, например, с ферментированностью изделий или их микроструктурой.

### **Система анализа угроз и критических контрольных точек (НАССР)**

**Система НАССР (ХАССП)** — организационная структура производства, состоящая из документов, производственных процессов и ресурсов, необходимых для реализации НАССР.

Эта система обеспечивает контроль на всех этапах производства пищевых продуктов, любой точке процесса производства, хранения и реализации продукции, где могут возникнуть опасные ситуации и используется в основном предприятиями — производителями пищевой продукции. При этом особое внимание обращено на так называемые "критические" контрольные точки, в которых все виды рисков, связанных с употреблением пищевых продуктов, могут быть предотвращены, устранены или снижены до приемлемого уровня в результате целенаправленных мер контроля.

За утверждение систем НАССР высказались также международные организации и иностранные правительственные учреждения. Международная комиссия по микробиологическим спецификациям продуктов питания (ICMSF) в своем отчете за 1988 г., озаглавленном "Применение НАССР для обеспечения микробиологической безопасности и качества", одобрила применение систем НАССР в процессе производства, переработки и обращения с пищевыми продуктами. В 1993 г. Комиссия по Кодексу пищевых продуктов Продовольственной и сельско-

хозяйственной организации/Всемирной организации здравоохранения утвердила документ, который в настоящее время служит своего рода методическим указанием по реализации принципов НАССР в пищевой промышленности различных стран. Семь принципов НАССР, утвержденные Комиссией по Кодексу пищевых продуктов, идентичны принципам, принятым НАСМСФ и положенным в основу разработанного им нормативного документа.

Принципы НАССР включены в недавние директивы Европейского Союза и в программы обеспечения безопасности продуктов питания, осуществляемые правительствами Канады, Новой Зеландии и Австралии.

На сегодняшний день в странах Европейского союза, США, Канаде внедрение и применение метода ХАССП в пищевой промышленности, сертификация систем НАССР являются обязательными.

Система ХАССП в России сегодня используется в основном компаниями, которые занимаются производством продовольственных товаров. Причем стоит заметить, что каждое предприятие может разработать и использовать собственную систему ХАССП, где были бы учтены все основные требования международных стандартов относительно качества пищевой продукции, а также технологические особенности компании. Разработанную систему можно изменять и переделывать, чтобы она в полной мере соответствовала всем изменениям, которые происходят в технологической цепочке .

Система ХАССП должна разрабатываться с учетом семи основных принципов:

1. Проведение анализа опасных факторов (рисков) — путём процесса оценки значимости рисков и их уровня опасности на всех этапах жизненного цикла продукции.
2. Определение критических контрольных точек.
3. Задание критических пределов для каждой ККТ — определение критерия, который показывает, что процесс находится под контролем.

4. Разработка системы мониторинга, позволяющей обеспечить контроль критических контрольных точек на основе планируемых мер или наблюдений.

5. Определение корректирующих действий, которые следует предпринять в случае, когда результаты мониторинга указывают на отсутствие управления в конкретной критической контрольной точке.

6. Разработка процедуры верификации, для подтверждения результативности работы системы ХАССП.

7. Разработка документации в отношении всех процедур и записей, соответствующих принципам ХАССП и их применению.

### **Индикаторные микроорганизмы**

Наличие или отсутствие индикаторного микроорганизма в продукте питания может быть использовано для оценки его безопасности. В случае отсутствия индикатора продукт признается безопасным относительно того патогена, которому соответствует использованный индикатор. Сказанное справедливо для многих патогенов.

В качестве индикаторов безопасности продуктов питания животного происхождения используют санитарно-показательные микроорганизмы микроорганизмы или продукты их метаболизма. В основе системы анализа угроз и критических контрольных точек (hazard analysis and critical control points – НАССП) и требований к безопасности продуктов (food safety objectives – FSO) лежит контроль наличия патогенов, их метаболитов и концентраций. Это позволяет оценить состояние продукта и срок его годности. Оценка текущего качества продукта более желательна.

Выбор организма – индикатора качества выпускаемой продукции должен соответствовать следующим требованиям:

- рост, активность и титр клеток должны негативно коррелировать с качеством продукта;
- организм-индикатор должен легко определяться экспресс-методами;

- он должен быть специфичен для конкретного продукта и выявляться на селективных средах.

Продукты метаболизма также можно использовать для установления микробиологического качества продуктов питания. Широко используются методы определения количества жизнеспособных клеток. Эти методы более ценны при установлении текущего контроля за состоянием продукта, нежели для предсказания сроков его хранения.

Широко распространенным микроорганизмом- индикатором безопасности продуктов является *Escherichia Coli*- колиформные бактерии, представленные 4-5 родами, объединенные в семейство *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* и *Klebsiella*. Пятый род – *Raoutella*, выделили из клебсиелл. Основным местообитанием *E.coli* является ЖКТ большинства теплокровных животных.

Наличие и подсчет колиформных бактерий устанавливаются разнообразными методами для определения минимального содержания их в продукте, условиями производства, хранения и транспортировки, а также системы анализа угроз и критических контрольных точек. Более 25 лет назад для оценки санитарного состояния качества продуктов питания классическим индикатором считала энтерококки, особенно в замороженных продуктах.

В настоящее время для оценки качества продуктов питания применяют микробиологическое моделирование, используя контроль пяти параметров на развитие патогена: pH среды. Температуру, нитриты, NaCl и газовый состав атмосферы.

При рассмотрении системы анализа угроз как метода гарантии сохранности пищевых продуктов необходимо учитывать этапы подготовки и производства, а также:

- ненадлежащую температуру обработки;
- добавление составляющих ингредиентов без их последующей температурной обработки;

- заражение пищевых продуктов через персонал, участвующий в их составлении и обслуживании;

- промежуток времени в 12-14 и более часов между приготовлением и потреблением пищевых продуктов;

- ненадлежащее охлаждение.

Безусловно тесты обследования, проверок и ревизий в области питания, должны постоянно модифицироваться и тогда система анализа угроз и критических контрольных точек будет эффективной. Микробиологические критерии разработки для различных пищевых продуктов к ним следует относиться как к стандартам.

## **1.6 «Технология препятствия» или «технология барьера»**

Микробиологическая стабильность и безопасность большинства пищевых продуктов зависят от комбинации ряда факторов (будем называть их барьерными), действие которых микроорганизмы не должны преодолевать. Такой барьерный эффект имеет фундаментальное значение для сохранения и консервирования пищевых продуктов, поскольку барьерные факторы играют важную роль с точки зрения контроля вероятности микробиологической порчи, пищевого отравления и обеспечения нормального протекания необходимых процессов брожения у стабильных пищевых продуктов. Кроме того, барьерная концепция основана на широко известном факте, что для обеспечения микробиологической стабильности пищевых продуктов важное значение имеет комплексное взаимодействие ряда факторов, в числе которых, например, показатель кислотности, активность воды, температурный режим и т.п.

Понимание роли барьерного эффекта привело к появлению барьерной технологии, которая позволяет повысить уровень безопасности и качество пищевых продуктов путем направленного подбора барьерных факторов. Применение этой концепции, которая в разных источниках также называется комбинационной — комбинационные процессы, комбинационные методы, комбинационное консервирование и т.п., - дало очень хорошие результаты,

поскольку осознанное комбинирование барьерных факторов обеспечивает микробиологическую стабильность, хорошие вкусовые и питательные свойства продуктов и повышает экономичность производства.

Для обеспечения стабильности и безопасности каждого пищевого продукта необходим набор определенных, характерных для него факторов, различающихся по качеству и интенсивности действия в зависимости от вида продукта и удерживающих "в норме" популяцию микроорганизмов, присутствующих в продукте.

Факторы, сдерживающие развитие микроорганизмов  
(барьерный эффект):

- нагрев;
- охлаждение;
- активность воды;
- показатель кислотности;
- окислительно-восстановительный потенциал;
- консерванты.;
- конкурентная микрофлора;
- витамины;
- питательные вещества.

Если с самого начала в продукте присутствует незначительное количество микроорганизмов, то достаточно наличия всего нескольких барьерных факторов или незначительной интенсивности их воздействия для обеспечения стабильности изделия. На этом принципе основана асептическая упаковка скоропортящихся продуктов. С другой стороны, если из-за плохих гигиенических условий в исходном продукте перед упаковкой оказывается слишком много нежелательных микроорганизмов, то даже действие обычных барьерных факторов не сможет предотвратить последующую порчу продукта или пищевое отравление им. Если в продукте содержится много питательных веществ и витаминов, которые стимулируют развитие микроорганизмов, поэтому воздействие барьерных факторов в таких продуктах нужно максимально усиливать, в противном случае их защитные свойства окажутся не-

достаточными. Если, например, споры бактерий в мясных изделиях сублетально повреждены при нагревании, то вегетативные клетки таких спор становятся нежизнеспособны, и поэтому для обеспечения защиты продукта достаточно воздействия меньшего количества барьерных факторов и на более низком уровне.

Микробиологическая стабильность отдельных видов пищевых продуктов (например, ферментированных колбас, сырой ветчины и, возможно, зрелых сыров) достигается в процессе их производства путем последовательного воздействия целого ряда барьерных факторов, которые имеют решающее значение на отдельных этапах созревания продукта и позволяют обеспечить стабильность готового изделия.

Барьерная технология может применяться не только для обеспечения безопасности пищи, но и для повышения ее качественных характеристик. Более того, положительное или отрицательное воздействие отдельных барьерных факторов на качество пищевых продуктов может проявляться в зависимости от интенсивности их действия. Например, слишком быстрое или слишком медленное охлаждение может отрицательно сказаться на качестве фруктов, в то время как плавное охлаждение дает благотворный эффект. Таким образом, для достижения общего высокого уровня качества пищевых продуктов необходимо добиваться оптимального соотношения барьерных факторов, обеспечивающих безопасность и высокое качество изделия.

Под продуктами стабильного хранения — ПСХ (Shelf Stable Products — SSP) стали понимать подвергаемые термической обработке продукты с высоким содержанием влаги, изготовленные с применением барьерной технологии и способные храниться вне холодильника. Такие продукты имеют следующие преимущества: мягкая термическая обработка (от 70 до 110 °С) улучшает вкусо-ароматические и питательные свойства продукта, а отсутствие необходимости держать продукт в холодильнике упрощает его распределение в торговой сети и позволяет экономить электроэнергию. ПСХ подогреваются в специальных герметизированных контейнерах (оболочка, пакет,

банка) во избежание повторного заражения бактериями. Однако из-за мягкости термической обработки эти продукты все еще содержат жизнеспособные споры bacilli и clostridia, жизнедеятельность которых подавлена благодаря регулированию влияния таких факторов, как pH и Eh, а в случае прошедших автоклавную обработку сосисок и колбас — еще и сублетальному повреждению спор.

Различные виды ПСХ отличаются друг от друга тем, какие барьерные факторы имеют для них решающее значение, хотя дополнительное действие других факторов также способствует повышению их безопасности и стабильности.

Стабилизировать по типу Combi — ПСХ можно не только мясные, но и молочные изделия. Примером может служить домашний творожный сыр панир с добавлением томатного соуса, лука и специй. Он пользуется большой популярностью и потребляется в больших количествах в Индии, где ценят его питательность и характерный вкус. Однако при хранении при комнатной температуре (а в Индии это в среднем около 35 °С) панир обычно портится в течение двух дней. При содействии индийского ученого доктора К. Дж. Рао группа немецких специалистов с участием автора этой статьи разработала в Германии продукт по типу Combi — ПСХ в виде сыра панир в банках, прошедших мягкую термическую обработку. Он имел соответствующие вкус (практически как свежеприготовленный), цвет (не бурел) и текстуру (не черствел) и мог храниться в течение нескольких недель без холодильника. После этого опыта такая технология была внедрена в пищевую промышленность Индии, и теперь следует ожидать появления интересных национальных пищевых продуктов.

Таким образом, барьерная технология может успешно применяться в пищевой промышленности для совершенствования традиционных пищевых продуктов и создания новых. Барьерная технология применима также к замороженным и охлажденным продуктам, потому что в случае нарушения температурного режима при их хранении безопасность и стабильность этих про-

дуктов будут сохраняться благодаря действию барьерных факторов. Методы барьерной технологии могут использоваться и при консервировании и обеспечении длительного хранения продуктов, в том плане, что снижаются дозы облучения при замораживании и отпадает необходимость в приложении очень высокого давления при низких уровнях рН и (или) мягком нагреве продуктов.

### **Контрольные вопросы**

1. Роль микроорганизмов в пищевой промышленности.
2. Технически важная микрофлора
3. Группы микроорганизмов используемых в производстве пищевых продуктов.
4. Группы микроорганизмов, контролирующие нормативы безопасности пищевых продуктов
5. Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.
6. Какие микроорганизмы называются санитарно-показательными?
7. Что такое микробиологический синтез?
8. Продукты микробиологического синтеза
9. Взаимоотношения в микробных сообществах
10. Методы хранения продуктов питания с учетом жизнедеятельности микроорганизмов
11. Характеристика покоящихся форм микроорганизмов
12. Создание коллекций микроорганизмов
13. Принципы систематики микроорганизмов
14. Что такое предсказательная микробиология?
15. Индикаторные микроорганизмы
16. Основные принципы системы ХАССП

## **Глава 2. Микрофлора продуктов животного происхождения**

В продуктах животного происхождения в зависимости от их качества, регламентируют следующие виды микроорганизмов:

- заквасочная микрофлора и пробиотические культуры: микроорганизмы в продуктах с нормируемым уровнем микрофлоры;

- санитарно-показательные микроорганизмы – мезофильные аэробные факультативно-анаэробные микроорганизмы (КМА-ФАНМ), бактерии группы кишечных палочек (БГКП), энтеробактерии, энтерококки;
- условно-патогенные микроорганизмы: *Escherichiacoli*, *Staphilococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, бактерии рода *Proteus*;
- патогенные микроорганизмы, в том числе бактерии рода *Salmonella*, *Listeria*, *Yersinia* и некоторые индикаторы качества продуктов: энтерококки, колифаги/энтеровирусы;
- микроорганизмы порчи: дрожжи и плесневые грибы, а также некоторые молочнокислые микроорганизмы.

## **2.1 Микроорганизмы, используемые для ферментированных продуктов**

Основными микроорганизмами, используемым и при производстве ферментированных продуктов, являются молочнокислые пропионовокислые и уксуснокислые бактерии, бифидобактерии и дрожжи.

### **Молочнокислые бактерии**

В природе молочнокислые бактерии обнаруживаются на растениях, разлагающихся растительных остатках, в ЖКТ млекопитающих и насекомых, молоке и молочных продуктах, навозе, сточных водах, промышленных и бытовых отходах. Некоторые авторы убеждены, что растительный материал возможен как единственная их естественная среда обитания. Границы группы «молочнокислые микроорганизмы» неточные, но этой группе присуще одно общее свойство: продуцирование молочной кислоты из гексоза. В природе молочнокислые бактерии представлены в виде шаровидных (кокков) и палочковидных (бактерий) форм. В эту группу входят 13 родов грамположительных бактерий.

Молочнокислые бактерии относятся к царству прокариот, отделу скотобактерий, классу истинных бактерий. Представлены семействами Streptococcaceae (молочнокислые стрептококки) и Lactobacillaceae (молочнокислые палочки).

Молочнокислые стрептококки - грамположительные клетки шаровидной формы. Располагаются попарно, короткими и длинными цепочками.

Стрептококки широко используются при производстве кисломолочных (ферментированных) продуктов. К семейству Streptococcaceae относят роды Streptococcus и Leuconostoc. В род входят виды: Str.lactis, Str.cremoris, Str.diacetylactis, Str.acetoinicus, Str.thermophilus.

Молочнокислые бактерии из рода Leuconostoc: Leu.cremoris, Leu.lactis и Leu.dextranicum используются в молочной промышленности. При развитии на средах содержащих сахар представители рода Leuconostoc образуют слизь.

Молочнокислые палочки относят к семейству Lactobacterium (согласно классификации 1949 года, предложенной Н.А. Красильниковым). В определителе бактерий Берги (1997г.) эти микроорганизмы причислены к семейству Lactobacillaceae и роду Lactobacillus.

Данные микроорганизмы имеют форму палочек, которые располагаются поодиночке, попарно или цепочками. Не сбраживают полисахариды, но способны сбраживать моносахара и дисахариды. Грамположительны, неподвижны, не образуют спор и капсул (кроме Sporolactobacillus inulinus).

Все молочнокислые бактерии вызывающие молочнокислое брожение – сбраживают лактозу и глюкозу до молочной кислоты, некоторые накапливают ацетоин  $\text{CH}_3\text{COCN}(\text{OH})\text{CH}_3$ , диацетил  $\text{CH}_3\text{COCOCN}_3$ , придающие молочнокислым продуктам своеобразный приятный аромат и вкус, особенно если в субстрате есть лимонная кислота.

В природе лактоза встречается только в молоке и молочных продуктах. Потребности в питании молочнокислых бактерий очень сложны. Эволюционно адаптация молочнокислых бактерий к молоку сопровождалась потерей

способности синтезировать многие важные для их жизнедеятельности вещества, поскольку они получают их из молока в готовом виде.

Все молочнокислые бактерии являются факультативными анаэробами, ацидофилами, т.е. кислотоустойчивы, выдерживают (рН 3,5 и менее, спиртоустойчивые (до 6% этанола). Оптимальная температура для развития большинства молочнокислых бактерий 30<sup>0</sup>С, т.е. они относятся к мезофилам. Молочнокислые бактерии, хорошо развивающиеся при температуре 35-40<sup>0</sup>С относятся к термофилам.

Молочнокислые бактерии по характеру вызываемого ими брожения делят на гомо- и гетероферментативные.

Гомоферментативные молочнокислые бактерии (гомолакты) - образуют из сбраживаемых сахаров молочную кислоту и незначительное количество других продуктов. При этом гомоферментативные молочнокислые микроорганизмы способны вырабатывать вдвое больше энергии из данного количества глюкозы, чем гетероферментативные (гетеролакты). Гомоферментативный путь обмена наблюдается, когда метаболизируется глюкоза, но не является обязательным при метаболизме пентоз. Некоторые гомоферментативные молочнокислые микроорганизмы способны вырабатывать уксусную и молочную кислоты при сбраживании пентоз. Характер реакций может быть сдвинут у некоторых штаммов при изменении условий роста, таких как концентрация глюкозы, рН и ограничение питательных веществ.



К возбудителям относятся следующие Молочнокислые бактерии рода *Lactococcus* и рода *Lactobacillus* относятся к возбудителям гомоферментативного молочнокислого брожения (*Lac.lactis*, *Str.thermophilus*, *Lac.cremoris*, *Lb.bulgaricus*, *Lb.lactis*, *Lb.acidophilus*, *Lb.helveticus*, *Lb.casei*, *Lb.plantarum*).

Если при брожении кроме молочной кислоты образуются молочная, янтарная, уксусная кислоты, этиловый спирт, диоксид углерода и молекулярный водород – оно является гетероферментативным.

Гетероферментативное молочнокислое брожение вызывают *Lac.diacetylactis*, *Lac.brevis*, *Lac.fermenti*. Эти бактерии развиваются при температуре 40-45°C. Кроме этого к ним относятся все виды рода *Oenococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium* и род *Bifidobacterium*

При своем развитии молочнокислые бактерии требовательны к питательной среде: им нужны витамины группы В, полный набор аминокислот, компоненты нуклеиновых кислот. Некоторые из них выделяют антибиотики низин, лактолин и лактобревин (*Lac.lactis*, *Lbc.plantarum* и *Lbc.brevis*, соответственно). **Лактококки** (раньше род назывался *Стрептококки*)

Типичным представителем рода *Lactococcus* (от гр. *lacticus* - молочный) является *Lactococcus lactis* (молочный лактококк). Род объединяет три подвида: *Lac. lactis subspecies (subsp.) lactis* (молочный лактококк - *Lac. lactis*), *Lac. lactis subsp. cremoris* (сливочный лактококк - *Lac. cremoris*) и *Lac.lactis subsp. hordniae* (*Lac. hordniae*).

В подвид *Lac. lactis subsp. lactis* отнесен ароматобразующий биологический вариант, который называется *Lac. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* (*Lac.diacetylactis*). В отличие от других видов лактококков, являющихся гомоферментативными микроорганизмами, он образует ароматические вещества- диацетил и ацетоин, способен усваивать цитраты (соли лимонной кислоты) и относится к группе стрептококков цитроворусов. В эту группу вместе с ним входят также два основных представителя рода *Leuconostoc* – *Leu. cremoris* и *Leu. dextranicum*.

Лактококки представляют собой сферические овальные клетки размером 0,5-1,2 x 0,5-1,5 мкм, располагающиеся в виде коротких цепочек, часто попарно; неподвижны, спор и капсул не образуют, грамположительны. Факультативные анаэробы – растут и в аэробных условиях и без доступа молекулярного кислорода. В основном гомоферментативные. Мезофиллы - оптимальная температура роста 30°C, минимальная – 10 °C, рост прекращается при 45 °C. Вызывают свертывание молока в виде ровного плотного сгустка, без обильного выделения сыворотки с приятным кисломолочным вкусом и

запахом. Используются в заквасках для всех видов кисломолочных продуктов и сыров.

### **Лейконостоки**

Род *Leuconostoc* (от гр. *Leucos*- белый, бесцветный – бесцветные слизистые растения) объединяет 9 видов.

Лейконостоки – сферические, несколько вытянутые клетки размером 0,5-0,7 x 0,7-1,2 мкм. Располагаются парами или цепочками. Спор не образуют, не подвижны, грамположительны. Факультативные анаэробы. Оптимальная температура роста 20-30 °С, а минимальная составляет 5 °С. Более требовательны к составу питательных сред по сравнению с лактококками. Молоко является для них бедной питательной средой. Они слабые кислотообразователи, молоко не свертывают, так как предельная кислотность 40-80 °Т. В заквасках используются только вместе с другими молочнокислыми бактериями. Образуют молочную, уксусную, янтарную кислоты, этанол, диоксид углерода, диацетил и ацетоин. Как и *Lac.lactis* subsp. *diacetylactis*, лейконостоки способны образовывать диацетил и СО<sub>2</sub>, они относятся к газообразующей микрофлоре. Однако диацетильный лактококк образует эти соединения только из цитратов, а лейконостоки - из лактозы и цитратов, причем эта способность у лейконостоков является стабильным свойством.

Способность к ароматобразованию наиболее эффективно проявляется при сочетании *Lac. lactis* и *Lac.cremoris*. Лейконостоки вводят в состав заквасок для молока бедного цитратами. Для получения мягкого длительного аромата (стойкое при хранении кисломолочное масло) применяют *Leu. Cremoris*. *Leu.dextranicum* вместе с ароматобразующими стрептококками входит в состав заквасок для сыров, особенно для Рокфора.

В молочной промышленности также широко используются *Leu.lactis* *Leu.mesenteroides*.

### **Термофильный стрептококк**

Род стрептококков содержит один вид молочных кокков - *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. Он относится к факультативным анаэробам, образует в небольшом количестве ацетон и поэтому занимает промежуточное положение между гомо – и гетероферментативными стрептококками. Представляет грамположительные шарообразные или эллипсоидные клетки диаметром 0,7-0,9 мкм, располагающиеся длинными цепочками. Неподвижен, спор и капсул не образует. В старых культурах встречаются деформированные продолговатые и веретенообразные клетки.

Термофильный стрептококк имеет очень широкий диапазон температур роста – от 18 до 53 °С. Оптимальной является температура 39-46°С. Предельная кислотность 110 - 115°Т. отличительной особенностью ферментов термофильных микроорганизмов, развивающихся в диапазоне температур от 50 до 90°С, является не только их термостабильность и более высокий температурный оптимум действия, но и повышенная биохимическая активность. Как правило, наиболее устойчивы к повышенной температуре гидролитические ферменты. В настоящее время установлено, что повышенное содержание ионов кальция существенно влияет на термостабильность белковой молекулы фермента. Некоторые разновидности термофильного стрептококка, образуют слизь, что придает продуктам кремообразную вязкую консистенцию. Выдерживает температуру 75 °С в течение 15 сек и 65 °С в течение 30 мин, способен размножаться в пастеризаторах, вследствие чего может составить значительное количество остаточной микрофлоры молока после пастеризации.

В заквасках часто используется вместе с *Lbc. bulgaricus* в смешанных культурах при производстве йогурта, ряженки, варенца, мечниковской простокваши, сыров с высокой температурой второго нагревания и сыров с чеддеризацией и плавлением сырной массы.

**Лактобактерии (молочнокислые палочки).** Они широко распространены в природе. Их можно обнаружить в молочных, мясных и рыбных продуктах, хлебе, в воде, в сточных водах, вине, пиве, фруктах, квашеных ово-

цах, силосе, сусле. Они присутствуют в ротовой полости, кишечнике, слизистых мочеполового тракта человека и животных.

Лактобактерии распределены в 3 группы:

1. Термобактерии - облигатные гомоферментативные молочные палочки. Из наиболее важных для молочной промышленности видов лактобактерий к этой группе принадлежат *Lb.delbrueckii bulgaricus*, *Lb.lactis*, *Lb.acidophilus* и *Lb.helveticus*. Они являются сильными кислотообразователями, оптимальная температура их развития 40-45 °С.

2. Стрептобактерии - факультативные гетероферментативные палочки. В основном мезофильные, за исключением *Lb.casei subsp.rhamnosum*. Основные представители: *Lb.plantarum*, *Lb. casei*.

3. Бетабактерии - облигатные гетероферментативные лактобациллы. Представители *Lb.brevis*, *Lb.kefir*, *Lb. buchneri*.

## 1. Характеристика основных видов молочнокислых бактерий

Показатель	Lactococcus			Leuconostoc	Str. thermophilus
	lactis	cremoris	diacetylactis		
Морфология	Овальные кокки, соединенные попарно или в цепочках			Овальные кокки, соединенные попарно или в цепочках	Овальные кокки, расположенные поодиночке, парами, в цепочках и скоплениях неправильной формы
Размер клеток, мкм	0,5 x 1,0			0,5 x 0,8	0,7 x 1,0
Сбраживание лактозы	Гомоферментативно с преимущественным образованием молочной кислоты (90-97% от сброженной лактозы), небольших количеств уксусной кислоты и этанола			Гетероферментативное с образованием молочной и уксусной кислот, а также этанола и CO <sub>2</sub>	Гомоферментативно с образованием молочной кислоты
Температура роста					
минимальная	10	10	10	10	15
оптимальная	28-32	22-30	28-32	20-30	40-45
максимальная	40-43	38	40	37	53-55
Рост при температуре					
40 °С	+	-	+	-	+
45 °С	-	-	-	-	+
Время сквашивания молока				Большинство культур молока не свертывают	
1 %	10-12 ч	10-12 ч	10-48 ч		10-16 ч
3-5 %	4-7 ч	5-7 ч	4-18 ч		3,5-6 ч
Предельная кислотность (7 сут. при опт. температуре), °Т	100-125	110-120	80-120	Обычно не превышает 40-50, редко достигает 70-80	100-120
Рост при содержании NaCl					
4 %	+	-	+	-	-
6,5 %	-	-	-	-	-
Рост в молоке после нагревания 30 мин при:					
55 °С	+	+	+	-	+
60 °С	-	-	-	-	+
Образование CO <sub>2</sub> из глюкозы	-	-	-	+	-
Сбраживание цитратов с образованием CO <sub>2</sub> и диацетила	-	-	+	+	-

Все лактобактерии представляют собой палочки размером 4-15 x 0,5-0,6 мкм. Встречаются изогнутые и булавовидные формы (коринеформы). Как правило, не подвижны, спор и капсул не образуют, грамположительны.

Молочные палочки являются факультативными анаэробами или микроаэрофилами и лучше растут при пониженном содержании кислорода. При развитии в молоке молочные палочки вызывают образование однородного плотного сгустка с приятным кисломолочным запахом и вкусом. Температурные границы роста для термофильных 20-55°C, для мезофильных 15-38°C. Оптимальная рН составляет 5,5-6,2.

На обычных питательных средах лактобактерии не растут, их выращивают на средах с молоком. При росте в гидролизованном молоке наблюдается помутнение среды и осаждение клеток после прекращения роста. На плотных питательных средах лактобациллы формируют округлые мелкие (2-5 мм) гладкие блестящие колонии, серо-белого цвета со сферической поверхностью.

В качестве заквасочных микроорганизмов чаще применяют:

*Lb.helveticus*(швейцарская палочка) - самый активный кислотообразователь; предельная кислотность 350°Т. Выделяется из сычугов телят и ягнят, а также сырого молока. Используется в составе заквасок для твердых сыров с высокой температурой второго нагревания.

*Lb.bulgaricus*(болгарская палочка). Предельная кислотность в молоке до 200-300°Т. Образуют ацетальдегид – ароматическое вещество, придает вкус и запах продукта, а также подавляет нежелательную микрофлору кишечника. Штаммы выделяют из сырого молока. Применяется в составе заквасок для болгарской простокваши, йогурта, ряженки и др.

*Lb.lactis* (молочная палочка). По своим свойствам сходна с болгарской палочкой. Предельная кислотность молока достигает 120-180°Т. Используется в заквасках для сыров.

*Lb.acidophilus* (ацидофильная палочка). Представитель облигатной микрофлоры кишечника человека и животных. После культивирования в мо-

локе способна приживаться в кишечнике человека и подавлять развитие патогенных и нежелательных микроорганизмов, что обусловлено продуцируемым антибиотическим веществом – ацидофилином и лактоцидином. Многие штаммы являются слизеобразующими (вязкими).

*Lb. plantarum* и *Lb. casei* способны усваивать кроме лактозы также соли молочной кислоты (лактаты). Обладают высокой протеолитической активностью (в 2 раза выше, чем у мезофильных стрептококков) и повышают содержание свободных аминокислот в молоке с 10 до 60 мг%. Их используют при созревании многих видов сыров, так как могут развиваться при содержании соли в концентрации до 6%. *Lb. plantarum* продуцирует антибиотик лактолин угнетающе действующий на кишечную микрофлору и маслянокислые бактерии.

Основные виды лактобактерий, используемые в молочной промышленности приведены в таблицах 2 и 3.

### **Бифидобактерии**

Бифидобактерии являются доминирующей группой кишечной микрофлоры здорового человека и теплокровных животных. Они проявляют антагонистическую активность по отношению к патогенным, условно-патогенным и нежелательным гнилостным микроорганизмам в кишечнике. Это свойство связано с образованием антибиотических веществ, выделяемых некоторыми штаммами бифидобактерий. Они ингибируют рост эшерихий, сальмонелл, стафилококков, клостридий, палочек протей и дизентерийной палочки. Метаболиты бифидобактерий разрушают канцерогенные вещества, образующиеся некоторыми микроорганизмами в кишечнике при азотном обмене, выполняя роль «второй печени». В 1 г содержимого толстого кишечника взрослого человека содержится несколько миллиардов клеток бифидобактерий, всего же находится более 1 кг клеток микроорганизмов.

Бифидобактерии относятся к семейству Actinomycetaceae, роду *Bifidobacterium*, который включает более 20 видов. Типичным представителем рода является *B. bifidum* (от лат. раздвоенный - *bifidus* ).

Бифидобактерии - это переменные мелкие палочки. От лактобактерий отличаются образованием ответвленных, разделенных перегородками палочковидных форм, очень напоминающих актиномицеты и коринебактерии (прямые, изогнутые, разветвленные, булавовидные, раздвоенные V- или Y-формы). Клетки бифидобактерий грамположительные, спор и капсул не образуют. Клетки, размером 0,5-1,3 x 1,5-8,0, располагаются по одиночке, парами, розетками, цепочками.

Бифидобактерии - строгие анаэробы, Могут приобретать способность развиваться в присутствии небольшого количества кислорода в процессе культивирования. Оптимальной температура развития бифидобактерий - 36-40°C, Оптимальное значение активной кислотности 6-7.

Из-за присутствия в молоке кислорода бифидобактерии не сквашивают молоко или сквашивают его очень через 3-4 суток. Однако, специально подобранные и активные штаммы образуют сгусток за 18-20 часов.

Бифидобактерии сбраживают сахара с образованием уксусной, молочной кислоты, небольшого количества муравьиной и янтарной кислот. В качестве стимуляторов роста для бифидобактерий в молоке являются обезжиренная соя, экстракт картофеля, тростниковый сахар, морковный сок.

## 2. Характеристика основных видов молочнокислых палочек и бифидобактерий

Показатель	Lactobacillus					Bifidobacterium
	plantarum	casei	acidophilus	bulgaricus	helveticus	
Морфология	Палочки с закругленными краями, расположенные в коротких и длинных цепочках					Полиморфные палочки: прямые и изогнутые, с бифуркациями. Располагаются в виде V, иероглифов
Размер клеток, мкм	Толщина 0,5-1 Длина 0,7 -8		Толщина 1-1,5 Длина 3-40	Толщина 1-1,5 Длина 2-20	Толщина 0,5-1 Длина 0,7-8	Толщина 0,5-0,7 Длина 2-8
Наличие хроматических зерен	-	-	+	+	-	Возможно образование грануляций при сохранении контуров клетки
Сбраживание лактозы	гомоферментативно	гомоферментативно	гомоферментативно	гомоферментативно	гомоферментативно	С образ. молочной и уксусной кислот в соотношении 2:3 с примесью муравьиной и янтарной к-т
Температура роста, °С	15	15	30	22	22	20
минимальная	30	30	37-38	40-45	40	36-38
оптимальная	38	38	55	53	50	45-50
максимальная						
Рост при температуре	±	±	+	+	Может расти в молоке при 55 ОС	+
40 °С	-	±	+	+		+
45 °С						

Продолжение таблицы 2

Время сквашивания 1 % 3-5 %	2-5 сут. 1-3 сут.	2-5 сут. 1-3 сут.	10-12 ч. 3-5 ч.	8-12 ч. 3-5 ч.	10-12 ч. 4-5 ч.	Большинство штаммов не сквашивают стерильное молоко. Если сквашивают, то за 1-4 суток
Предельная кислотность (7 сут. при оптимальной температуре), ОТ	80-200	80-200	180-300	200-350	250-300	120-160
Рост при содержании 6% NaCl	+	+	-	-	-	-
Рост в молоке после нагревания 30 мин при: 55 °С 60 °С	Выдерживают кратковременную пастеризацию при темп. 72-74 ОС					
Сбраживание цитратов с образованием CO <sub>2</sub> и диацетилла	-	+	-	-	-	

Бифидобактерии используют при изготовлении кисломолочных продуктов для детей и пробиотиков, содержащих живые клетки молочнокислых бактерий, специально подобранные преимущественно из представителей нормальной микрофлоры человека. Они способствуют нормализации микрофлоры кишечника, синтезируют витамины группы В, витамин К, незаменимые аминокислоты (в качестве источника азота используют аммиак).

### **Дрожжи**

Грибы, вегетативная стадия которых представлена одиночными почкующимися или делящимися клетками, называют дрожжами. Дрожжи обладают всеми основными свойствами и признаками грибных организмов, являясь эукариотами с адсорбционным типом питания.

Дрожжи имеют более высокую скорость обмена веществ по сравнению с грибами, т.е. значение отношения площади поверхности к ее объему у них выше. Они растут и размножаются с большей скоростью, вызывая существенные процессы в окружающей среде. Дрожжи исторически рассматривают отдельно от других грибов. Техника культивирования, методы изучения и идентификации дрожжей более сходны с бактериологическими, чем микологическими.

Дрожжи – это эукариоты, высшие грибы, утратившие способность образовывать мицелий и превратившиеся в одноклеточные организмы. Являются основными возбудителями спиртового брожения. Используются в хлебопечении, для получения спирта, в пивоварении, при производстве некоторых кисломолочных продуктов. Кроме этого дрожжи могут нанести значительный урон в некоторых отраслях пищевой промышленности.

В природе дрожжи встречаются в нектаре цветов, в соке деревьев, на поверхности сладких плодов и листьев, в лесной подстилке, почве и водоемах. Дрожжи являются обитателями пищеварительного тракта человека и животных, а также кожных покровов.

Дрожжи представляют собой одноклеточные круглые, овальные, крупные (10-15 мкм в диаметре) неподвижные клетки. Грамположительны, капсулы не образуют. Размножаются почкованием, реже делением. Вегетативные клетки дрожжей способны образовывать сумки, включающие в себя 1-4, реже 8 спор. В благоприятных условиях споры разбухают, прорастают и превращаются в почкующиеся клетки дрожжей, представляющие ложный мицелий. Характер вегетативного размножения дрожжей, их способность к спорообразованию и половому размножению положены в основу их классификации.

В молоке и молочных продуктах чаще всего встречаются спорогенные дрожжи, сбраживающие углеводы. К ним относятся семейства *Saccharomycetaceae* (например, родов *Zygosaccharomyces* и *Saccharomyces*) – Кроме них часто встречаются аспорогенные дрожжи слабо сбраживающие или не сбраживающие углеводы - семейства *Torulopsidaceae* (например, родов *Candida*, *Mycoderma* *Torulopsis*, –. Дрожжи являются основными возбудителями спиртового брожения в продуктах  $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 \uparrow + E$

ГЛЮКОЗА ЭТИЛОВЫЙ СПИРТ

В зависимости от биохимической активности, способности развиваться в молоке и ферментировать лактозу дрожжи делят на 3 группы.

*В первую группу* отнесены неспорообразующие, не ферментирующие углеводы ( дрожжи *Candida mycoderma*).. Развиваются на поверхности кисломолочных продуктов при их хранении и не способны к спиртовому брожению.

*Вторую группу* представляют спорообразующие дрожжи *Saccaromyces cartilagenosus*, не ферментирующие лактозу. Они ферментируют мальтозу с образованием газа. Эти дрожжи называют «дикими», так как в производстве не применяются, но хорошо развиваются с молочнокислыми бактериями.

*В третью группу* относят дрожжи, ферментирующие лактозу. Это спорообразующие дрожжи *Saccaromyces lactis*, *Zygosasacharomyces lactis*, *Fabospora fragilis*, а также неспорообразующие - *Torulopsis kefir* и *Candida pseudotropicalis var.lactis*. Представители этой группы могут входить в состав

микрофлоры кефирных грибков, их вводят в состав заквасок для производства других кисломолочных продуктов.

Большинство дрожжей являются факультативными анаэробами и аэробами. Лучше растут в кислой среде. Дрожжи являются мезофилами - оптимальная температура развития 25-30°C. Клетки дрожжей погибают при пастеризации 75-78°C с выдержкой 15-30 сек. Минимальная температура развития дрожжей 5-12°C. Хотя некоторые виды дрожжей способны развиваться и при невысоких отрицательных температурах (до -8°C).

Дрожжи способны продуцировать в продуктах не только спирт, но и витамины группы В, а также антибиотические вещества, подавляющие развитие патогенов. Продукты жизнедеятельности дрожжей активизируют развитие молочнокислых бактерий. Интенсивное развитие дрожжей в продуктах может приводить к порокам и порче.

### **Уксуснокислые бактерии**

Типичными представителями уксуснокислых бактерий, относящихся к роду *Acetobacter* являются *Acetobacter aceti*. Это подвижные изогнутые палочки размером 0,6-0,8 x 1,0-4,0 мкм, располагающиеся поодиночке, попарно, цепочками. Не образуют спор и капсул. Грамотрицательны. Являются облигатными аэробами. Температурные пределы развития от 5 до 42°C. Оптимальная температура роста 25 - 30°C. Оптимальная для развития и роста pH 5,4-6,3, но способны расти pH 4,0-4,5.

Ацетобактерии окисляют спирт в аэробных условиях до уксусной кислоты:



ЭТИЛОВЫЙ СПИРТ                      УКСУСНАЯ КИСЛОТА

В молоке уксуснокислые бактерии лактозу практически не усваивают и развиваются плохо. Однако способны активно развиваться в присутствии молочнокислых бактерий, которые образуют молочную кислоту и лактаты. При

развитии некоторых штаммов уксуснокислых бактерий образуются флавины в следствии чего на поверхности сгустка молока образуется оранжевое кольцо.

Большинство штаммов уксуснокислых бактерий не нуждается в витаминах и растут на простых и сложных питательных средах. Хорошими источниками углерода для них являются этанол и молочная кислота. Лактозу не гидролизуют. Хорошо окисляют аминокислоты. Уксусную и молочную кислоты окисляют до диоксида углерода и воды.

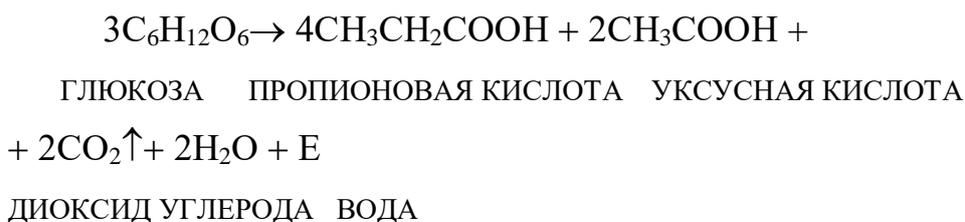
В природе встречаются на овощах, фруктах, в скисших фруктовых соках, в уксусе, алкогольных напитках, садовой почве. Являются постоянным представителем грибковой закваски (кефирного грибка), «чайного гриба» участвуют в формировании вкуса и аромата этих напитков. При излишнем развитии могут вызывать порок – ослизнение и тягучесть.

### **Пропионовокислые бактерии**

Род *Propionibacterium* входит в состав семейства *Propionibacteriaceae*. Вид *Propionibacterium shermanii* широко используют в сыроделии.

Пропионовокислые бактерии - мелкие неподвижные, грамположительные полиморфные палочки не образующие спор и капсул. Являются факультативными анаэробами. Клетки пропионовокислых бактерий могут быть шаровидными, удлинёнными, раздвоенными или разветвленными. Располагаются одиночно, попарно, короткими цепочками, а также в виде букв Y, V или в виде китайских иероглифов. Лучше растут в присутствии воздуха, но могут расти и в аэробных условиях.

Во время пропионовокислого брожения происходит сбраживание моносахаров, молочной и яблочной кислот в пропионовую и уксусную:



Молоко пропионовокислые бактерии свертывают через 5-7 дней. Оптимальная температура развития 30-37°C при pH около 7. Предельная кислот-

ность - 160-170 °С. Хорошо развиваются на средах с солями аммония. Для активного роста в среде должно быть достаточно аминокислот и витаминов (пантотеновая кислота, тиамин и биотин).

Пропионовокислые бактерии выделяют из почвы, кефира, силоса, сычужных сыров, желудочно-кишечного тракта жвачных животных.

Лучшие твердые сыры обязаны своими высокими качествами участию в процессе их созревания пропионовокислых бактерий. Если пропионовокислые бактерии не размножаются в сыром тесте (бактерии довольно требовательны к условиям роста), то сыр хорошим не получается. Требуется управляемое культивирование, которое зависит от глубины понимания физиологии микроорганизмов. После окончания молочнокислого брожения наступает стадия пропионовокислого брожения, придающем сырам острый вкус и отвечающем за образование рисунка сыра (глазков), за счет образующегося диоксида углерода.

Пропионовокислые бактерии могут синтезировать ряд веществ с антивирусной активностью (пропионины), бактериоцины, ингибирующие ряд грамотрицательных, грамположительных бактерий, а также различные дрожжи и плесени. Пропионовокислые бактерии (*P. jensenii*) образуют устойчивый белок с низким молекулярным весом и с ингибиторной активностью против ряда молочнокислых бактерий. Метаболизм диких природных форм настроен на высокий уровень синтеза витамина В<sub>12</sub>. В условиях, ингибирующих биосинтез витамина В<sub>12</sub>, образование пропионовой кислоты подавлено и основным продуктом брожения в этом случае становится уксусная или смесь уксусной и муравьиной кислот.

Первым исследователем микрофлоры русских сыров был А.Ф. Войткевич. Он описал изолированные пропионовокислые бактерии, которые по своим свойствам напоминали *V. acidipropionica*. У этих бактерий витамин В<sub>12</sub> участвует в реакции изомеризации сукцинил-КоА в метилмалонил-КоА – называемой ключевой реакцией пропионовокислого брожения. Она определя-

ет завершенность брожения и образование пропионата как конечного продукта. Витамин В<sub>12</sub> участвует в синтезе ДНК.

**Слизеобразующие бактерии** (*Brevibacterium linens*) участвует в образовании слизи на поверхности сыров. Род *Brevibacterium* объединяет 4 вида, выделен в группу коринебактерий.

В молочных культурах бревибактерии представляют собой палочки неправильной формы, размером 0,6-1,2x1,5-6 мкм, одиночные, в парах или V-образные («*brevis*» в переводе означает «короткая»). В старых культурах распадаются на мелкие кокки. Строгие аэробы. Широко распространены в молочных продуктах, обнаруживаются на коже человека. Могут расти при концентрации NaCl до 20%

Культуры получают путем выращивания в специальных сосудах на агаровых питательных средах с различными источниками азота и углеводами. Как только поверхность питательной среды полностью зарастает, бактерии смывают стерильным физиологическим раствором. Суспензии клеток в растворе поваренной соли поставляют как заквасочные культуры.

Главные источники обитания *Br. linens* поверхность слизневых и грибных сыров. Интенсивный рост *Br. linens* на поверхности Дорогобужского, Лимбургского сыров начинается на 6 сутки созревания. На поверхности они составляют 90-95% микрофлоры сырной слизи.

Вид и количество бревибактерий на поверхности сыра зависит от pH сыра и температуры созревания. При температуре 7,7-9,4°C в микрофлоре слизи доминирует *Br. erythrogenes*, при 12,7-14,4°C - *Br. linens*. Это варианты одного и того же вида, отличающиеся цветом пигмента образуемого в лакмусовом молоке после длительной инкубации: *Br. linens* образует желтый, *Br. erythrogenes* - кроваво-красный пигмент. Максимальная температура роста - 30-38°C. При 62,8°C погибает в течение нескольких минут. *Br. linens* присутствует и во внутренних слоях сыров, созревающих с участием сырной слизи.

*Br. linens* нуждается в пантотеновой кислоте и некоторых витаминах группы В, которые синтезируются дрожжами. Таким образом, дрожжи не

только повышают рН поверхностных слоев сыра до благоприятного для роста *Br. linens* уровня, но и синтезируют для него факторы роста.

*Br. linens*, в отличие от дрожжей и молочнокислых бактерий, обладает высокой активностью в расщеплении аминокислот с образованием ароматических соединений (альдегидов, спиртов, метанола и его производных, например, тиоэфиров и др.) и умеренной липолитической активностью. Протеолитическая и липолитическая активности *Br. linens* играют важнейшую роль в формировании специфических органолептических показателей слизневых сыров, хотя эта роль изучена недостаточно.

### **Плесневые грибы**

Большинство созревших сыров – это продукт жизнедеятельности молочнокислых бактерий, несколько хорошо известных сыров обязаны своими индивидуальными характеристиками другим родственным микроорганизмам. Используются смешанные культуры лакто- и пропионобактерий, для голубых сыров, таких как рокфор используют *Penicillium roqueforti*, которые оказывают влияние при созревании и придают испещренный голубыми прожилками характерный внешний вид для этого типа сыра.

Сыры, вырабатываемые с добавлением плесневых грибов, благодаря специфическому вкусу и аромату и нежной консистенции становятся все более популярными. Они подразделяются на сыры с поверхностным ростом плесневых грибов и сыры с развитием плесневых грибов по всей массе (интерьеру). Из плесневых грибов в сырах первого класса главную роль играет *Penicillium camemberti* (сыры бри и камамбер), в сырах второго класса - *Penicillium roqueforti* (сыр рокфор и др.).

Различные виды грибов имеют мицелий разного цвета и разную протеолитическую активность: *P. caseicolum* (старое название *P. candidum*) - мицелий белого цвета; *P. camemberti* (старое название *P. album* - белая плесень), мицелий которого сначала белый, а на 10-14 сутки приобретает бледную серо-зеленую окраску; *P. album* образует пушистый мицелий; *P. caseicolum* образует мицелий трех видов: плотный, с короткими, тесно перевитыми нитями; с

длинными, высокими, свободно расположенными нитями и типа «невшатель» (neufchatel), очень быстро образующийся толстый, бело-желтый мицелий. Последний вариант обладает самой высокой протеолитической и липолитической активностью. В настоящее время *P. caseicolum* рассматривают как белый мутант *P. camemberti*. Местом обитания его является поверхность некоторых сыров и помещения вырабатывающих эти сыры заводов, особенно камеры для созревания и соляные бассейны. По сравнению с другими видами пенициллов *P. camemberti* растет медленно: 25-35 мм на сусло-агаре за две недели при 25°C, причем белый мутант растет более медленно. Время до появления светло-зеленой окраски мицелия может варьировать в широких пределах (от 4 до 14 суток при 22°C).

Суспензию спор *P. camemberti* наносят на поверхность сыров с помощью ватного тампона или пульверизатора, а также распыляют в камерах для созревания. Физико-химические условия на поверхности сыров неблагоприятны для прорастания спор. Для ускорения развития *P. camemberti*, французские ученые предложили обсеменять поверхность сыров не спорами, а мицелием, который выращивают на сывороточной среде при периодическом перемешивании в течение 1-3 суток. Это на 30% сокращает период между инокулированием сыра и появлением видимого роста плесени на поверхности головки, а также повышает качество сыра.

*P. roqueforti* широко распространен в природе. Оптимальная температура для *P. roqueforti* 35-40°C, но он растет хорошо и при низких температурах. Даже при 7°C многие штаммы, дают достаточно быстрый рост. Растет при pH от 3 до 10,5, но при 4,0 лучше, чем при 6,0. Рост не прекращается даже в присутствии 5% молочной кислоты. Концентрация соли 6-8% тормозит рост некоторых штаммов, хотя предельная концентрация соли - больше 20%. Низкие концентрации (1-3%) стимулируют рост. Оптимальная концентрация соли 1-3% для *P. roqueforti* активизируют образование внеклеточных протеиназ (кислую и нейтральную), расщепляющие казеины.

Сухие препараты *P. roquefortii* готовят централизованно, используя хлеб в качестве основы среды для накопления его биомассы. Вносят их из расчета 3—4 г/100 кг молока.

Следует отметить, что сыры, которых свыше 400 разновидностей, сгруппированы или классифицированы в соответствии с текстурой, содержанием влаги, степенью созревания, созреванием при помощи бактерий или плесеней, делят на твердые, полутвердые и мягкие. Низкое содержание влаги твердых и полутвердых вызревших сыров делает их невосприимчивыми к порче под действием большинства микроорганизмов, хотя плесени могут расти на этих продуктах. Низкий окислительно-восстановительный потенциал (Eh) вызревших сыров может поддерживать рост анаэробов. Поэтому анаэробные бактерии иногда вызывают порчу этих продуктов (особенно бактерии рода *Clostridium* – *C. Butyricum*, *C. Sporogenes*).

## **2.2 Микроорганизмы – возбудители порчи (пороков) пищевых продуктов**

Многие пороки продуктов, вырабатываемых из сырья животного происхождения, возникают в результате присутствия посторонней микрофлоры. Казалось бы, молочнокислые бактерии, благоприятны для здоровья человека, однако встречается информация о некоторых из них, как возбудителей болезней человека и животных, а также некоторые виды лейкококков, педиококков, энтерококков. Даже при соблюдении технологии и поддержания санитарно-гигиенических условий производства в продуктах присутствует остаточная и вторичная микрофлора. К возбудителям пороков относятся:

### **Гнилостные бактерии**

Гнилостные бактерии могут встречаться в почве, воде, воздухе, пищевых продуктах, кишечнике человека и животных.

Среди гнилостных бактерий встречаются аэробны и анаэробны, спорообразующие и бесспорные. Большинство гнилостных бактерий являются мезофилами, но среди них есть психрофилы, и термофилы. Увеличение содер-

жание в среде поваренной соли и кислая реакция среды действуют на них отрицательно.

Гнилостные бактерии имеют неодинаковую протеолитическую активность. Некоторые представители их расщепляют белковую молекулу до пептонов, полипептидов и аминокислот, другие до более простых азотистых и безазотистых веществ, образующихся при распаде аминокислот. В присутствии кислорода протекает процесс аэробного гниения. В результате процесса аммонификации образуются аммиак, диоксид углерода, вода, а также сероводород и меркаптаны, дающие запах тухлых яиц. Аммонификация осуществляется аэробными, факультативно-анаэробными и анаэробными микроорганизмами. Это наиболее распространенный вид порчи пищевых продуктов.

*Аэробные спорообразующие бактерии* - это грамположительные палочки, образующие термоустойчивые споры. Они относятся к семейству Bacillaceae, роду Bacillus. В зависимости от вида могут располагаться поодиночке, попарно и цепочками.

В продуктах животного происхождения чаще всего встречаются Bac.subtilis (сенная палочка), Bac.mesentericus (картофельная палочка), Bac.megaterium (капустная палочка), Bac.cereus, Bac.mycoides (грибовидная палочка). Они участвуют в процессах гниения. В зависимости от глубины распада возникают такие пороки как горький гнилостный запах и вкус, бомбаж, плоско-кислая порча консервов.

Все спорообразующие гнилостные микроорганизмы представляют собой довольно крупные толстые палочки, размером 0,5-2,5 на 1,2-10 мкм (у кластридий - до 20 мкм). Они грамположительные, подвижные, до момента спорообразования, капсул не образуют. На МПА аэробные бациллы вырастают в виде крупных колоний серовато-белого цвета.

Основные и наиболее распространенные представители гнилостной микрофлоры: bacillus subtilis (сенная палочка); bacillus mycoides (грибовидная палочка); bacillus mesentericus (картофельная палочка); Bacillus cereus (палочка цереус) Многие гнилостные микроорганизмы способны развиваться

при недостатке кислорода, устойчивы к высокой концентрации поваренной соли и сахара, способны продуцировать ядовитые вещества.

Семейство Enterobacteriaceae (роды *Proteus* и *Escherichia*) объединяют бесспорные факультативно-анаэробные гнилостные бактерии. Их представители - грамотрицательные подвижные бесспорные палочки, размером 1-2 на 0,6 мкм, располагающиеся поодиночке. Спор и капсул не образуют. В основном мезофилы. На МПА образуют окрашенные в цвет пигмента округлые блестящие полупрозрачные колонии. Некоторые из этих палочек способны разлагать не только белки, но и жиры, т.е. обладают не только протеолитическими, но и липолитическими свойствами.

*Бесспорные гнилостные пигментообразующие бактерии: Pseudomonas fluorescens* (флуоресцирующая палочка), *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка), *Serratia marcescens* (чудесная палочка). Грамотрицательны, строгие аэробы, не образующие спор и капсул. Могут развиваться при температуре  $-2 - +5^{\circ}\text{C}$ , однако оптимальная температура развития  $15 - 20^{\circ}\text{C}$ . Сбраживают углеводы с образованием кислот, продуцируют слизь. Обладают высокой липолитической и протеолитической активностью. Снижают свою активность и плохо развиваются при pH ниже 5,5 и увеличении концентрации поваренной соли до 5 – 6%.

Некоторые виды псевдомонад являются возбудителями заболеваний животных и растений, но также являются антагонистами многих бактерий и плесеней потому что вырабатывают антибиотические вещества. При длительном хранении продуктов в охлажденном состоянии вызывают пороки цвета, изменяют вкус и запах молочных продуктов.

*Флуоресцирующие псевдомонады* выделяют зеленовато-желтый водорастворимый пигмент.

Синегнойная палочка образует пигмент сине-зеленого цвета, который состоит из двух пигментов – голубого и желтого.

Чудесная палочка способна образовывать на молочных продуктах красные пятна, является возбудителем таких пороков в молочных и мясных продуктах, как едкий запах, горький и прогорклый вкус.

Конечными продуктами анаэробного гниения, протекающего при отсутствии кислорода выделяются вещества являющиеся трупными ядами, вызывающие пищевые отравления ( фенол, скатол, индол, крезол), а также диоксид углерода и аммиак.

*Гнилостные факультативные анаэробы* – самые распространенные бактерии рода *Proteus* (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*). Вызывают гниение яиц (порок – черная гниль), при котором содержимое яйца разжижается и принимает коричневатый или черный оттенок. Образующиеся газы часто разрывают скорлупу, и содержимое загрязняет соседние яйца.

*Гнилостные облигатные (строгие) анаэробы* - возбудители анаэробного гниения относятся к семейству *Bacillaceae*: род *Clostridium* (маслянокислые бактерии). Клостридии относятся к группе первичных анаэробов, способны разлагать практически все полимерные соединения, вызывая их гидролиз и создавая мономеры, которые затем используют их как источники энергии. Продуктами метаболизма анаэробов являются водород, диоксид углерода, летучие жирные кислоты и спирты. Метаболиты клостридий (кислоты, спирты и их производные) находят широкое практическое применение. Тип питания у них – гетеротрофный, они сапротрофы или паротрофы (патогены – возбудители раневых инфекций, пищевых отравлений).

В молоке и молочных продуктах наиболее часто встречаются следующие виды: *C. perfringens*, *C. putrificum*, *C. sporogenes*, *C. Subterminalis*, *C. butiricum*. По морфологическим признакам это грамположительные подвижные палочки, располагающиеся поодиночке и цепочками. Образуют устойчивые споры. Перед началом спорообразования в клетках накапливается подобное крахмалу запасное вещество - гранулеза.

Возбудителем микробиологического порока бомбажа консервов является *C. nitrificans*. За счет развития клостридий и выделения большого количе-

ства газов (водорода, углекислого газа, сероводорода) повышается внутреннее давление. Пищевые отравления при потреблении продуктов животного происхождения, рыбы и гидробионтов наиболее часто вызывают *C. perfringens* и *C. botulinum*.

Маслянокислые бактерии сбраживают углеводы: полисахариды (декстрин, агар, крахмал), моносахара, дисахариды, молочную, пировиноградную и другие кислоты, и еще многие разнообразные соединения. Они характеризуются четко выраженным бродильным типом метаболизма; играют большую роль в цепи превращений углерод- и азотсодержащих соединений.

Маслянокислые бактерии широко распространены в природе. Встречаются в почве, загрязненной воде, навозе, в молоке, сыре и пр. Маслянокислые клостридии являются наиболее нежелательными возбудителями порчи твердых сыров.

При наступлении неблагоприятных условий клостридии не погибают, а переходят в другое состояние, в состояние споры – эндоспоры. Бактериальные эндоспоры формируются внутри клетки и обладают специфическими споровыми структурами. Это состояние клетки возникает как результат физико-химических структурных превращений внутриклеточных компонентов, приводящих к их стабилизации и метаболической инертности – анабиозу.

Маслянокислое брожение активнее протекает при 35<sup>o</sup>C с образованием уксусной, молочной, иногда пропионовой кислот. Также в результате брожения образуются этиловый и бутиловый спирт.



Важное значение для клостридий имеет реакция среды. В нейтральной и щелочной среде маслянокислые бактерии образуют 92% масляной и 7-8% уксусной кислот. К концу брожения концентрация этих кислот не уменьшается, но процесс брожения затухает. Если добавлять к среде источники углерода и азота, процесс продолжится, но будут образовываться восстановленные продукты по типу «условно спиртового брожения». Это явление двухфазности

брожения (диауксия) было открыто: В.Н. Шапошниковым у маслянокислых и ацетонобутиловых бактерий; Ж.Моно у *E.coli*; В.Брусилловским у молочнокислых бактерий; О.Д.Сидоренко, А.С.Шувариковым у молочнокислых бактерий закваски курунги.

### **Кокки**

Шаровидные формы бактерий широко распространены в природе Кокки включают в себя роды *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Sarcina*. Могут быть аэробами и факультативными анаэробами Существуют и патогенные виды кокков, способные вызывать заболевания и пищевые отравления у людей и животных. Могут расти и при 5 - 8°C однако оптимальная температура развития 20-25°C. Вызывают распад белков с накоплением пептонов, а также разлагают жир, что придает продуктам прогорклый вкус. Устойчивы к пастеризации и повышенной концентрации соли и сахара.

### **Дрожжи**

Дрожжи могут быть как полезной микрофлорой, входящей в состав стартовых культур (заквасок), так и вредной – вызывающей пороки: сильное газообразование и дрожжевой привкус в молоке, сметане, твороге, сырах; образование этилового спирта и создание условий для развития уксуснокислых бактерий в масле; бомбаж консервов и др. Большинство представителей дрожжей сбраживают углеводы. Интенсивное развитие дрожжей незаквасочного происхождения может вызывать ухудшение качества продуктов и их порчу.

Пленчатые дрожжи родов *Mycoderma* и *Candida* углеводов не сбраживают. Вызывают различные порчи продуктов - повышение рН мяса, прогоркание продуктов.

Представители дрожжей рода *Debaryomyces* могут использовать в процессе метаболизма белки мяса, развиваясь при концентрации поваренной соли до 24%.

### **Плесневые грибы**

Плесневые грибы очень неприхотливы к условиям внешней среды. Они способны развиваться при массовой доле влаги 10-15%, высоком осмотическом давлении, уровне рН от 1,5 до 11, положительных и отрицательных (до -11°C) температурах. Устойчивы к действию дезинфицирующих веществ, но чувствительны к тепловой обработке. Свободный доступ кислорода и кислая реакция среды являются наиболее благоприятными условиями для развития плесеней.

В природе плесневые грибы встречаются повсеместно: в воздухе, воде, почве, на кожном покрове животных и на растениях. Они могут расти на окрашенных стенах, резине, древесине, бумаге. Их используют для промышленного получения различных ценных соединений – ферментов, антибиотиков, ацетона, бутилового спирта, витаминов, алкалоидов, гликозидов и др. В пищевой промышленности плесени - для придания продукту специфического вкуса и запаха (сыры рокфор и камамбер). Они строгие аэробы. Оптимальная температура развития 25-30°C, максимальная 35-40°C. Многие плесневые грибы являются психротрофами, развиваясь при температуре от +5 до (-5)°C; предел рН для роста плесеней от 1,5 до 9.

Пищевые продукты являются наиболее благоприятной средой для развития плесеней. Они активно разлагают молочных жир и белок и способны выделять в окружающую среду токсические продукты жизнедеятельности (мико- и афлотоксины), которые, накапливаясь в достаточном количестве, могут вызывать острые или хронические отравления у человека и животных. Они портят товарный вид продукта. В результате распада белков до пептонов появляется порок – горький вкус; при окислении жиров и образовании альдегидов, кетонов и масляной кислоты продукт приобретает прогорклый вкус. Кроме этого, при распаде белков рН среды подщелачивается и одновременно с плесенями в продукте начинают развиваться протеолитические микроорганизмы и возникает гнилостная порча продуктов. Развиваясь на мясе, плесени вызывают уменьшение количества азотистых веществ, повышение щелочности и распад белков, жиров, что способствует появлению затхлого запаха.

Для борьбы с плеснями применяют тепловую обработку и в камерах хранения готовой продукции создают атмосферу с повышенным содержанием углекислого газа, с пониженной влажностью воздуха и низкой температурой. Иногда проводят озонирование. По бактерицидному действию озон значительно эффективнее, чем излучение кварцевой лампы.

Возбудителями порчи продуктов часто являются микроскопические грибы родов: *Geotrichum*-*Oidium* (*Oidium lactis*), *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Catenularia*, *Cladosporium*.

В производстве некоторых видов мягких сыров используют «благородные плесени», придающие сыру своеобразный вкус (*Penicillium roquiforti*, *Penicillium camemberti* и др.)

**Уксуснокислые бактерии.** Они плохо развиваются в молоке, но в присутствии молочнокислых бактерий рост их значительно усиливается. Способны частично разлагать белки, незначительно снижая кислотность и обогащая среду витамином В<sub>12</sub>. Играют положительную роль при умеренном развитии в производстве кефира (способствуют развитию других бактерий и загущению продукта) и некоторых других кисломолочных напитков. При своем развитии в молочнокислых продуктах уксуснокислые бактерии вызывают порок ослизнение и нежелательный запах и привкус уксусной кислоты.

**Термоустойчивые молочнокислые палочки** обнаруживаются в сыром молоке, поступающем на предприятия, на технологическом оборудовании, в различных кисломолочных продуктах и заквасках.

Основной отличительный признак этих бактерий от других термофильных молочнокислых палочек – их терморезистентность. Способны выдерживать кратковременное нагревание молока до 85-90°C. Они представляют собой довольно крупные палочки величиной 4-10 x 0,7-0,9 мкм, располагающиеся одиночно или цепочками, содержат хроматиновые зерна в цитоплазме, неподвижны, спор не образуют, грамположительны. В отличие от термофильных лактобактерий, используемых в молочной промышленности, термоустойчивые палочки на агаре с гидролизованным молоком образуют колонии более

крупные, локонообразные или зернистые с темным центром. Глубинные колонии мелкие, темные или желтовато-бурые, иногда с короткими отходящими нитями.

Термоустойчивые молочнокислые палочки вызывают возникновение порока излишней кислотности, могут вызвать тягучесть и нечистый вкус. Устойчивы к 2-3%-ной концентрации NaCl, выдерживают термическую обработку, могут оставаться на оборудовании после его пропаривания.

**Лактобациллы** (*L.brevis* и *L.buchneri*) обитают в молочных, мясных продуктах, сточных водах и др. Встречаются в заквасках, соленьях, маринадах. Являются основными возбудителями порчи маринадов, применяемых для маринования рыбы, что может вызывать бомбаж банок. Психрофильные лактобациллы могут вызывать в мясе порок – кислое брожение.

**Бактериофаги** (пожирающий- гр.phagos ) – вирусы, поражающие бактерии. Они не имеют клеточного строения и состоят из нуклеиновой кислоты, покрытой белковой оболочкой. Величина их частиц, имеющих булавовидную форму, измеряется в нанометрах.

Бактериофаги очень специфичны и поражают определенные виды бактерий. Фаги, заражающие, но не размножающиеся в клетке автономно и не лизирующие ее называются *умеренными*, заражающие и лизирующие клетки бактерий - *вирулентными*, . Нуклеиновая кислота умеренного фага встраивается в бактериальную хромосому и фаг теряет автономию, переходя в неинфекционное, не активное состояние профага. Культура бактерий, которая в том случае размножается синхронно с умеренным фагом, называется *лизогенной* (лизогения – фагоносительство). При производстве сыра лизогенные бактерии (молочнокислые или пропионовокислые) даже желательны, поскольку они не поражаются другими (вирулентными) фагами.

Бактериофаги не способны к самостоятельному размножению (репродукции). Паразитируя на бактериальных клетках, в которых происходит их репродукция, бактериофаги губят саму клетку путем ее растворения (лизиса).

Источниками бактериофагов являются сырое молоко, сыворотка, воздух, вода и персонал предприятия. С воздухом фаги распространяются по всем производственным помещениям. При невысоком уровне санитарии фаги постоянно циркулируют на предприятии и наносят существенный урон качеству и безопасности продукции.

Фаги обладают высокой чувствительностью к кислотам, инактивируются при воздействии ультрафиолетового облучения и ионизирующей радиации в высоких дозах. Радиация в более низких дозах вызывает их мутации.

Бактериофаги хорошо переносят замораживание и длительное хранение в высушенных субстратах(годами), а также пастеризацию молока при 75°C в течение 15 секунд.

Бактериофаги способны вызывать лизис (растворение) бактерий используемых в составе заквасок и производстве молочных продуктов. В результате этого увеличиваются сроки выработки продукта и ухудшается его качество.

Чаще всего бактериофаги поражают молочнокислые мезофильные стрептококки. Среди молочнокислых палочек и *Streptococcus thermophilus* бактериофаги встречаются очень редко.

В процессе выработки ферментированных молочных продуктов практически всегда происходит репродукция фагов.

Поражение фагами одного-двух штаммов в многоштаммовых заквасках не оказывает существенного влияния на активность закваски в целом, но при этом происходит увеличение количества частиц фагов в продукте и сыворотке. Титр фага может увеличиться на несколько порядков и достигнуть уровня миллионов и даже миллиардов в 1 г.

Полная остановка нарастания кислотности происходит при одновременном поражении всех входящих в неё штаммов с высокой скоростью кислотобразования

### 3. Скорость размножения бактерий и фагов

Время, час	Клеток бактерий	Частиц фага
0	1	1
0,5	2	40

1	4	1 600
1,5	8	64 000
2	16	2 560 000

Источниками инфицирования производства бактериофагами являются молоко, закваски, кисломолочные продукты, оборудование, воздух, молочная сыворотка, лизогенные штаммы молочнокислых бактерий. Основными условиями, способствующими развитию бактериофагов, являются: непрерывное ведение технологического процесса, кислая реакция среды, добавление  $\text{CaCl}_2$ , разбрызгивание сыворотки, перемешивание.

Можно выделить два направления в профилактике лизиса микрофлоры заквасок бактериофагом: максимальное снижение вероятности контакта микрофлоры заквасок с фагами и повышение устойчивости микрофлоры заквасок к действию бактериофагов.

При выработке многих молочных продуктов невозможно избежать контакта заквасочной микрофлоры с фагами, так как их производят из нестерильного сырья в контакте с нестерильной окружающей средой.

#### Методы и приемы борьбы с бактериофагами на производстве:

- Ротация (частая смена заквасок) позволяет имея несколько заквасок с похожими свойствами (2-8 видов) и использовать их по несколько дней, периодически меняя.
- Исключать лизогенные штаммы из заквасок и использовать штаммы, нечувствительные к большинству типов бактериофагов,.
- Применять питательные среды, тормозящие развитие бактериофагов
- Использовать для приготовления сред «иммунное молоко», полученное от коров, иммунизированных бактериофагами, и содержащее специфические противофаговые антитела.
- Обеспечить в заквасочном отделении избыточное давление воздуха и автономную вентиляцию; а также запрет посещения работника

ми заквасочного отделения производственных цехов и их доступ в заквасочное отделение только через специальный тамбур.

- Организовать тщательную мойку и дезинфекцию оборудования, стен помещений растворами хлорной извести и с использованием дезинфицирующие веществ, уничтожающие бактериофагов для обеспечения высокого уровня санитарии и гигиены на производстве.

## 2.3 Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы недоброкачественных продуктов питания

### Патогенные микроорганизмы

Болезнетворные виды микроорганизмов называются *патогенными*, приспособившиеся в процессе своего эволюционного развития к паразитическому типу питания в тканях жидкостях животного организма. Для возникновения и развития инфекционного процесса необходимо: патогенный микроб, проникновение его в восприимчивый макроорганизм, определенные условия внешней среды, в которой происходит взаимодействие между микроорганизмом и макроорганизмом. *Условно патогенные микроорганизмы* при нормальных физиологических условиях жизни не вызывают заболеваний, т.е. они являются сапротрофами, но при переутомлении, перегревании, охлаждении, интоксикации организма-хозяина они становятся способными вызывать аутоинфекцию.

Патогенные микроорганизмы составляют 1/30000 часть всех известных микроорганизмов. В молоке и молочных продуктах не размножаются, но способны длительное время сохранять свою жизнеспособность и активность. являясь возбудителями инфекционных заболеваний (бруцеллеза, ящура и др.). Из патогенных микроорганизмов во всех молочных продуктах нормируется наличие сальмонелл.

Потенциальная способность микроорганизмов определенного вида приживаться и размножаться в макроорганизме, вызывая определенное заболева-

ние называется **патогенность** (гр. pathos – страдание, болезнь; genes – рождающий). Патогенность характеризуется сложным комплексом болезнетворных свойств микроба, сформировавшихся в процессе исторического развития борьбы за существование и приспособления к паразитированию в организме.

Патогенность характеризуется специфичностью действия и каждый вид патогенных микроорганизмов способен вызывать определенный инфекционный процесс. Специфичность инфекционного процесса проявляется в локализации возбудителей, избирательности поражения тканей и органов, клинической картине болезни, механизмах выделения микробов из органов, формировании иммунитета. Реализуется патогенность бактерий при наличии определенных факторов: *адгезии* (прикрепления) и *колонизации* (заселения). Адгезия избирательна и определяется взаимодействием различных структур клеточной стенки бактерий с рецепторами клеток хозяина. Если возбудитель не способен прикрепиться к клетке хозяина, то он не сможет реализовать свою патогенность.

*Инвазия* – проникновение в клетку хозяина; она осуществляется с помощью различных механизмов (ферментов, токсинов), подавляющих клеточную активность.

**Токсикогенность** - свойство патогенных микроорганизмов вырабатывать эндотоксины и экзотоксины (микробные яды).

Токсины - ядовитые вещества, обуславливающие болезнетворное действие патогенного микроорганизма и вызывающие нарушения жизнедеятельности организма. Токсины рассматривают как ферментные яды, обладающие свойствами прекращать процессы обмена веществ. Микробные токсины подразделяют на внешние и внутренние.

Внешние токсины- **экзотоксины** (самые сильные природные токсины) выделяются в окружающую среду в процессе жизнедеятельности грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами. Они состоят из белковых веществ и обладают свойствами ферментов.

Внутренние токсины - эндотоксины прочно связаны с микробной клеткой и выделяются в среду только после гибели микроорганизма. Термостабильны, но частично обезвреживаются под действием формалина и температуры .

Эндотоксины устойчивы к действию высокой температуры и выдерживают длительное кипячение, а также автоклавирование в течение 30 мин. Вызывают общие признаки интоксикации организма. К ним относятся повышение температуры, слабость, отдышка, головная боль, рвоту и кишечные расстройства.

Под влиянием токсинов нарушается обмен веществ, происходит глубокое нарушение окислительного цикла Кребса. Возникновение, тяжесть и протекание инфекционного процесса зависит не только от титра клеток возбудителя попавшего в организм и свойств патогенного микроорганизма, но также от состояния иммунитета макроорганизма, его сопротивляемости к заражению.

Больные или переболевшие люди (животные), выделяющие болезнетворные микробы в окружающую среду могут являться источником инфекции. Инкубационный период – время от момента заражения до появления первых симптомов (признаков) заболевания .

Возбудитель алиментарных или пищевых инфекций может попадать в макроорганизм при непрямом контакте - через пищу и воду. Пищевые инфекции делятся на зооантропонозы и кишечные инфекции.

### **Кишечные инфекции**

Род бактерий *Vibrio* состоит из 28 видов, вызывающих пищевые гастроэнтериты.

Холера – особо опасная кишечная инфекция, возбудителем которой является холерный вибрион (*Vibrio cholerae*).

Брюшной тиф и паратифы – возбудители относятся к роду *Salmonella*.

Бактериальная дизентерия вызывается рядом биологически близких бактерий, объединенных в род *Shigella*, который принадлежит к семейству *Enterobacteriaceae*, так же, как *Salmonella* и *Escherichia*.

Зооантропонозы - пищевые инфекции, передающиеся человеку от животного через зараженные продукты (молоко и молокопродукты, мясо и мясные продукты)

Ящур – поражает КРС, овец, свиней. Это острозаразная болезнь возбудителем которой является мелкий, РНК-содержащий вирус.

Бруцеллез – заболевание, вызываемое бактериями *Brucella*. Поражает КРС, свиней, крыс и др.

Туберкулез вызывают микобактерии рода *Mycobacterium*, относящиеся к актиномицетам.

Такие мероприятия, как систематический ветеринарно-санитарный надзор за животными, микробиологический контроль сырья и готовой продукции, пастеризация молока, защита рук и лица при работе по уходу за животными помогают в профилактике зооантропонозов.

### **Условно-патогенные микроорганизмы**

Общим свойством патогенных и условно-патогенных микроорганизмов является способность размножаться в пищевых продуктах, образовывать токсины, вызывающие пищевые отравления. Представители условно-патогенной микрофлоры являются постоянными обитателями кишечника человека и животных, хотя среди них встречаются возбудители токсикоинфекций и интоксикаций (отравлений). Обычно заболеваний они не вызывают, но при снижении иммунитета накапливаются в клетках и тканях и вызывают незаразные воспалительные заболевания. При развитии возбудителей в продукте не происходит изменения его органолептических свойств.

Пищевые отравления делятся на пищевые интоксикации и пищевые токсикоинфекции.

Пищевые интоксикации (токсикозы) связаны с приемом пищи в которой содержатся экзотоксины микроорганизмов. Живые микроорганизмы в продукте обычно отсутствуют. Пищевые интоксикации имеют короткий инкубационный период – 3-6 часов. Могут быть бактериальной и грибковой природы.

При приеме пищи, содержащей большое количество живых токсигенных бактерий возникают пищевые токсикоинфекции (отравления). Важным условием возникновения отравлений является содержание возбудителя в 1 г пищевого продукта  $-10^5-10^7$  клеток. Инкубационный период токсикоинфекций 1-3 суток.

Для профилактики пищевых отравлений следует:

- строго соблюдать санитарно-гигиенический режим на предприятиях пищевой промышленности;
- строго соблюдать технологические режимы хранения сырья, условий хранения, транспортирования и реализации пищевых продуктов;
- исполнять все правила, предотвращающие инфицирование микроорганизмами перерабатываемого сырья, полуфабрикатов и готовой продукции;
- недопускать смешивания пастеризованного молока с сырым молоком;
- проводить систематический микробиологический контроль производства по утвержденным схемам;
- бороться с грызунами и мухами;
- периодически проводить медицинское обследование работников.

**Документом, нормирующим** предельно допустимое количество всех этих микроорганизмов в продуктах является СанПиН 2.3.2.1078-01.

#### **Представители условно-патогенных микроорганизмов**

Род *Clostridium* включает патогенные и непатогенные виды анаэробных грамположительных спорообразующих бактерий (палочковидных). *Clostridium perf-*

*ringens*(*Welchii*), как правило, ассоциируются с заболеваниями гастроэнтеритом, которые широко распространены в США и других странах. Бактерии попадают в мясо непосредственно после забоя животных или пыли на производстве. Бактерии являются мезофилами с оптимальными температурами роста в пределах от 20 до 50°C.

Энтеротоксин является фактором, определяющим пищевые отравления при попадании бактерий *C. perfringens* в организм человека и животных. Необычным является то, что этот белок является споро-специфическим; его выделение происходит параллельно с процессом споруляции. Пик продукции токсина наступает в момент перед лизисом спорангиев клеток; при этом энтеротоксин высвобождается во внешнюю среду вместе со спорами. Условия, благоприятствующие споруляции, способствуют также и продукции энтеротоксина.

В настоящее время содержание некоторых видов клостридий нормируется в продуктах, вырабатываемых из сырья животного происхождения. *Clostridium* определяют при контроле безопасности мясных субпродуктов, пищевых казеинатов, колбас и колбасных изделий, продуктов из мяса птицы, икры, продуктов из рыбы и др. продуктов питания, а также при контроле воды.

*Clostridium botulinum* обнаруживаются в рыбе, крабах (тип E). Опасность попадания этого микроорганизма в пищевые продукты и затем в организм человека обусловлена тем, что клетка продуцирует экзотоксин ботулин, вызывающий ботулизм. Летальность при этом заболевании достигает 40-60%, а иногда и 85%.

Токсин способен разрушаться при кипячении в течение 10-20 минут и очень устойчив к действию низких температур. Однако замораживание, например рыбы, является важной операцией, предотвращающей развитие этого микроорганизма и накопление токсина. Наилучшие условия для образования токсина создаются при консервировании, а также при солении и копчении мясных и рыбных продуктов.

Род Стафилококки. Род *Staphylococcus* относится к семейству *Micrococcaceae*, который включает три вида: патогенный – *Staph.aureus* (золотистый стафилококк); условно-патогенный *Staphylococcusepidermidis*; непатогенный *Staphylococcussaprophyticus*.

При оценке воздуха санитарно-показательным микроорганизмом служит коагулазо-положительный стафилококк вида *Staphylococcus aureus*.

Этот вид стафилококков может быть выявлен у здоровых людей и животных и обнаруживается на слизистой, в выделениях верхних дыхательных путей, слюне, фекалиях и кожных покровах. Особенно опасным источником являются больные люди, имеющие гнойнички заболевания кожи, ангину, тонзиллит, гайморит, а также животные, у которых наблюдается мастит стафилококковой природы.

Для пищевых продуктов имеет значение способность *Staphylococcus aureus* вырабатывать энтеротоксины (при температуре 10°C и выше), вызывающие пищевые интоксикации и обладающие высокой термостойкостью. Кислая среда оказывает на них неблагоприятное воздействие, но при этом выделенные ранее токсины способны сохраняться. Рост некоторых молочнокислых бактерий приводит к снижению его продукции стафилококками. Предполагается, что снижение продукции этого энтеротоксина является результатом действия специфических ферментов и /или других метаболитов молочнокислых бактерий. Как правило, стафилококки не выдерживают конкуренцию с нормальной микрофлорой большинства продуктов питания, особенно с продуктами, которые содержат большое количество молочнокислых бактерий и где условия благоприятствуют росту последних. Это так называемый *молочнокислый антагонизм*. Механизм его пока неясен, но, по-видимому, это связано с продукцией антибиотиков, диацетила и бактериоцинов.

Среди бактерий, противодействующих росту *S. aureus* известны *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, семейство *Lactobacillaceae* и др.

Стафилококки могут вызывать порчу молочных продуктов, так как сбраживают лактозу и продуцируют молокосвертывающий фермент (аналог

сычужного), что приводит к преждевременному свертыванию молока с образованием горького вкуса.

Некоторые виды стафилококков способны разлагать жир, что приводит к прогорканию продукта.

Бактерии группы *Proteus (протеи)* относятся к группе кишечных бактерий. Не считаются санитарно-показательным микроорганизмом, так как не могут служить индикатором фекального загрязнения. Их присутствие в большом количестве (миллиарды клеток в 1г) в сырье и пищевых продуктах свидетельствует о нарушении санитарно-гигиенических условий производства. Эти микроорганизмы живут в почве и встречаются в разлагающихся остатках продуктов животного и растительного происхождения. Температурный интервал их роста — 10—40 оптимум — 37°C, т. е. они хорошо развиваются и при комнатной температуре.

Бактерии рода *Proteus* попадая в организм человека через продукты могут вызывать токсикоинфекции, протекающие как в случае сальмонеллеза.

При попадании на белковые продукты бактерии вызывают протеолиз белка с образованием зловонных продуктов метаболизма. Это является причиной порчи пищевых продуктов. Присутствие большого количества данных бактерий в продуктах свидетельствует об активном процессе разложения белка (гнилостном распаде). В парном молоке протеи не размножаются, а при попадании в стерилизованное молоко, наоборот, процесс роста их происходит очень быстро.

В качестве санитарно-показательных эти бактерии определяют при оценке безопасности воды и кулинарных изделий без тепловой обработки (салаты из рыбы и рыбопродуктов, селедочное и икорное масло). Обнаружение микроорганизмов рода *Proteus* в воде указывает на загрязнение объекта исследования органическими веществами.

Бацилла *Bacillus cereus* относят к группе гнилостных почвенных аэробных бацилл. Аэробные спорообразующие грамположительные подвижные палочки со слегка закругленными концами. Отдельные штаммы образуют очень

устойчивые споры, обладает хорошо выраженной протеолитической активностью. Температурный оптимум развития — 28—30 °С. В продукты этот вид бацилл может попадать из воды, воздуха, с оборудования. Микроорганизмы могут присутствовать в питьевом молоке или молочных консервах, в мясе туш, котлетах, фарше, колбасах где при благоприятных условиях могут размножаться в достаточно большом количестве ( $10^6$ — $10^7$ ) и вызывать отравления. Органолептические показатели продуктов при этом не меняются.

Вибрионы. *Vibrio parahaemolyticus* – грамотрицательные факультативно-анаэробные бактерии. Они являются возбудителями острых диарей. Вибрионы распространены в пресных и соленых водоемах. Некоторые виды патогенны для водных беспозвоночных, часть из них - патогенна для человека.

Оптимум температуры развития лежит в пределах 35-37°C, но могут быстро развиваться и при комнатной температуре. В креветках и крабах при комнатной температуре за 3 часа количество их может достигнуть инфекционной для человека дозы. Рост бактерий прекращается при температуре 5°C, но при низких положительных температурах они могут выживать на поверхности чешуи рыбы, в планктоне.

Основными источниками отравления являются блюда из морской рыбы, моллюсков и других продуктов моря, а также морские продукты длительно хранящиеся в теплом месте.

Обработка сырой рыбы уксусом, сушение и копчение значительно снижают уровень бактерий в продукте. Наиболее эффективное уничтожение - термическая обработка. При температуре 60°C погибают в течение 15 минут.

Возбудители токсикоинфекций. К ним относится множество видов бактерий: протей, энтеропатогенные кишечные палочки, бациллы цереус, клостридии.

В целом, существуют микробиологические критерии, по которым устанавливают лимиты по содержанию микроорганизмов по некоторым видам пищевых продуктов для определения степени их безопасности и качества. В то же время лимиты для непатогенных микроорганизмов могут устанавли-

ваться по-разному. Международная комиссия по микробиологической спецификации продуктов питания (ICMSF) рассматривает микробиологические стандарты как часть законов или правил, которые жестко применяются.

Для пищевых продуктов наибольшее значение имеют представители родов *Salmonella* или *Shigella*. Возбудители сальмонеллеза попадают в окружающую среду с экскрементами человека и животных, обсеменение ими пищевых продуктов может происходить только при грубых нарушениях санитарного режима.

Сальмонеллы. Род *Salmonella* относится к семейству *Enterobacteriaceae*. Они устойчивы к физическим и химическим воздействиям, в пищевых продуктах сохраняют жизнеспособность достаточно длительное время. К этому роду относятся возбудители брюшного тифа и паратифов А и В – острых кишечных инфекций и сальмонеллезов.

Верхняя температурная граница развития этих микроорганизмов наблюдается при 50°C, оптимум развития — при 36—38°C. Пищевые отравления, вызываемые бактериями рода *Salmonella*, занимают одно из первых мест среди пищевых отравлений. Место обитания сальмонелл — кишечник животных, птиц или человека, но они не являются составной частью нормальной микрофлоры кишечника, их обнаружение свидетельствует о заражении организма. Наличие сальмонелл в продукте является признаком фекального загрязнения.

Сальмонеллы, находящиеся в пищевых продуктах очень устойчивы к тепловой обработке. Копчение и соление приводит к незначительному снижению их количества. Они хорошо сохраняются в молочных и мясных продуктах, яйцах и яичном меланже.

В связи с участвовавшими в последнее время случаями токсикоинфекций, вызываемых сальмонеллами, их определение в сырье и продуктах из сырья животного происхождения является обязательным показателем безопасности.

Шигеллы. Основным представителем рода *Shigella*, представляющим опасность для человека, является дизентерийная палочка. Средой их обитания является только кишечник человека. Она не нормируется в продуктах. Шигеллы отсутствуют когда на производстве используется чистая вода и нет больных работников. При пастеризации молока бактерии уничтожаются, не развиваются в холоде и при высокой кислотности продукта (pH 7,2).

Листерии. На бактерии рода *Listeria* (в частности на *L. Monocytogenes*) стали обращать особое внимание в последние годы, что связано с серьезными вспышками листериоза в США, Канаде, Англии и ряде европейских стран.

*Listeria* - факультативно-анаэробные, грамположительные короткие палочки с закругленными концами, иногда почти кокковой формы, клетки расположены одиночно или короткими цепочками. Микроорганизм является патогенным как для человека и животных.

Бактерий рода *Listeria* обнаруживаются в почве, воде, силосе, сточных водах, в меньшем количестве — в продуктах, изготовленных с нарушением технологических режимов производства. Источником заражения также могут быть грызуны, реже - сельскохозяйственные животные. Листерии могут находиться в продуктах питания и на технологическом оборудовании. Они обладают высокой устойчивостью к воздействию различных условий и способны выжить в продуктах в процессе длительного хранения. Режимы тепловой обработки сырья, принятые при производстве продуктов, обеспечивают снижение листерий до безопасного уровня в случае, если их исходное количество в сырье не превышает  $10^5$  КОЕ/г.

Грибы. (Fungi) относят к растительным гетеротрофным организмам. Клетки грибов обладают дифференцированным ядром, многие из них размножаются спорообразованием. Они в значительной степени отличаются от бактерий. Грибы родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* при развитии в пищевых продуктах образуют микотоксины, при употреблении которых возможно развитие пищевых интоксикаций – микотоксикозов.

## 2.4 Санитарно-показательные микроорганизмы

Организм человека и животных является единственной природной средой обитания для многих представителей нормальной микрофлоры. Однако, если такие микроорганизмы встречаются вне организма, то это свидетельствует о загрязнении окружающей среды выделениями людей и теплокровных животных. Обнаружение их позволяет заподозрить присутствие возбудителей заболеваний, а выделяемые микроорганизмы служат показателями санитарного состояния объектов внешней среды и представляют о потенциальную опасность. По наличию санитарно-показательных в пищевых продуктах судят о возможном присутствии патогенных и токсигенных видов микробов.

Определение санитарно-показательных микроорганизмов – специфический метод санитарной микробиологии. Чем больше их количество, тем выше вероятность присутствия потенциально опасных микроорганизмов в исследуемом объекте, уровень загрязнения окружающей среды и степень эпидемиологической опасности.

Из-за непостоянного присутствия болезнетворных микробов в окружающей среде выявление патогенных микроорганизмов в объектах внешней среды затруднительно. На питательных средах процесс выделения патогенных микробов осложняется конкурентным влиянием сапротрофов.

Для более точного определения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов используют косвенные методы.

Индикатором кишечных заболеваний являются представители нормальной микрофлоры кишечника. В содержимом кишечника в больших количествах представлены бактерии группы кишечной палочки (БГКП), энтерококки и др.

Ранее в качестве санитарно-показательного микроорганизма использовали *Clostridium perfringens*. Он широко распространен в почве, воде, разлагающихся продуктах, но основным источником является кишечник человека и животных. Поэтому его обнаружение свидетельствует о фекальном загрязнении продукта.

В продуктах, обсеменение которых этим микроорганизмом произошло после термической обработки, образуются токсины в результате интенсивного размножения бактерий при температуре 18—20°C и выше. Оптимальная температура развития *Clostridium perfringens* — 35–37°C. Органолептические свойства продукта при этом не изменяются. Споры *Clostridium perfringens* сохраняются годами, а при наступлении благоприятных условий могут интенсивно развиваться и вызывать пищевые отравления.

Общая бактериальная или микробная обсемененность (ОМЧ) исследуемого объекта имеет важное санитарно-показательное значение.

Для определения фекального загрязнения воды и почвы в качестве показателя на сегодняшний день принята кишечная палочка (*Escherichia coli*). Уровень загрязнения материала оценивается массой продукта, в которой не обнаруживаются бактерии группы кишечной палочки (БГКП). Степень фекального загрязнения оценивается по таким показателям как коли-индекс и коли-титр. Коли-индекс показывает число кишечных палочек в единице объема исследуемого материала. Коли-титр отражает наименьшее количество исследуемого материала, в котором обнаружена кишечная палочка.

Развитие микроорганизмов в пищевых системах протекает на фоне многообразия микроорганизмов и при воздействии разнообразных физических и химических факторов. В результате этого возможно появление новых более устойчивых для биотехнологических производств популяций микроорганизмов. Поэтому в пищевых продуктах, наряду с контролем санитарно-показательных микроорганизмов, в качестве косвенного показателя санитарного состояния производства определяют общую бактериальную обсемененность, количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ). Этот показатель выражают в колониеобразующих единицах (КОЕ) на один грамм тестируемого объекта. КОЕ – количество колониеобразующих микроорганизмов, которые выросли на плотной питательной среде при посеве объекта или его разведения с последующим культивированием посевов при 37°C в течение 24-48 часов.

Показатель КМАФАнМ позволяет характеризовать условия производства, хранения, транспортирования продуктов питания.

Для более достоверного выявления фекального загрязнения объектов иногда также используют и других постоянных обитателей кишечника человека и животных, к которым относятся энтерококки, палочки протей, кишечные бактериофаги, споровый анаэробный микроорганизм – *Cl.perfringens*.

Санитарно-показательными микроорганизмами загрязнения внешней среды предложено считать гемолитические и зеленыящие стрептококки, а также золотистые стафилококки.

#### 4. Санитарно-показательные микроорганизмы окружающей среды и пищевых продуктов

Объект исследований	Характер загрязнения	Представитель микрофлоры
Пищевые продукты	Фекальное Воздушно-капельное	БГКП, <i>S.faecalis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Вода	Фекальное Промышленное	БГКП, <i>S.faecalis</i> Производственные штаммы
Воздух	Воздушно-капельное Промышленное	<i>S.aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> Производственные штаммы
Почва	Фекальное Промышленно-бытовое (разложение отходов) Промышленное	БГКП, клостридии ( <i>Cl. perfringens</i> ) Термофильные бактерии, <i>P.vulgaris</i> Производственные штаммы

Процессы производства пищевых продуктов отличаются очень широким разнообразием технологических приемов и, соответственно участвующих в них микробных ассоциаций. Поэтому ни один из вышеназванных санитарно-показательных микроорганизмов не отвечает полностью всем требованиям применительно к пищевой промышленности.

Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) относятся к семейству *Enterobacteriaceae*. В число санитарно-показательных микроорганизмов включены несколько родов – *Escherihia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, обладающие многими общими морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами.

БГКП включают мелкие, подвижные, грамотрицательные, не образующие спор палочки, каталазоположительные, образующие индол. Размер палочек 0,5-1,5 x 2-6 мкм. Они не разжижают желатин, способны ферментировать лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу с образованием кислоты и газа при температуре 37<sup>o</sup>C ( в течении 5-24 ч). Иногда выявляются кишечные палочки с пониженной способностью к газообразованию и формы устойчивые к кислоте (рН 4,5).

Наибольшее санитарно-показательное значение имеют бактерии рода *Escherichia*. По Международным стандартам нормируются колиформные (лактозоположительные) кишечные палочки, которые способны сбраживать лактозу при 37 °C. Встречаются БГКП, не сбраживающие лактозу (лактозоотрицательные).

БГКП- факультативные анаэробы, хорошо растущие на универсальных питательных средах, устойчивые к действию анилиновых красителей. В качестве селективной среды для выявления и дифференцирования бактерий группы кишечных палочек используют среду Эндо, содержащую фуксин, на которой *E.coli* дает характерный рост в виде колоний красного цвета с металлическим блеском. На жидких питательных средах (например, на мясо-пептонном бульоне) при развитии БГКП происходит значительное помутнение среды и образование легко разбивающегося осадка серого цвета.

Обнаружение в пищевых продуктах, воде и смывах с оборудования, рук и одежды работников предприятия, бактерий группы кишечных палочек рода *Escherichia* свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, а наличие *Citrobacter* и *Enterobacter* - о более давнем загрязнении.

Среди бактерий рода *Escherichia* встречаются непатогенные виды, - представители флоры кишечника человека и животных, а также энтеропатогенные, вызывающие патологические изменения в организме и являющиеся причиной пищевых токсикоинфекций.

Накапливаясь в продуктах, бактерии группы кишечных палочек могут вызывать их пороки: нечистые вкус и запах, вспучивание, гниение, «кислое брожение» и некоторые другие.

Предельно допустимое количество бактерий группы кишечных палочек в продуктах, воде и смывах нормируется в СанПиН 2.3.2.1078-01.

Энтерококки – молочнокислые стрептококки кишечного происхождения. Они являются представителями нормальной микрофлоры кишечника человека и животных и выделяются в окружающую среду с фекалиями. Два основных вида рода *Enterococcus*: *Ent.faecalis* (биовары *Ent.liquefaciens* и *Ent.zymogenes*) и *Ent.fecium* (биовар *Ent.bovis*). Биовар *Ent.liquefaciens* является обитателем молочной железы, поэтому его часто называют маммококком.

Энтерококки – диплококки овальной или круглой формы размером 0,6-2,0 на 0,6-2,5 мкм. Факультативные анаэробы, грамположительные, спор и капсул не образуют, неподвижные.

Энтерококки устойчивы к физическим и химическим факторам. Легко переносят температуру до 60°C в течение 30 мин, резистентны к действию активного хлора, некоторых антибиотиков и красителей. Будучи термостойкими, они составляют значительную часть остаточной микрофлоры пастеризованного молока и играют определенную роль в созревании сыров. Особенно вредными в молочных продуктах являются маммококки, которые выделяют сычужный фермент и вызывают прогоркание молочных продуктов и преждевременное свертывание молока.

Энтерококки определяются в качестве санитарно-показательных микроорганизмов при контроле безопасности быстрозамороженных готовых рыбных и мясных блюд, при исследовании воды открытых водоемов, колодцев, бассейнов и сточных вод.

Разработаны и введены нормативы допустимого содержания санитарно-показательных микроорганизмов в различных объектах внешней среды. Для получения ускоренного ответа (в течение первых суток) при исследовании образцов обнаруживают специфические ферменты микроорганизмов. К таким

ферментам относятся:  $\beta$ -глюкуронидаза и триптофаназа (*E.coli*),  $\beta$ - галактозидаза (колиформы), фосфолиназа С (*L.monocytogenes*), кислая фосфатаза (*Cl.perfingens*),  $\beta$ -глюкозидаза (энтерококки), пропиленгликоль (*Salmonella*).

### **Контрольные вопросы**

1. Биологические свойства микроорганизмов, используемых при производстве молочных и мясных продуктов.
2. Молочнокислые бактерии, их систематика и характеристика
3. Бифидобактерии, пропионовокислые, уксуснокислые бактерии, дрожжи, слизеобразующая палочка. Их использование в пищевой промышленности.
4. Бактериофаги и меры борьбы с ними на производстве
5. Микроорганизмы – возбудители порчи (пороков) пищевых продуктов.
6. Патогенные микроорганизм, встречающиеся в молоке, мясе и продуктах их переработки.
7. Возбудители пищевых токсикоинфекций.
8. Возбудители кишечных инфекционных болезней человека и зооантропонозов.
9. Санитарно-показательные микроорганизмы: стафилококки, дрожжи и плесени, кишечные бактериофаги.
10. Общая бактериальная обсемененность (КМАФАнМ)

## **Глава 3. Микробиология молока и молочных продуктов**

### **3.1 Требования, предъявляемые к молоку и микробиологический контроль сырья**

Молоко, поступающее на предприятие для переработки должно соответствовать ряду требований, что обеспечивает получение из него качественных молочных продуктов.

Молоко должно быть получено от здоровых сельскохозяйственных животных на территории, благополучной в отношении инфекционных и других общих заболеваний для человека и животных. Не допускается использование в пищу сырого молока, полученного в течение первых семи дней после дня отела животных и в течение пяти дней до дня их запуска (перед их отелом) и (или) от больных животных и животных, находящихся на карантине.

Изготовитель должен обеспечивать безопасность сырого молока в целях отсутствия в нем остаточных количеств ингибирующих, моющих, дезинфицирующих и нейтрализующих веществ, стимуляторов роста животных (в том числе гормональных препаратов), лекарственных средств (в том числе антибиотиков), применяемых в животноводстве в целях откорма, лечения скота и (или) профилактики его заболеваний.

Молоко, поступающее на предприятие должно быть получено от здоровых сельскохозяйственных животных на территории, благополучной в отношении инфекционных и других общих для человека и животных заболеваний.

#### 5. Требования к молоку-сырью по ГОСТ 31449-2013

##### «Молоко коровье сырое. Технические условия»

Наименование показателя	Характеристика (Значение)
Консистенция	Однородная жидкость без осадка и хлопьев
Вкус и запах	Чистый, без посторонних запахов и привкусов, не свойственных свежему молоку Допускается слабовыраженный кормовой привкус и запах
Цвет	От белого до светло-кремового
Массовая доля жира, %, не менее	2,8
Массовая доля белка, %, не менее	2,8
Кислотность, °Т	От 16,0 до 21,0 включ.
Массовая доля сухих обезжиренных веществ молока (СОМО), %, не менее	8,2
Группа чистоты, не ниже	II
Плотность, кг/м <sup>3</sup> , не менее	1027,0
Температура замерзания, °С, не выше минус	0,520
Содержание соматических клеток в 1 см <sup>3</sup> , не более	4,0·10 <sup>5</sup>
КМАФАнМ*, КОЕ**/см <sup>3</sup> , не более	1,0·10 <sup>5</sup>
* Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов ** Колониеобразующие единицы	

Контроль качества сырого молока предполагает проведение следующих испытаний и определение:

- общего микробного числа (КМАФАнМ);
- бактерий группы кишечных палочек;
- остаточных количеств антибиотиков;
- содержания соматических клеток;
- ингибирующих веществ;
- бактерий рода *Salmonella*;
- возможны специальные микробиологические исследования.

Наличие редуктазы и общую бактериальную обсемененность молока и сливок устанавливают реакцией с метиленовым голубым или резазурином; для определения КМАФАнМ используют стандартный метод подсчета бактерий на чашках Петри, основанный на способности этих микроорганизмов при определенных условиях расти и образовывать колонии на плотном питательном агаре.

В 2007 году введен в действие ГОСТ Р 52415 «Молоко натуральное сырое. Люминесцентный метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов». Эта методика выгодно отличается своей быстротой (продолжительность анализа около 30 мин), но требует применения дорогостоящих оборудования и реактивов. Используют также экспресс-тесты для выявления широкого спектра санитарно-гигиенических бактерий, люминометры для гигиенического контроля производственных линий, емкостей, оборудования.

#### 6. Допустимые уровни содержания микроорганизмов и соматических клеток в сыром молоке

КМАФАнМ КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	Масса продукта (г, см <sup>3</sup> ) в которой не допускаются		Содержание сомати- ческих клеток, в 1 см <sup>3</sup> (г), не более
	БГКП (колиформы)	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы	
$1 \times 10^5$	-	25	$4,0 \cdot 10^5$

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

КОЕ - колониеобразующие единицы.

БГКП - бактерии группы кишечных палочек.

В сыром молоке, предназначенном для производства различных продуктов, допускаются следующие значения КМАФАнМ:

- для продуктов детского питания –  $1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ ;
- для сыра – не более  $1 \times 10^6$ ;
- для кисломолочных продуктов – не более  $5 \times 10^5$ ;

Для выявления спор мезофильных микроорганизмов проводят посев предварительно прогретого при  $90^\circ\text{C}$  в течение 10 минут определенного количества молока или сливок в плотную питательную среду. Посевы культивируют при  $30^\circ\text{C}$  в течение 3 суток, после чего подсчитывают все видимые колонии, характерные для спорообразующих бактерий.

Ингибирующие вещества в молоке определяют с индикаторами метиленовым голубым или резазурином с добавлением в исследуемое молоко культуры термофильного стрептококка, который не размножается при наличии ингибирующих веществ в молоке.

Антибиотики в молоке определяют чашечным методом с тест-культурой *Bac.stearothermophilus* или с индикатором бромкреозолпурпуром.

Соматические клетки определяют визуальным методом по изменению консистенции молока, смешанного с реактивом «Мастоприм» или с применением вискозиметра (по скорости вытекания молока смешанного с реактивом «Мастоприм» из вискозиметра).

Бактерии группы кишечных палочек и сальмонеллы определяют методом посева на специальные питательные среды.

Специальные исследования выполняются для молока-сырья, предназначенного для выработки определенных продуктов. Так, при изготовлении сыра проводят дополнительное исследование молока на сыропригодность – проводят пробу на брожение и сычужно-бродильную пробу. При выработке стерилизованного молока контролируют наличие спор мезофильных и термофильных аэробных бактерий.

### 3.2 Микрофлора сырого молока и сливок

Полностью избежать попадания в молоко микроорганизмов практически невозможно. Обсеменение молока может происходить из эндогенных (вымя животного) и экзогенных источников (корма, подстилочные материалы, кожа животных, воздух, вода, доильная аппаратура, посуда, руки и одежда работников). Основными факторами, влияющими на обсемененность молока, являются состояние здоровья животных, санитарно-гигиенические условия получения молока, период бактерицидной фазы, условия транспортирования, температура и продолжительность хранения.

В сыром молоке и сливках присутствуют бактерии (больше всего содержится микрококков), плесени, дрожжи, вирусы (бактериофаги).

Микрофлору молока условно можно подразделить на первичную и вторичную. Под первичной понимают микрофлору, которая попадает в молоко из различных источников, под вторичной - образующуюся при размножении первичной микрофлоры.

Для свежесвыдоенного молока характерна бактерицидная фаза (в литературе часто называемая антимикробной или статической). В период ее действия микроорганизмы, попавшие в молоко, не развиваются. Антимикробные свойства молока связаны с присутствием глобулинов и содержанием лизоцимов, лактенинов, бактериолизиннов, антитоксинов, агглютининов и других веществ, которые поступают из крови или синтезируются в молочной железе. Активность антимикробных веществ обусловлена чистотой молока и температурой его хранения. При повышении температуры активность их снижается, а при нагревании свыше 55°C наступает инактивация. Продолжительность бактерицидной фазы зависит от количественного и качественного состава первичной микрофлоры молока и температуры его хранения. Например, при хранении молока при температуре 37°C продолжительность фазы составляет всего 2 часа; при температуре 10°C – 24 часа; при температуре 0°C - 48 часов.

Получение бактериально чистого молока и немедленное его охлаждение до 5-6°С основные способы продлить бактерицидную фазу.

В процессе дальнейшего хранения начинает действовать вторая фаза изменения микрофлоры молока – фаза смешанной микрофлоры. Это период наиболее активного размножения микроорганизмов в молоке. Количество микроорганизмов за это время увеличивается от нескольких тысяч до нескольких сотен миллионов в 1 мл молока.

Она начинается по окончании действия антимикробных веществ молока и продолжается 12-18 ч.

При хранении молока при температуре свыше 10°С наблюдается фаза молочнокислых бактерий. В этот период значительно увеличивается кислотность молока и происходит его сквашивание, при чем вначале активно развиваются и преобладают кокки, а затем палочки.

Фаза плесневых грибов и дрожжей является заключительной. Молочнокислые бактерии не выдерживают низкого рН, погибают и создаются условия для развития плесневых грибов и дрожжей, а затем и маслянокислых бактерий, рН меняется от 4,5 до 5,0-5,5.

Большинство бактерий хорошо развивается при нейтральной, а плесени и дрожжи – при кислой реакции среды. Поэтому, регулируя рН, можно изменить ход развития и количество микроорганизмов в молоке и молочных продуктах.

Снизить бактериальную обсемененность молока и сохранить его качество можно несколькими путями:

Охлаждение молока до 3-5°С предотвращает развитие нежелательной микрофлоры при временном хранении сырого или пастеризованного молока. Охлажденное молоко может храниться в течение суток до переработки.

Очистка - фильтрацией или центрифугированием. Удаление бактерий из молока на специальных центрифугах называют бактериофугированием. Этот способ позволяет удалить до 95% бактерий (вегетативных клеток и спор). Обычно для большей эффективности его сочетают с пастеризацией.

Для регулирования жизнедеятельности микроорганизмов в молоке и его сохранности используют температурный фактор - пастеризацию или охлаждение молока и молочных продуктов.

При определении качества сырого молока в нем определяют общую бактериальную обсемененность – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), а также количество патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл.

В соответствии с СанПиН 2.3.2.1078-01 КМАФАнМ для сырого молока высшего сорта должно быть не более  $3 \times 10^5$  КОЕ /г ( $\text{см}^3$ ); первого сорта -  $5 \times 10^5$  КОЕ /г ( $\text{см}^3$ ); второго сорта  $4 \times 10^6$  КОЕ /г ( $\text{см}^3$ ). Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, не должны содержаться в  $25 \text{ г}(\text{см}^3)$  сырого молока всех сортов. Бактерии группы кишечной палочки (БГКП) в молоке не должны присутствовать.

Для определения общей бактериальной обсемененности молока в РФ используют редуктазную пробу.

### **3.3 Пороки сырого молока и сливок**

Необычные отклонения свойств молока от нормы называют пороками.

Пороки возникают при нарушении санитарно-гигиенических правил получения, первичной обработки и нарушении режимов хранения молока. Относительно небольшое количество бактерий молока может получать энергию из лактозы (особенно при температуре холодильника). БГКТ – активные утилизаторы лактозы среди грамотрицательных бактерий. Бактериальная порча молока (как сырого, так и пастеризованного) обусловлена выработкой молочной кислоты из лактозы, в результате понижается рН до 4,5 и осаждаются казеин. Термостойкие штаммы *S. salivarius* subsp. используют глюкозу. Порча молока вызывается анаэробными спорами при высоком окислительно-восстановительном потенциале (Еп) молока, бациллами и может быть результатом влияния термостабильных протеаз и липаз, которые вырабатываются

психротрофами в сыром молоке. Пороки делятся на пороки консистенции, вкуса, запаха, цвета молока и пороки смешанного типа.

### **Пороки консистенции**

Ослизнение и тягучесть молока может сопровождать нормальный кислотомолочный процесс или проходить без заметного нарастания кислотности. Вязкость – состояние, иногда наблюдаемое в сыром молоке, которое вызывается *Alkaligenes viscolactis*. Ослизнение без нарастания кислотности вызывает развитие бесспорной палочкой *L. lactis viscosum*, по биологическим свойствам схожей с кишечной палочкой, но без газообразования. Порок развивается при задержке кислотомолочного процесса и длительном хранении молока при температуре ниже 10°C. Молоко не свертывается, а приобретает тягучесть, особенно выраженную на поверхности. При дальнейшем развитии наблюдается пептонизация – появляется буроватый полупрозрачный отстой сыворотки. Молоко приобретает горький вкус, свертывается при нагревании.

Ослизнение с повышением кислотности обусловлено развитием слизеобразующих штаммов *L. cremoris* и *L. acidophilum* при хранении молока при температуре выше 10°C.

Преждевременное свертывание проявляется при нагревании молока, имеющего нормальную или незначительно повышенную кислотность. Возбудитель – микрококки и маммококки (*Ent. liquefaciens*), выделяющие ферменты типа сычужного. Причиной порока может быть примесь молозива в молоке.

### **Пороки вкуса и запаха.**

Горький вкус возникает при длительном хранении молока и низких температурах - ниже 10°C. Порок вызывают маммококки *Ent. liquefaciens* и гнилостные микроорганизмы, разлагающие белки до пептонов, придающих продукту горький вкус.

Прогорклый вкус возникает в результате накопления продуктов разложения жира (кетонов, масляной кислоты, альдегидов). В основном этот порок связан с развитием флюоресцирующих палочек и других микроорганизмов обладающих липолитической активностью.

Мыльный, щелочной вкус возникает при длительном хранении охлажденного молока. Бактериальное разложение белков и омыление жира вызывают гнилостные, неспорообразующие палочки *Bact.lactis saponacei* и *Bact.sapolacticum*.

Несвойственный запах (навозный, сырный, тухлый, травяной и др.) возникает при развитии кишечных и флюоресцирующих палочек, разлагающих азотистые вещества.

### **Пороки цвета.**

Красным молоком становится при развитии в охлажденном молоке чудесной палочки – *Serratia marcescens*, образующей на поверхности молока красные пятна.

Желтое молоко встречается очень редко. Возникает порок при развитии в охлажденном молоке грамтрицательной подвижной палочки *Bact.synxathum* (или *Sarcinaflava*).

Синее молоко возникает через 24-72 часа при хранении молока при температуре 20-25 °С или при длительном хранении молока ниже 10°С. Вызывает этот порок развитие в молоке синегнойной палочки *Ps. aeruginosa*. Окраска наблюдается на поверхности молока.

### **Пороки, образующиеся при хранении молока.**

Эта группа пороков связана с неправильным хранением и транспортировкой молока. Синий или голубой цвет, при хранении молока в цинковой посуде, размножении пигментообразующих бактерий при поедании коров трав, содержащих синий пигмент. Запах навоза, при попадании в молоко навоза. Запах аммиака, при хранении молока в незакрытой таре в животноводческом помещении и при попадании в молоко кишечной палочки. Затхлый запах появляется при наличии аэробных и молочнокислых микроорганизмов в охлажденном молоке; при хранении молока в деревянных сосудах, в деревянном сгнившем погребе. Лекарственный запах – при хранении пахучих веществ в местах получения и обработки молока. Гнилостный запах – при развитии гнилостных микроорганизмов, попадающих в молоко после дойки. Вкус оса-

лившегося жира (прогорклый вкус) – при низких температурах хранения вследствие гидролиза молочного жира липазами.

**Бродящее молоко** – часто встречающийся порок смешанного типа; проявляется при усиленном выделении газов, образующих пену под слоем сливок. Возбудителем являются кишечные палочки, дрожжи и маслянокислые бактерии. Газообразование сопровождается появлением различных неприятных запахов.

### **3.4 Изменение микрофлоры молока при пастеризации и стерилизации**

С целью уничтожения патогенных микроорганизмов, снижения концентрации микроорганизмов, увеличения стойкости питьевого молока и инактивации ферменты, а также для получения молока и молочных продуктов безопасных для потребления проводится термическая обработка.

Основными видами тепловой обработки в молочной промышленности являются пастеризация и стерилизация.

Пастеризация молока – термическая обработка при температуре ниже 100°C. Основные режимы пастеризации: 63-65°C в течение 30 минут; 72-76°C в течение 20-30 секунд; мгновенная пастеризация при 85-95°C в течение нескольких секунд.

Основным критерием надежности режимов пастеризации служит гибель микобактерий туберкулеза, как наиболее стойких из патогенных микроорганизмов. Основные представители остаточной микрофлоры пастеризованного молока споробразующие бактерии родов *Clostridium* и *Bacillus*, а также энтерококками, микрококками и вегетативными клетками термоустойчивых молочнокислых бактерий.

#### Основные показатели, определяемые в пастеризованном молоке:

- наличие бактерий группы кишечных палочек (БГКП) и количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ);
- эффективность пастеризации;

- наличие патогенных микроорганизмов *S.aureus*, *Salmonella*, *L.monocytogenes*.

При пастеризации гибнет от 98 до 99,9% вегетативных клеток. Эффективность пастеризации считается удовлетворительной если остаточная микрофлора составляет не более 0,1% от первоначального количества микроорганизмов в молоке, а бактерии группы кишечной палочки отсутствуют в 10 см<sup>3</sup> молока.

Эффективность пастеризации молока контролируют вне зависимости от качества готового продукта каждые 10 дней (ежедекадно) .

Остаточная микрофлора пастеризованного молока оценивается по:

- процентному соотношению остаточного количества бактерий после пастеризации к содержащимся в исходном сыром молоке;
- отсутствию кишечной палочки при посеве 10 мл пастеризованного молока в среду Кесслера.

Молоко после пастеризации и охлаждения поступает к разливающим агрегатам и емкостям, при этом оно может дополнительно обсеменяться бактериями группы кишечных палочек, психрофильными бактериями, мезофильными молочнокислыми стрептококками, термоустойчивыми палочками, а иногда дрожжами и уксуснокислыми бактериями. Эти микроорганизмы вместе с оставшейся после пастеризации составляет микрофлору пастеризованного молока.

Тепловая обработка влияет на физико-химические характеристики молока. При длительной пастеризации (температура 65°C) молочнокислые бактерии развиваются плохо, так как молекулы казеина укрупняются и казеин становится менее доступным микроорганизмам.

Молоко для заквасок пастеризуют при 92-95°C с выдержкой 20-30 мин. При этом уничтожаются все вегетативные клетки и бактериофаги, в молоке остаются только споры. Для питьевых сливок режим пастеризации установлен 80-87°C с выдержкой 15-30 сек. Это объясняется тем, что жир оказывает защитное действие на микроорганизмы.

По ходу технологического процесса ежемесячно проводят микробиологический контроль производства пастеризованного молока, контролируя КМАФАнМ и БГКП.

В зависимости от вида продукта КМАФАнМ нормируется в пределах от 50 до 200 тысяч КОЕ в 1 см<sup>3</sup>, а наличие БГКП в этом объеме не допускается.

Допустимое значение КМАФАнМ, в молоке после термической обработки:

- молоко (сливки) пастеризованные питьевые – не более  $1 \times 10^5$ ;
- молоко ультрапастеризованное с последующим асептическим розливом - не более 10;
- молоко ультрапастеризованное без асептического розлива - не более 100;
- молоко топленое – не более  $2,5 \times 10^3$ .

Объем продукта, в котором не допускается наличие БГКП:

- молоко питьевое пастеризованное – 0,01 см<sup>3</sup>;
- молоко ультрапастеризованное – 10 см<sup>3</sup>;
- молоко топленое – 1 см<sup>3</sup>;
- сливки пастеризованные – 0,1 см<sup>3</sup>.

Из патогенных микроорганизмов методом высева на питательные среды обязательно контролируют наличие бактерий рода *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*. Используют также экспресс-тесты Singlepath-*Salmonella* для выявления бактерий рода *Salmonella*

Объем продуктов переработки молока, в которой не допускается наличие *Salmonella*:

- молоко (сливки) питьевое пастеризованное – 25 см<sup>3</sup>
- молоко ультрапастеризованное – 100 см<sup>3</sup>
- молоко топленое – 25 см<sup>3</sup>

Объем продуктов переработки молока, в которой не допускается наличие *S. aureus*:

- молоко (сливки) питьевое пастеризованное – 1 см<sup>3</sup>

- молоко ультрапастеризованное – 10 см<sup>3</sup>

Объем продуктов переработки молока, в которой не допускается наличие *Listeria monocytogenes*:

- молоко (сливки) питьевое пастеризованное – 25 см<sup>3</sup>
- молоко ультрапастеризованное – 25 см<sup>3</sup>
- молоко топленое – 25 см<sup>3</sup>

**Стерилизация молока** – тепловая обработка, проводимая при температуре выше 100°C. Во время стерилизации уничтожаются вегетативные клетки и большинство спор бактерий. Содержание спор бактерий в сыром молоке, предназначенном для стерилизованного молока не должно превышать 100 КОЕ в 1 см<sup>3</sup>. В готовом продукте не должно содержаться патогенных и токсигенных микроорганизмов, а также возбудителей порчи. Допустимо наличие небольшого количества спор бактерий, которые не размножаются в молоке и молочных продуктах и не вызывают изменений в продукте на протяжении всего срока хранения.

Основные методы стерилизации молока:

- пастеризация при 75°C затем стерилизация при 135-140°C в потоке, охлаждение до 70°C, розлив в стерильные бутылки и стерилизация при 116-120°C;
- пастеризация при 80°C, стерилизация в потоке при 140°C и асептический розлив в стерильные пакеты.
- стерилизация в потоке при 140°C с последующим охлаждением и асептический розлив в стерильные пакеты;

Стерилизация считается эффективной, если из 1 млн. спор, содержащихся в молоке, после стерилизации остается одна спора. Наиболее часто в стерилизованном молоке развиваются споры *Bac.subtilis*, *Bac.cereus* и другие палочки, вызывающие появление горечи без образования сгустка, при низкой кислотности иногда образуется сгусток.

В процессе стерилизации более существенно изменяются физико-химические свойства молока. Стерилизованное молоко теряет способность

свертываться под действием сычужного фермента, витамины в нем частично разрушаются; происходит частичное диспергирование жира и появление кремовой окраски в результате карамелизации молочного сахара.

Производство стерилизованных сливок осуществляется по схеме выработки молока при двухступенчатом режиме стерилизации. Срок хранения стерилизованных сливок составляет не более 30 суток при температуре не выше 20°C.

Микробиологический контроль молока проводят не реже 2-3 раз в неделю). Стерилизованное молоко должно соответствовать всем требованиям промышленной стерильности. Для ее определения образцы со стерилизованным молоком термостатируют при 37°C в течение 3 суток и проводят осмотр образцов. При наличии сгустка, хлопьев, отстоя сыворотки и других изменений внешнего вида молока в бутылках или наличии вздутия упаковки молоко считают несоответствующим требованиям промышленной стерильности. Для органолептической оценки используют упаковки без внешних дефектов. Если не установлено изменений вкуса и консистенции, то продукт отвечает требованиям промышленной стерильности.

### **3.5 Микрофлора заквасок**

#### **Закваски (стартовые культуры)**

Заквасками называют чистые культуры микроорганизмов или их сочетания, используемые при производстве продуктов питания. В результате биотехнологических процессов происходит создание новых продуктов с измененными физико-химическими, органолептическими и микробиологическими характеристиками продуктов, специфической консистенцией, вкусом и ароматом.

Получение заквасок сложный процесс, включающий выделение, идентификацию и изучение характеристик полученных штаммов микроорганизмов.

В специальных научно-производственных лабораториях выделяют штаммы молочнокислых микроорганизмов, изучают их свойства селекционируют, составляют и создают закваски, которые направляют на предприятия молочной промышленности, где вырабатывают производственные закваски.

В природных источниках редко встречаются молочнокислые бактерии, обладающие производственно-ценными свойствами.

Чистые культуры молочнокислых бактерий получают из естественных мест обитания. Сначала проводят получение накопительной культуры. Затем выделяют чистую культуру, идентифицируют и дифференцируют бактерии. Следующий этап - проверка штаммов на постоянство признаков и их практические испытания. Заключительный этап - создание коллекции выбранных штаммов чистых культур молочнокислых бактерий.

С помощью воздействия мутагенными факторами можно увеличить биохимическую активность штаммов молочнокислых бактерий и интенсифицировать процесс сквашивания молока.

Для получения готовых продуктов с заданными показателями качества необходимо использовать стартовые культуры со стабильным комплексом характеристик.

В состав заквасок включают специально подобранные штаммы со свойствами, которые должны сочетаться друг с другом.

Использование многовидовых заквасок и правильное сочетание различных штаммов при производстве ферментированных продуктов позволяет влиять на конечный результат - качество получаемого продукта.

Среди молочнокислых бактерий, медленно свертывающих молоко, имеются штаммы, при сочетании которых значительно повышается энергия кислотообразования, а иногда и ароматообразование. Термофильные молочнокислые бактерии приобретают способность хорошо развиваться в присутствии лактококков при температуре развития 30°C. Добавление термофильного стрептококка к закваске мезофильных лактококков ускоряет процесс кис-

лотообразования, улучшает консистенцию кисломолочных продуктов и облегчает процесс отделения сыворотки при выработке творога.

При создании заквасок и соединении штаммов разных видов бактерий важно добиться взаимной сочетаемости штаммов и синергизма их действия, более быстрого развития бактерий и синтеза продуктов их метаболизма, усиление антагонистической активности к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам.

Впервые чистые культуры заквасок были применены в 1888 году в Дании при производстве кисломолочного масла. В России они впервые появились с 1898 г и были одноштабмовыми. В 1930-40 гг. были выделены и начали применять ароматобразующие молочнокислые бактерии.

Закваски, выращиваемые в специальных научно-производственных лабораториях, называют маточными или лабораторными. Они являются основой для получения производственных или потребительских заквасок.

Потребительские закваски подразделяют на: материнские, или первичные; промежуточные, или вторичные, и производственные, или третичные.

Материнские закваски получают при посевах маточных заквасок, промежуточные и производственные – при посевах материнских и промежуточных заквасок.

Различают одноштабмовые закваски, состоящие из одного штамма микроорганизма, многоштабмовые - из нескольких штаммов одного вида и смешанные закваски, в состав которых входят многие штаммы разных видов бактерий.

По составу микрофлоры основные закваски, применяемые в молочной промышленности, подразделяют на 3 группы: бактериальные, грибковые и смешанные.

За рубежом закваски, состоящие из мезофильных молочнокислых стрептококков, делят на 5 групп; так называемые нулевые (0), L, D, LD, ароматические закваски.

*Нулевые закваски* содержат только *Lac. lactis* и *Lac. cremoris* или один из этих видов. Селекция штаммов этих заквасок направлена на активное кислотообразование и минимальное газообразование.

*Закваски L* состоят из нулевых заквасок, а также *Leu. cremoris*. Наряду с молочной кислотой закваска вырабатывает диацетил, ацетоин, летучие кислоты и  $\text{CO}_2$ .

*В заквасках D* кроме представителей нулевой закваски содержится *Lac. diacetylactis*. Эти закваски продуцируют диацетил и ацетоин в большом количестве, в них более интенсивно образуется  $\text{CO}_2$ .

*Закваски LD* состоят из молочнокислых стрептококков, входящих в состав нулевых заквасок, а также *Leu. cremoris* и *Lac. diacetylactis*. В этих заквасках прослеживается доминирование *Lac. diacetylactis* над развитием других микроорганизмов.

## 7. Закваски, используемые в молочной промышленности

Закваски		Микроорганизмы	Продукт
Бактериальные	Мезофильные молочнокислые стрептококки	<i>Lac. lactis</i> , <i>Leu. cremoris</i> , <i>Lac. cremoris</i> , <i>Lac. diacetylactis</i> , <i>Leu. dextranicum</i>	Творог, сметана, простокваша и другие кисломолочные продукты, кислосливочное масло, сыры
	Термофильные молочнокислые бактерии	<i>Str. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricum</i> , <i>Lb. acidophilum</i> , <i>Lb. helveticum</i> , <i>Lb. lactis</i>	Мечниковская и южная простокваши, ряженка, йогурт, варенец, ацидофилин, крупные твердые сыры
	Бактерии, участвующие в созревании сыра	Пропионовокислые бактерии, <i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> (казеинкультура), <i>Brevibacterium linens</i> (вырабатывает красную слизь)	Сыры с высокой температурой второго нагревания, мягкие сыры
Грибы	Культура рокфора	<i>Penicillium roqueforti</i>	Сыр рокфор

	Культура камамбера	Pen. camamberti, Pen. candidum, Pen album	Сыр камамбер
Смешанные	Lac. lactis, Lbc. buchneri, Lbc. brevis, Lbc. bulgaricum, Lbc. acidophilum, дрожжи Saccharomyces lactis и рода Torulopsis, уксуснокислые бактерии		Кефир, кумыс

\* Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов.- 1999.

Так называемые *ароматические закваски* состоят из штаммов *Leu. dextranicum*, *Leu. cremoris* и *Lac. diacetylactis*, применяемых для стимулирования ароматобразования в определенных продуктах.

Активная производственная закваска должна иметь следующие характеристики:

- максимальное количество жизнеспособных клеток;
- отсутствие любых загрязнителей (коли-форм, дрожжей, плесеней);
- сохранение активности при культивировании в молоке в процессе производства продуктов и при промежуточных пересевах.

Один из критериев успешной подготовки закваски – получение активной культуры, то есть закваски с высоким содержанием жизнеспособных клеток, которые при их добавлении к молоку быстро вызывают сквашивание.

Молочные закваски могут быть сохранены в *жидком виде*; *сухом виде*: неконцентрированная, полученная сублимационной сушкой и концентрированная – бактериальный концентрат, полученная методом сублимационного высушивания; *замороженном виде*: неконцентрированная, концентрированная.

### **Бактериальный концентрат**

*Сухой бактериальный концентрат* чаще вырабатывают трех видов: из мезофильных молочнокислых стрептококков, термофильных молочнокислых стрептококков и ацидофильных молочнокислых палочек. *Жидкий бактериальный концентрат* готовят из мезофильных молочнокислых стрептококков.

Процесс приготовления сухого бактериального концентрата состоит из нескольких основных этапов: выращивание заквасочных микроорганизмов, бактофугирование полученной культуры, высушивание суспензии клеток, фасование бактериального концентрата.

При приготовлении среды для выращивания бактерий сыворотку (рН 4,5-4,6 - оптимальная для выделения белков), нагревают до 95 °С и выдерживают 60 мин для более полного выделения белков. После этого сыворотку осветляют путем сепарирования.

В осветленную сыворотку добавляют компоненты среды согласно рецептуре, устанавливают оптимум рН, стерилизуют при 0,05 МПа (112°С) в течение 60 мин и охлаждают до оптимальной температуры роста микроорганизмов. Далее проводят стерилизацию и охлаждение питательной среды, наращивание биомассы (клеток молочнокислых бактерий) в ферментере с перемешиванием и автоматическим регулированием температуры и рН на заданном уровне.

Для технологического процесса подготовленную стерильную среду, охлаждают до оптимальной температуры развития того или иного вида молочнокислых бактерий и добавляют закваску в количестве 5-8 % (на сывороточной среде) или 3-5 % (на обезжиренном молоке).

Наращивание клеток мезофильных молочнокислых стрептококков осуществляют в ферментере при температуре 30 °С в течение 10-12 ч, термофильных молочнокислых стрептококков и ацидофильных палочек - при 40 °С на протяжении 8-9 ч при автоматическом поддержании рН. При этом рН культуральной жидкости достигает для стрептококков 6,5-6,8; ацидофильных палочек - 5,7-6,0.

После культивирования бактериальную массу охлаждают до 3-8°С и направляют на бактофугирование. Отделение клеток от среды осуществляют в конце логарифмической фазы роста, когда в культуральной жидкости (в 1 см<sup>3</sup>) содержатся сотни миллионов - единицы миллиардов активных клеток. Бактериальную массу из культуральной жидкости выделяют на бактофуге.

Для этой цели можно использовать центрифугу и молокоочиститель. Бактериальная масса после бактофугирования содержит сотни миллиардов клеток в  $1 \text{ см}^3$ ; выход биомассы составляет 0,5-0,8 %. Полученную бактериальную массу смешивают с защитной средой в соотношении 1: 2 - 1: 4.

В состав защитной среды для термофильного стрептококка входят 20 % обезжиренного молока и 80 % водного раствора, содержащего по 2,2 % сахарозы, желатозы, лимоннокислого натрия и 1,2 % глутамата натрия. Для мезофильных молочнокислых стрептококков защитная среда состоит из обезжиренного молока с содержанием 16 % сухих веществ - 30% и 70 % водного раствора, содержащего сахарозу (5%), желатозу (5%), цитрата натрия (5%), глутамата натрия (2%). В состав защитной среды для ацидофильной палочки вместо цитрата натрия вносят 5 % уксуснокислого натрия. Желатоза представляет собой желатин после стерилизации под давлением 0,15 МПа в течение 2,5-3,0 ч. После стерилизации желатин теряет способность образовывать гель.

Полученную суспензию клеток молочнокислых бактерий высушивают. Для этого ее разливают на лотки слоем 6-8 мм или фасуют по  $2 \text{ см}^3$  во флаконы. Суспензию высушивают в установке для сублимационной сушки сначала при низкой отрицательной температуре  $-35(-45)^\circ\text{C}$ , досушивание — при положительной температуре (40-45 °C). Продолжительность сушки суспензии на лотках 6-12 ч, во флаконах 24-42 ч. Сухой бактериальный концентрат, высушенный на лотках, размельчают и фасуют во флаконы порциями по 1-1,5 г.

Концентрат содержит от 150 до 300 млрд. клеток в 1 г. Массовая доля влаги в нем не должна превышать 3,5 %. Допускается наличие посторонней непатогенной микрофлоры не более 10 клеток в 1 г.

Продолжительность свертывания молока при внесении одной порции концентрата на  $1 \text{ дм}^3$  молока при оптимальной температуре составляет у ацидофильных палочек 2,5-3,5 ч; у термофильных молочнокислых стрептококков 3,0-4,5; у мезофильных стрептококков 4,0-5,5 ч.

Срок хранения концентрата при температуре 3-10 °С 8 мес. со дня выработки.

Жидкий бактериальный концентрат мезофильных молочнокислых стрептококков так же, как и сухой, применяется при производстве творога и сметаны. Его готовят так же, как и сухой. Приготовление отличается лишь исключением двух операций: замораживания и сушки. Концентрат разливают во флаконы по  $5 \pm 0,5 \text{ см}^3$  (полпорции) и по  $10 \pm 0,5 \text{ см}^3$  (порция), укупоривают, охлаждают до температуры  $+8-(-5)^\circ\text{C}$  и хранят не более двух месяцев со дня выработки. Жидкий бактериальный концентрат содержит не менее 150 млрд. клеток в  $1 \text{ см}^3$ . Содержание посторонней непатогенной микрофлоры не более 20 клеток в  $1 \text{ см}^3$ .

### **Сухие закваски**

Сухие закваски готовят на основе бактериальной массы или высушиванием комбинаций культур бактерий в защитной. Если сухие закваски готовят на основе бактериальной массы, то по составу микрофлоры они идентичны бактериальному концентрату и отличаются по количеству клеток молочнокислых бактерий. Количество бактериальных клеток в закваске в 100 раз меньше, чем бактериальный концентрате.

Продолжительность свертывания молока (при внесении одной порции закваски для творога и сметаны на 2-2,5 л, остальных заквасок на  $100 \text{ см}^3$  молока) составляет для закваски из бактериальной массы 5-9 ч, для закваски из комбинации культур - 16- 18ч.

Титр клеток молочнокислых бактерий составляет  $10^7 - 10^8$  в 1 г сухой закваски. Количество посторонних микроорганизмов допускается 1-2 клетки в 1, а БГКП группы кишечных палочек должны отсутствовать в 1 г закваски.

### **Жидкие закваски**

Жидкие закваски готовят на стерильном обезжиренном или цельном молоке. Молоко стерилизуют в течение 10-15 мин при температуре  $121^\circ\text{C}$ , охлаждают до  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  и для проверки на стерильность термостатируют при

этой температуре в течение двух суток. Перед заквашиванием молоко микроскопируют (готовят окрашенный препарат). При просмотре не менее чем в 10 полях зрения микроскопа должны отсутствовать вегетативные клетки и споры.

После этого в молоко вносят комбинацию культур и термостатируют его при оптимальной температуре до образования сгустка. Закваску фасуют в стеклянные флаконы по 20, 50 и 100 см<sup>3</sup>, укупоривают и маркируют (этикетировать). Жидкие закваски имеют срок годности: 10 сут. при 3-8 °С и 5 сут. при комнатной температуре хранения.

Закваска имеет жидкую консистенцию с небольшой крупкой, реже - сметанообразную. Допускается отделение сыворотки. Вкус и запах закваски должны быть характерны каждого вида продукта, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов. Цвет белый с кремовым оттенком по всей массе. Кислотность 80-100°Т. При микроскопии мазков закваски не должны присутствовать инволюционные формы и посторонние микроорганизмы. Концентрация живых клеток в 1 см<sup>3</sup> жидких заквасок составляет 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> клеток.

### **Замороженные закваски**

Заквасочные культуры возможно сохранять в замороженном виде двумя способами:

- глубокое замораживание – от -30 до -80°С;
- замораживание при сверхнизких температурах (-196 °С) в жидком азоте.

После заквашивания натурального стерильного молока его глубоко замораживают до температуры -30 до -40 °С для сохранения лабораторной или пересадочной культуры. При температуре хранения -40 °С такие культуры могут сохранять свою активность в течение нескольких месяцев. Процесс активации глубоко замороженных культур включает следующие этапы:

- извлечение закваски из морозильника;
- быстрое размораживание закваски в водяной бане при 20 °С;
- инкубация при 42 °С до достижения необходимой кислотности;

- охлаждение и хранение в течение ночи в холодильнике;
- пересев для получения пересадочной лабораторной закваски, которая в дальнейшем используется для приготовления производственной закваски.

Замораживание в жидком азоте при сверхнизкой температуре (-196°C) является наиболее удачным методом консервирования культур закваски. При этом молекулы воды не образуют крупные кристаллы и биохимические процессы внутри клеток прекращаются; в биологическом смысле бактериальная клетка находится в пассивном состоянии (Анабиоз - латентное безжизненное, но обратимое состояние живых биологических систем, когда метаболические процессы в них заторможены).

Для поддержания в активном состоянии заквасок, консервированных при низких температурах, их нейтрализуют, концентрируют, расфасовывают и замораживают. Обычно концентрированную закваску фасуют в алюминиевые баночки емкостью 70 мл (объем, рекомендуемый для заквашивания 1000 л молока). Меньшие количества могут быть расфасованы в полипропиленовые ампулы. Может использоваться ламинированный картон. Алюминиевые банки и полипропиленовые ампулы хранят в жидком азоте, а пакеты из картона – в специальном контейнере в атмосфере паров азота.

**Закваски прямого внесения (DVS)** - концентрированные пробиотические культуры ( $10^{10}$ — $10^{12}$  КОЕ/г), изготавливаются в замороженном виде или в виде лиофилизированного порошка (бакконцентраты сублимационной сушки). Данные закваски вносятся непосредственно в ванну и удобны в применении. При этом снижается риск атаки бактериофагами, имеется возможность использования культур из смешанных штаммов и видов, отпадает потребность в специальном оборудовании.

### **Кефирные грибки**

На предприятиях молочной промышленности кефирные зерна культивируют на пастеризованном обезжиренном молоке. Один-два раза в 7 дней часть кефирных грибков отделяют от общей культуральной закваски. Ото-

бренные зерна фасуют в стерильные флаконы и заливают обезжиренным молоком (сывороткой). Срок хранения таких культур не более 10 дней при температуре 8-10<sup>0</sup>С й.

Их натуральных (живых) кефирных грибков можно получить *сухие кефирные грибки*. Их фасуют в пакеты (по 10, 20, 50 и 100 г). Срок хранения сухих кефирных грибков, расфасованных в пакеты 3 месяца при температуре не выше 8<sup>0</sup>С.

### **Природные закваски разных географических зон**

Большой интерес представляет изучение «национальных», природных («местных») молочных продуктов, сформировавшихся в определенной географической зоне.

Природные закваски «национальных» молочных продуктов обладают широким набором молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами. Местные штаммы лактобактерий, как правило, более жизнеспособны при различных значениях рН, концентрации солей (NaCl), резистентны к желчи, некоторым антибиотикам. Особенно устойчивы консорциумы местных штаммов лактобактерий (Сидоренко, 2018).

Реально из лактобацилл в комбинации с лактококками, лейконостаками, стрептококками, энтерококками, бифидо- и пропионовыми бактериями составляются консорциумы, пригодные для использования при производстве бактериальных концентратов, заквасок, биодобавок, пробиотиков. Отбор и селекция «местных» штаммов из природных микробных сообществ, сформированных в определенной географической зоне, дает широкие возможности в получении ценных лечебно-профилактических молочных продуктов. Более того, исследование закономерностей и функционирования биологических систем местных ассоциативных культур микроорганизмов дает основу для разработки технологий создания и управления практически ценными лекарственными стабильно функционирующими микробными компонентами.

Природные закваски могут быть полезны в медицине для рекомендаций в лечении аллергических заболеваний. Разработаны и реализованы техноло-

гии получения молочных продуктов с пониженной аллергенностью, основанные на биокаталитической конверсии (гидролизе) молочных белков. Получают гидролизаты с заданным молекулярно-массовым распределением и остаточной аллергенностью, а на завершающей стадии получения продуктов – микробиологическая трансформация остаточных аллергенных белков и придания конечным продуктам приемлемых органолептических характеристик.

Принципы пищевой комбинаторики дают возможность получения широкого ассортимента продуктов функционального назначения, требуемой энергетической ценности для различных групп населения (спортсменов, детей, пожилых людей и др.)

В животноводстве для борьбы с патогенами, вызывающими кишечные расстройства у телят, хорошо зарекомендовал себя консорциум лактобацилл. Наибольшей активностью по отношению к *E.coli* и *Salmonellatyphimurium* обладают *L.brevis*, *L.casei* в составе пробиотиков. При этом они хорошо приживаются в кишечнике животных.

Морские гетеротрофные микроорганизмы, обладающие уникальными метаболическими и физиологическими свойствами, могут быть перспективными продуцентами антибиотиков, антиопухолевых и поверхностноактивных соединений, цитотоксинов и ингибиторов некоторых ферментов. В настоящее время активно исследуются морские и пресноводные грибы как потенциальные продуценты биологически активных веществ. При этом большая роль им отводится в самоочистке водоемов, в борьбе с паразитами рыб, икры и в целом сохранении биопродукции.

Использование биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов природных заквасок экономически выгодно в пищевой промышленности и медицине. К сожалению, исследований, направленных на создание новых молочных продуктов лечебного назначения из природных штаммов, новых биокаталитических процессов и методов переработки вторичных продуктов крайне мало.

Лактобактериям принадлежит ведущая роль в процессах гидролиза жиров, нормализации белкового и минерального обмена, поддержании неспецифической резистентности макроорганизма. Они могут применяться в лечении человека как лактотерапевтическое средство.

В связи с этим необходимо шире использовать ферментированные продукты смешанного брожения с биохимически активными штаммами, способными создавать лечебно-профилактический эффект, консорциумы (устойчивые) молочнокислых бактерий и дрожжей, обладающие антибиотической активностью, кислото-, спирто-, и ароматобразованием, а также протеолизом.

К сожалению, сегодня мало говорится об экологии питания, роли местных традиционных продуктов питания и аборигенной микрофлоре в поддержании здоровья современного человека.

### **Приготовление и применение заквасок на предприятии**

Производственные закваски на предприятиях получают в отделениях чистых культур или в специальном боксе при микробиологической лаборатории предприятия. Флаконы с заквасками необходимо вскрывать непосредственно перед употреблением и сразу использовать все содержимое флакона.

Лабораторная стадия приготовления закваски проводится для того чтобы активизировать закваску. Для этого закваску предварительно культивируют на обезжиренном молоке. Наибольшую активность закваска должна проявлять после второго пересева. При достижении титруемой кислотности 78-80<sup>0</sup>T культивирование закваски останавливают.

Производственная стадия получения закваски. Для приготовления производственной закваски используют стерильное или пастеризованное молоко. Доза внесения лабораторной закваски составляет 0,5 до 1,0% от массы сквашиваемого молока.

Производственная закваска, приготовленная на стерильном молоке при температуре 3-10<sup>0</sup>C храниться до 72 часов, на пастеризованном – 24 часа.

### Микробиологический контроль качества закваски

Молоко, используемое для приготовления закваски должно соответствовать требованиям 1 класса по редуцтазной пробе, которую проводят 2-3 раза в неделю.

Эффективность пастеризации молока для заквасок контролируют подекадно, проверяя на наличие БГКП. Нормой является их отсутствие в  $10 \text{ см}^3$  пастеризованного молока.

Контроль качества заквасок проводят по продолжительности свертывания молока и предельной кислотности закваски. Если активность закваски снижается, то проверяют наличие посторонней микрофлоры (чистоту закваски) и качество технологической заквасочной микрофлоры, путем просмотра окрашенного микроскопического препарата (в 10 полях зрения).

Производственные закваски должны иметь определенную кислотность:

- простокваша обыкновенная, творог и сметана –  $80-85^{\circ}\text{T}$ ;
- масло и сыры с низкой температурой второго нагревания –  $90-100^{\circ}\text{T}$ ;
- болгарская и ацидофильная простокваша –  $95-110^{\circ}\text{T}$ ;
- кефир –  $95-100^{\circ}\text{T}$ ;
- кумыс –  $130-160^{\circ}\text{T}$ .

Продолжительность сквашивания при внесении материнской закваски молочнокислых стрептококков (1-3%) составляет 6-8 ч, молочнокислых палочек (0,5-1%) – 4-6 ч. Качество производственной закваски ежедневно проверяют на содержание БГКП и органолептическим свойствам сгустка. БГКП должны отсутствовать в  $10 \text{ см}^3$ , а для кефирной закваски - в  $3 \text{ см}^3$ . В заквасках для масла и сыра определяют наличие ацетоина, диацетила, углекислоты. Грибковую кефирную закваску контролируют по кислотности, содержанию БГКП и микроскопированию.

Наличие бактериофага устанавливают посевом закваски в стерильное обезжиренное молоко с добавлением раствора метиленового синего. Если в процессе культивирования краситель сначала обесцвечивается, а через 4-5 ч

снова наблюдается окрашивание (посинение) молока, то это указывает на наличие в закваске бактериофага.

#### 8. Микробиологические показатели заквасок

Вид закваски	Кол-во закваски (см <sup>3</sup> ) в которой не допускаются			Примечание
	БГКП (ко-лиформы)	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы	Staph.aureus	
Закваски из чистых культур	3	100	10	Плесени не более 10 КОЕ/см <sup>3</sup>
Закваски для кефира (жидкие)	10	100	10	Плесени и дрожжи не более 10 КОЕ/см <sup>3</sup>
Сухие закваски, бакконцентраты	1	100	1	Плесени и дрожжи не более 10 КОЕ/см <sup>3</sup>

Для выяснения причин нарушения процесса сквашивания наблюдают за развитием молочнокислых стрептококков в первые часы после внесения закваски. Если сквашивания не происходит с момента внесения закваски, то отмечается наличие ингибирующих веществ в молоке. Если сначала наблюдается увеличение количества заквасочной микрофлоры, а через 2-3 часа исчезновение клеток в результате лизиса, то предполагают наличие бактериофага.

#### **Пороки заквасок**

В производственных заквасках могут возникать следующие пороки:

Снижение активности закваски встречается чаще всего и выражается она в несквашивании молока. Причиной может быть наличие антибиотиков или других ингибирующих веществ в молоке, заражение закваски бактериофагом, низкое содержание сухих веществ в молоке, сезонные изменения качества молока (весеннее молоко), антагонистическое отношение заквасочных микроорганизмов.

Наличие бактерий группы кишечных палочек - показатель нарушения установленного режима пастеризации молока и несоблюдение общего санитарного состояния оборудования и личной гигиены работников.

Наблюдается при несоблюдении режима пастеризации молока, неудовлетворительной мойки и дезинфекции оборудования, что приводит к развитию в закваске термоустойчивых молочнокислых палочек - порок излишняя кислотность.

Ослизнение и тягучесть проявляется при снижении активности закваски и развитии спорообразующей микрофлоры. Появляется вспучивание закваски, а при развитии слизеобразующих штаммов сливочных стрептококков или ацидофильных палочек. В обоих случаях следует сменить закваску.

### **3.6 Микрофлора кисломолочных продуктов**

Получение кисломолочных продуктов – древнее ремесло, зародившееся тысячи лет назад, возможно, сразу после того, как были одомашнены животные (коровы, овцы и козы).

Трудно определить, когда начали изготавливать кисломолочные продукты, но археологические находки свидетельствуют, что некоторые цивилизации (например, шумеры и вавилоняне, жители Фароса на северо-востоке Африки) были сведущи в приготовлении этих продуктов. Уверенность в целебных свойствах сквашенного молока, его благотворное влияние на организм человека давно существует у многих цивилизаций. Еще в библейской и греко-римской истории сообщается о кислом молоке. Так персы приписывают именно сквашенному молоку плодовитость и долголетие Авраама, в более позднее время считалось, что французского императора Франциска I вылечили от продолжительной болезни с помощью простокваши из козьего молока.

Существует более 400 названий традиционных и коммерческих видов кисломолочных (ферментированных) продуктов. В Турции это йургурт, эйран, в Центральной Азии - буза, в Египте - забади, в балканских странах - кисель млека и урготник, в Армении - мацун, в Индии- дахи, в Закавказье - катык, в Греции - яурти, в Италии - сиедду, на Сицилии - меццораду, в Финляндии - вилли, в Исландии - скир, в Югославии - грузовина, в Монголии – тараг, в России – простокваша (самоквасная), варенец, ряженка, гусянка. Хотя эти продукты имеют различные названия они во многом похожи.

Благодаря открытиям последних десятилетий удалось понять, что происходит на различных этапах производства кисломолочных продуктов, раскрыть сущность процесса их получения. Но и в настоящее время получение кисломолочных продуктов по-прежнему сложный процесс, сочетающий науку и искусство.

Все кисломолочные продукты возникают в результате гликолиза и дальнейших процессов обмена (протеолиз, образование ароматических веществ и др.) различных молочнокислых бактерий, к которым могут присоединяться другие бактерии, а также дрожжи.

Несмотря на то, что сквашивание молока было самым распространенным способом его сохранения, лишь с начала 1900-х годов определенные микроорганизмы стали широко использоваться для промышленного производства кисломолочных продуктов в различных странах. Причем в зависимости от температурных условий и обработки молока развиваются разные виды молочнокислых бактерий. Таким образом, возникают продукты, которые по вкусовым качествам значительно отличаются друг от друга. Имеется большое количество кисломолочных напитков, которые обычно имеют национальное или местное значение, их изготавливают только для домашнего пользования. Некоторые продукты распространены повсеместно, их производят в широких масштабах.

Процесс производства ферментированных молочных продуктов и их характеристики определяются ферментирующей активностью используемых микроорганизмов. Это как бы консервированные продукты: для них срок хранения значительно увеличен по сравнению со сроком хранения сырья, из которого эти продукты изготавливаются. Их характерная стабильность при хранении и ярко выраженный вкусо-ароматический букет обусловлен прямым или косвенным действием ферментирующих микроорганизмов. Кроме того, для некоторых продуктов присущи повышенные количества витаминов.

Биохимически ферментация или брожение – метаболический процесс, в котором углеводы и родственные им соединения частично окисляются с вы-

свобождением энергии при отсутствии какого-либо внешнего акцептора электронов. Конечный акцептор электронов – органические соединения, синтезирующиеся непосредственно при распаде углеводов. Следовательно, происходит неполное окисление исходных компонентов, и в процессе высвобождается только небольшое количество энергии. Продукты ферментации состоят из небольшого числа органических соединений, которые имеют меньшую молярную массу, чем исходные.

В нашей стране кисломолочные продукты широко стали применять с начала XX в., когда И. И. Мечников впервые изучил значение их в питании человека. Он установил, что молочнокислые бактерии, попадая в кишечник вместе с кисломолочными продуктами, создают кислую среду, препятствующую развитию гнилостных бактерий, которые вызывают распад белков пищи с образованием токсических веществ, отрицательно влияющих на жизнедеятельность микроорганизма. Многие кисломолочные продукты содержат антибиотические вещества, подавляющие развитие кроме нежелательной микрофлоры кишечника также возбудителя туберкулеза, стафилококков и других микроорганизмов. Антибиотические вещества могут образовывать ацидофильная палочка, молочный и сливочный стрептококки, бифидобактерии и др.

Техническое производство сквашенных и ферментированных молочных продуктов характеризуется некоторыми общими признаками. Цельное, обезжиренное свежее, а также сгущенное молоко нагревают для уничтожения микроорганизмов и инактивирования мешающих сквашиванию, термолабильных ферментов молока. При этом диапазон термообработки довольно широк – от усиленной пастеризации до стерилизации. После охлаждения до определенной температуры, производят заквашивание молока соответствующей закваской и сквашивание до тех пор, пока не будут достигнуты желаемая консистенция и вкусовые качества. Затем продукт охлаждают, после чего он готов к употреблению.

Кисломолочные продукты имеют большую ценность с точки зрения физиологии питания. Под действием молочной кислоты казеин молока коагули-

рует в виде мелких хлопьев и усвояемость кисломолочных продуктов повышается. Так, простокваша в течение 1 ч усваивается организмом человека на 92 %, а цельное молоко — на 32 %.

В таких кисломолочных продуктах, как кефир и простокваша, содержатся жирорастворимые витамины А, D, E, которые накапливаются в результате жизнедеятельности бактерий. Творог, сыры и кисломолочные напитки богаты солями фосфора, кальция, магния, участвующими в обмене веществ организма человека. Кумыс, кефир, ацидофильно-дрожжевое молоко содержат диоксид углерода и молочную кислоту следы алкоголя, которые оказывают сильное секреторное воздействие на пищеварительные железы, что улучшает процесс усвоения пищи.

Кисломолочные продукты содержат в достаточном количестве незаменимые легкоусвояемые аминокислоты. Широкое применение антибиотиков в медицине повысила роль продуктов, содержащих ацидофильные палочки и бифидобактерии. Их использование дает возможность восстановить нормальную микрофлору кишечника, подавляемую антибиотиками. В результате сложных микробиологических и физико-химических процессов сквашивания молока закваской формируются вкус, запах, консистенция и внешний вид готового продукта.

Существуют разнообразные многочисленные виды кисломолочных продуктов. Широкое распространение получили следующие их классификации:

I. По консистенции и составу компонентов различают три класса продуктов:

- Жидкой и полужидкой консистенции – простокваша, йогурт, ряженка, варенец, кефир, кумыс, ацидофильные продукты;
- С высоким содержанием жира – сметана;
- С повышенным содержанием белка – творог и все творожные изделия.

II. По типу брожения:

- Продукты с чистым кисломолочным брожением: простокваша всех видов, ацидофильное молоко, творог, сметана, йогурт, ряженка и некоторые другие.
- Продукты смешанного кисломолочного и спиртового брожения - кумыс, кефир, ацидофильно-дрожжевое молоко (наряду с молочной кислотой накапливаются летучие кислоты, этиловый спирт и углекислый газ).

### III. По использованию заквасочных микроорганизмов:

- мезофильные молочнокислые стрептококки (творог, сыр домашний, сметана, простокваша обыкновенная);
- термофильные молочнокислые бактерии (йогурт, простокваша мечниковская, южная, ряженка, варенец и др.);
- мезофильные и термофильные молочнокислые бактерии (сметана и напитки пониженной жирности, творог);
- бифидобактерии и ацидофильные палочки ( бифилин, ацидофилин, ацидофильно-дрожжевое молоко ацидофильное молоко, детские ацидофильные смеси и др.);
- закваски многокомпонентные (кефир, кумыс).

## **Технология приготовления основных кисломолочных продуктов**

**Простокваша** один из самых распространенных кисломолочных продуктов. В зависимости от того, из какого молока ее готовят (пастеризованного, стерилизованного или топленого, цельного или обезжиренного), какую используют технологию, закваску (бактерии и дрожжи) различают следующие виды простокваши: обыкновенную, ацидофильную, южную, варенец, мечниковскую, йогурт, украинскую (ряженку).

Простоквашу обыкновенную изготавливают, применяя чистые культуры *Lac. lactis*. Для получения более выраженного вкуса и аромата в закваску вводят *Lac. diacetylactis*. С целью ускорения процесса сквашивания и улучшения

консистенции в закваску может быть внесено некоторое количество *Lbc. delbrueskii* subsp. *bulgaricus*. Молоко для изготовления простокваши обыкновенной пастеризуют (гомогенизация необязательна), затем охлаждают до температуры 28-32°C и вносят закваску. Продолжительность сквашивания 5-7 часов. За это время образуется плотный сгусток, кислотность которого 75°Т.

Соотношение между молочнокислым стрептококком и болгарской палочкой ориентировочно должно составлять 4:1 – 10:1 при общем количестве вносимой закваски 3-5%. При микроскопировании в препарате должны обнаруживаться главным образом молочнокислые стрептококки и в меньшем количестве палочки (если они были внесены в закваску)

Украинская простокваша (ряженка) и варенец отличаются от других кисломолочных продуктов тем, что вырабатываются из топленого (томленого) молока. Молоко стерилизуют при температуре 120°C с выдержкой 15-20 минут или нагревают при температуре 92- 95° С в течение 3 часов. В результате молоко приобретает буроватый оттенок и вкус топленого молока. После охлаждения молока до 40-45°C в него вносят 3-5 % закваски термофильного молочнокислого стрептококка (*Str. thermophilus*).

Содержание *Str. thermophilus* составляет  $10^7$  - $10^8$  клеток в 1 см<sup>3</sup> готового продукта. Сквашивание молока проводится до кислотности 80-90 °Т в течении 3-4 часов. Основной процесс сквашивания ведут термофильные молочнокислые стрептококки, вносимые с закваской. В отсутствие болгарской палочки они хуже развиваются, поэтому сквашивание молока может затягиваться до 5-6 ч и более. Это способствует развитию термоустойчивых молочнокислых палочек.

**Йогурт** один из кисломолочных продуктов, известных с очень давних времен. Тысячелетия играет он важную роль в питании народов Балкан и восточного побережья Средиземного моря. В домашних условиях для его приготовления используют овечье, козье, буйволиное и коровье молоко.

Первоначально йогурт готовили из овечьего молока на естественной закваске, в микрофлоре которой преобладала болгарская палочка. Повышенное

содержание сухих веществ в овечьем молоке позволяло получение продукта плотной консистенции. Для получения такой же консистенции при производстве йогурта из коровьего молока в нем повышают содержание сухих обезжиренных веществ (до 10-15%), что достигается длительным выпариванием до уменьшения объема в 2-3 раза или добавлением сухого обезжиренного молока.

Йогурт имеет диетическое значение, которое обусловлено накоплением микроорганизмами молочной кислоты, легкоусвояемых белков и других продуктов обмена, возникающих в результате брожения.

В настоящее время производство йогурта находится на первом месте в мире среди других кисломолочных напитков и вырабатывается по сравнительно единообразной технологии. В качестве закваски используют штаммы термофильного стрептококка и болгарской палочки для йогурта в соотношении 1:1 и 4:1 для южной.

Гомогенизированное во время пастеризации молоко охлаждают до температуры 40-45 °С и вносят закваску в количестве 1-5 %.

Заквашенное молоко термостатируют в течение 3-5 ч до кислотности 75-80° Т, после чего быстро охлаждают до 4-8 °С.

Смешанные закваски йогурта представляют настоящий симбиоз. Образующая *S.thermophilus* муравьиная кислота необходима для роста *L.bulgaricus*, а аминокислоты последней (гистидин, валин и др.) необходимы для термофильного стрептококка. Желательны также штаммы с незначительным образованием слизи. Контроль за соотношением палочек и кокков можно осуществлять прямым микроскопированием. Соотношение палочки : кокки должно быть от 1 : 1 до 1 : 2, а в болгарском йогурте - допускается от 1 : 3 до 1 : 6. Этими соотношениями можно добиться сбалансированного ароматобразования (молочная кислота, ацетальдегид, диацетил, уксусная кислота, продукты распада белка) без пороков аромата, высокой вязкости, а также малой чувствительности к бактериофагам и ингибиторам.

Рекомендуют различные варианты заквасок, например, с применением *S.diacetylactis* или специальных возбудителей брожения (*L.acidophilus* + *B.bifidum*, *S.thermophilus* + *S.filant*). Однако подобные закваски требуют иных условий ферментации и, соответственно, продукт будет иного качества.

Вполне вероятно, что *L.lactis* часто встречается в заквасках для йогурта. Используют также более чувствительные к ингибиторам штаммы *Pediococcus acidylactis*. В целом, выбор штаммов должен быть направлен на повышение антибиотического воздействия продукта на патогенные или другие нежелательные бактерии.

**Кефир** - кисломолочный напиток, вырабатываемый на естественной симбиотической закваске - кефирных грибках или зернах, в состав которых входят мезофильные молочнокислые стрептококки, мезофильные молочнокислые и термофильные палочки типа стрепто- и бетабактерий, болгарская палочка, а также дрожжи и уксуснокислые бактерии.

А.С. Королев (1974) приводит сведения о возникновении кефирных зерен в результате длительного настаивания козьего молока на кусочках телячьего или верблюжьего желудка в дубовых кадучках. На практике единственным приемлемым способом получения новых партий грибков является рост и размножение ранее подготовленных кефирных грибков.

В соответствии с рекомендациями ВНИМИ для получения грибковой кефирной закваски следует придерживаться соотношений между грибками и молоком 1 : 30 – 1 : 50. При этом микрофлора готовой закваски должна содержать определенное количество молочнокислых бактерий и дрожжей

Кефирные грибки представляют собой прочное симбиотическое образование. Они имеют определенную структуру - светло-желтые белковые образования неправильной формы и ведут себя биологически как живой организм: растут, делятся и передают свои свойства последующим поколениям. Размер их колеблется от размера вишневой косточки до величины голубинового яйца. По современным представлениям в кефирных грибках растут в симбиозе не всегда одни и те же микроорганизмы. Обычно присутствуют *S.lactis*,

*Lb. caucosicus*, *Sacharomyces*, *Lb. brevis*, *Lb. desidiosus*, *Acetobacter*. Возможны и другие возбудители брожения для кефирных заквасок, которые обладают ценными свойствами для производства кефира.

При снижении активности грибковой закваски следует поддерживать температуру культивирования грибков в пределах 18 – 20°C и аэрацию, т.е. дополнительное перемешивание закваски через 5 - 6 часов после внесения грибков в молоко. Нарращивание биомассы кефирных грибков на молочной сыворотке лучше при соотношении их 1 : 50, при постоянном или периодическом помешивании, pH 6,5 – 7,0, температуре культивирования 18-26°C. Соблюдение этих условий позволяет уже через 24 часа иметь массу грибков вдвое больше, а при соотношении 1: 10 – прирост биомассы составляет 26 %.

Особенности культивирования кефирных грибков, состав и симбиотические взаимоотношения микроорганизмов, их соотношения и другие условия существования обуславливают качество и предназначение кефира.

Микрофлора кефирной закваски сравнительно нетребовательна к качеству молока, поэтому для производства кефира к сырому молоку не предъявляют каких-либо особых требований. Процесс сквашивания и созревания кефира ведут при температуре не выше 25°C, поэтому остаточная микрофлора пастеризованного молока размножается незначительно. При производстве кефира основным источником обсеменения является кефирная закваска.

До реализации кефир хранят при температуре 4-8°C в течение 36 ч с момента изготовления.

При микроскопировании кефирного грибка хорошо видны переплетения палочковидных нитей, удерживающих все микроорганизмы.

Микрофлора кефирного грибка не отличается постоянством благодаря большому числу компонентов и соотношений между отдельными группами микроорганизмов при различных условиях культивирования. Так, например, при низких температурах культивирования (18-20°C) в закваске успевают развиваться ароматобразующие бактерии, при повышении температуры в боль-

шем количестве развиваются *Lactococcus lactis*. Условия культивирования оказывают влияние на скорость роста и размеры кефирных грибков.

Мезофильные молочнокислые стрептококки (*L.lactis*, *L.cremoris*) обеспечивают активное кислотообразование и формирование сгустка кефира. Их количество в готовом продукте достигает  $10^9$  в  $1 \text{ см}^3$ .

Мезофильные молочнокислые палочки составляют в кефире  $10^2$ - $10^3$  в  $1 \text{ см}^3$  и существенно не влияют на качество готового продукта.

При повышении температуры и увеличении продолжительности процесса сквашивания их количество может достигать  $10^9$  в  $1 \text{ см}^3$ , что приводит к повышению кислотности продукта. Количество термофильных молочнокислых палочек в  $1 \text{ см}^3$  кефира достигает  $10^7$ - $10^8$ .

Ароматобразующие молочнокислые стрептококки образуют ароматические вещества и углекислый газ. В кефирной закваске они представлены в основном *Leu. dextransum*, который развивается медленнее молочного и сливочного стрептококков. Содержание их в кефире может стимулироваться при размножении дрожжей и составляет  $10^7$ - $10^8$  в  $1 \text{ см}^3$ . По сравнению с молочнокислыми бактериями дрожжи развиваются значительно медленнее. Максимум их развития достигается во время созревания продукта и составляет  $10^6$  клеток в  $1 \text{ см}^3$ .

Уксуснокислые бактерии способствуют формированию сгустка кефира. Излишняя их концентрация может привести к появлению слизистой и тягучей консистенции продукта. Содержание уксуснокислых бактерий в готовом продукте составляет  $10^4$ - $10^5$  в  $1 \text{ см}^3$ .

Установлено, что микрофлора кефира в различные периоды года относительно стабильна. В летнее время несколько повышается количество термофильных молочнокислых палочек, а в весеннее уменьшается содержание уксуснокислых бактерий и снижается вязкость продукта. Поэтому в весеннее время рекомендуется повышать температуру культивирования кефирных грибков до  $25^\circ\text{C}$  в целях интенсификации развития уксуснокислых бактерий.

**Кумыс** принадлежит к кисломолочным продуктам смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения. Спиртовое брожение в кумысе протекает более бурно, чем в кефире.

Готовят его из кобыльего молока, однако в последнее время вырабатывают его и из коровьего молока. Кобылье молоко беднее казеином, чем коровье, и, наоборот, богаче альбумином, лактозой, витаминами С, В<sub>6</sub> и микроэлементами - кобальтом и медью. Оно отличается от коровьего иммунными свойствами в отношении возбудителя туберкулеза.

Для повышения лечебных свойств кумыса из коровьего молока применяют специальные закваски из дрожжей, сбраживающих лактозу, антибиотически активных против возбудителей туберкулеза (микобактерий), штаммов *Lb. bulgaricus* (типичный представитель микрофлоры кумыса из кобыльего молока) и *Lb. acidophilus*, (антибиотически активный микроорганизм против нежелательной микрофлоры кишечника). Внесение в закваску стрептококков нецелесообразно, так как высокая кислотность кобыльего молока сразу после заквашивания и низкая буферность его создают неблагоприятные условия для развития молочнокислого стрептококка. Кроме того, некоторые культуры стрептококка угнетают развитие дрожжей и, следовательно, тормозят спиртовое брожение.

Кумыс в промышленном масштабе почти не вырабатывается из-за ограниченного количества кобыльего молока и резкой сезонности его получения. Разработана технология кумыса из специальной молочной смеси, составленной из цельного и обезжиренного молока, подсырной сыворотки с добавлением лактозы и витамина С.

В состав закваски кумыса входят молочнокислые палочки, стрептококки в небольшом количестве и молочные дрожжи.

Кумыс является ценным лечебным напитком, благодаря выделению молочнокислыми дрожжами и некоторыми видами молочнокислых бактерий антибиотиков, бактерицидно действующих на туберкулезную палочку и возбудителей кишечных заболеваний.

В зависимости от продолжительности созревания кумыс подразделяют на слабый, созревающий одни сутки, средний- двое суток, и крепкий- трое суток. Кумыс имеет кислый своеобразный вкус и запах, жидкую консистенцию без сгустков. Слабый кумыс имеет кислотность 60-80°Т, содержание спирта около 1 %; средний - 81-105°Т, спирта до 1,75 %; крепкий соответственно – 106-120°Т и до 2,5 %.

В кумысе в большом количестве обнаружены витамины А,С и группы В, а также антибиотик низин, который подавляет развитие туберкулезной палочки. В результате систематического употребления кумыса улучшаются желудочная секреция, тонус и перистальтика желудка и кишечника. Белки кумыса, находящиеся в растворимом и мелкодисперсном состоянии, легче всасываются и усваиваются. Кумыс рекомендуется при лечении вегетативной нервной системы, желудочно-кишечных заболеваний, туберкулеза верхних дыхательных путей, хронических бронхитов и пневмоний.

**Ацидофильные продукты.** В 1900 г. Тиссье обнаружил, что у грудных детей, находящихся на естественном кормлении материнским молоком, микрофлора кишечника представлена исключительно *Bifidobacterium bifidum*, в 1903 году русским врачом И. О. Подгаевским была открыта ацидофильная палочка (*Lb.acidophillus*).

В 1910 году Э.Э. Гартье доказал, что ацидофильную палочку можно с успехом использовать в лечебных и профилактических целях для борьбы с желудочно-кишечными заболеваниями человека. Он установил, что эта бактерия очищает кишечник не только от гнилостных, но и от некоторых болезнетворных бактерий.

Несмотря на то, что ацидофильная палочка была открыта раньше болгарской, ее не использовали более 20 лет. Лишь после того, как были выделены ацидофильные культуры, быстро свертывающие молоко, ацидофильная палочка заняла свое место среди молочнокислых бактерий, применяемых в производстве продуктов питания.

В настоящее время доказано, что ацидофильная палочка и некоторые молочнокислые бактерии обладают антибиотическими свойствами и выделяют антибиотики – низин, лизоцим, лакталин, никозин, подавляющие возбудителей туберкулеза, мастита, дифтерии и других заболеваний. Многие штаммы молочнокислых бактерий способны накапливать витамины группы В. Однако *Lb.acidophilus* занимает особое место, поскольку может поселяться в кишечнике человека и обладает сильными антибиотическими свойствами по отношению к фекальным штаммам *E.coli* и кишечным патогенным бактериям.

Ацидофильное молоко. Чистое ацидофильное молоко, называемое модифицированным йогуртом, содержит только *Lb.acidophilus*. Его изготавливают из цельного или обезжиренного молока, стерилизованного и при строгом соблюдении асептики в процессе производства. Продукт готовят, сквашивая пастеризованное молоко чистыми культурами ацидофильных бактерий. Они участвуют в активном сквашивании молока, формировании вкуса, консистенции, лечебных свойств продукта. Их количество в готовом продукте достигает  $10^8$ - $10^9$  клеток в  $1\text{ см}^3$ . Молоко пастеризуют при  $92$ - $95\text{ }^\circ\text{C}$  2-3 мин. Закваску вносят в объеме 1-5 %. Молоко сквашивают при  $40\text{ }^\circ\text{C}$  до кислотности 70-80 °Т. При медленном охлаждении продукта ацидофильные бактерии могут вызывать излишнюю кислотность, в результате продукт окажется нестандартным по кислотности (выше  $120\text{ }^\circ\text{T}$ ).

Несмотря на то, что имеется много сообщений о взаимном антагонизме между ацидофильными бактериями и кишечной палочкой, практически в молоке развитие кишечной палочки в присутствии ацидофильных бактерий может идти очень интенсивно. Видимо, в молоке не создается условий, при которых ацидофильные бактерии могли бы проявлять антагонистическую активность по отношению к кишечной палочке.

Ацидофильное молоко успешно применяется как лечебное и вспомогательное средство при дизентерии и других заболеваниях человека и сельскохозяйственных животных.

В состав закваски для ацидофилина входят равные части ацидофильной палочки, мезофильных молочнокислых стрептококков и симбиотической кефирной закваски. Количество закваски 5-8%. Кислотность готового продукта 100-110 °Т.

Основной недостаток ацидофилина – сложность микробиологического состава закваски, что затрудняет получение продукта постоянного качества. Кроме этого, в результате введения мезофильных молочнокислых стрептококков (*Lac.lactis*) снижаются антибиотические свойства продукта, а, следовательно, его лечебная ценность.

Ацидофильная простокваша. Пастеризованное молоко заквашивается чистыми культурами ацидофильной палочки и молочнокислого стрептококка. Соотношение их устанавливают с таким расчетом, чтобы в готовом продукте эти виды микроорганизмов находились в приблизительно равных количествах. Для улучшения консистенции в состав закваски ацидофильных бактерий вводят до 20% слизистых культур. Кислотность готового продукта 100-110°Т. Вкус продукта значительно улучшается при введении в закваску штаммов ароматобразующих лактобактерий.

Ацидофильно-дрожжевое молоко – диетический кисломолочный напиток, имеющий тягучую консистенцию и кисловатый острый дрожжевой вкус. В пастеризованное молоко вносят закваску, состоящую из ацидофильных бактерий и дрожжей вида *Sacch. lactis*. Продукт получают при смешанном молочнокислом и спиртовом брожении. При совместном развитии ацидофильных бактерий и дрожжей в молоке накапливается больше антибиотических веществ. Кислотность готового продукта 90-100°Т.

Ацидофильно-дрожжевое молоко рекомендуется как вспомогательное средство при лечении туберкулеза, кишечных заболеваний и фурункулеза.

Ацидофильная паста. Из ацидофильного молока с кислотностью 80-90 °Т принудительно отпрессовывают часть сыворотки в мешках или отделяют ее на творожных сепараторах, а затем вводят наполнители (сахарный или фруктово-сахарный сироп). Кислотность готового продукта 250 °Т.

Ацидофильная паста обладает бактерицидными свойствами против ряда микроорганизмов. Установлено, что ее можно успешно использовать при лечении желудочно-кишечных заболеваний – колитов, поносов и острых энтероколитах.

**Бифидопродукты** (жидкие и твердые) изготавливают с помощью так называемой “мягко сквашивающей молочнокислой закваски”, в которой симбиотически соединены *Lb.acidophilus*, *Str.thermophilus* и виды *Bifidobacterium* в определенных соотношениях. Род *Bifidobacterium* в настоящее время включается в семейство *Actinomycetaceae*. Его типичный представитель *Bifidobacterium bifidum* анаэроб, растущий в виде вариабельной палочки. Добавка бифидобактерий к диетическим кисломолочным напиткам основывается на свойстве этого обитателя кишечника положительно влиять на нарушения биологического равновесия в пищеварительном тракте человека. Подобные напитки эвакуируются из желудка более медленно и равномерно, чем пресное молоко. Легкость усвоения продукта объясняется уменьшением содержания дисахаридов при бактериальной ферментации данного продукта. Накапливающаяся при створаживании молочная кислота способствует повышению секреторной деятельности желудочно-кишечного тракта, а присутствующие микроорганизмы обладают выраженной антагонистической активностью по отношению к кишечной палочке, угнетают рост стафилококков, протей, что связано с синтезом бифидобактериями антибиотиков (низина, лактолина и др.)

Продукты, обогащенные бифидобактериями обладают высокими диетическими свойствами. Они содержат ферменты, антибиотические вещества, жирные кислоты, свободные аминокислоты, микро- и макроэлементы и другие биологически активные соединения.

Бифидобактерии входят в состав продуктов детского питания и молочных продуктов, обладающих лечебно-профилактическими свойствами.

Бифидосодержащие продукты делятся на три группы.

1. Продукты в которых размножение бифидобактерий не предусматривается. В их составе жизнеспособные клетки бифидобактерий, выращенные на специальных средах.
2. Продукты в которых бифидобактерии активированы добавленными в молоко бифидогенными факторами. Готовятся на основе чистых или смешанных культур бифидобактерий.

Продукты смешанного брожения. Содержащие одновременно культуры бифидобактерий и молочнокислых микроорганизмов.

Для производства разнообразных кисломолочных продуктов хорошего качества рекомендуются следующие комбинации молочнокислых культур: *B. bifidum* + *Lb. acidophilus*; *B. bifidum* + *L. lactis*; *B. bifidum* + *Leu. dextranicum* и др. Ассортимент продуктов, содержащих бифидобактерий, достаточно широк.

При совместном выращивании бифидобактерий с молочнокислыми бактериями отмечается отсутствие антагонистического воздействия друг на друга. Более того, многие виды молочнокислых стрептококков и палочек стимулируют рост бифидобактерий в молоке.

Обычно при производстве продуктов смешанного брожения лабораторную закваску готовят для каждой культуры в отдельности, а производственную – из смеси этих культур. Культивирование бифидобактерий при приготовлении заквасок проводят до момента сквашивания молока (рН 4,5 - 4,6). В 1 мл готовой закваски содержится в зависимости от штамма  $10^9$  –  $10^{10}$  жизнеспособных клеток; в заквасках из смешанных культур бифидобактерии обнаруживаются в 8 – 9 разведениях. Полученные кислородоустойчивые мутанты бифидобактерий, способны расти в молоке без стимуляторов роста в аэробных условиях. Мутантные штаммы бифидобактерий сохраняют свои биохимические свойства и одинаково хорошо растут в цельном, обезжиренном, восстановленном молоке, молочной сыворотке и могут быть использованы в качестве заквасочной культуры. Применение мутантных штаммов позволяет уве-

личить концентрацию жизнеспособных клеток на 1 – 2 порядка и значительно повысить стойкость готового продукта при хранении.

**Творог** вырабатывают из пастеризованного молока путем сквашивания его закваской, приготовленной на чистых культурах мезофильных стрептококков с последующим удалением сыворотки. Разработано несколько способов производства творога, отличающихся продолжительностью технологических процессов, при которых происходит развитие микроорганизмов.

Основными микроорганизмами, обеспечивающими активное кислотообразование с начала процесса сквашивания, являются мезофильные молочнокислые стрептококки закваски (*L.lactis*, *L.cremoris*, *L.diacetylactis*, *Leu. dextranicum*). Их количество в готовом твороге достигает  $10^8$  -  $10^9$  клеток в 1 г. В состав закваски для творога, вырабатываемого ускоренным способом, вводят также термофильный стрептококк. Кислотность готового продукта 180-200° Т.

**Домашний сыр** относится к мягким кисломолочным сырам без созревания. Технология домашнего сыра близка к технологии творога. Особенности состоят в пониженной температуре пастеризации обезжиренного молока, промывание водой и подогревании до температуры 48-55° С.

При производстве домашнего сыра применяемая закваска состоит из штаммов *L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*, *Leu. dextranicum*. Первые два вида ведут активный кисломолочный процесс, а два последние обеспечивают аромат готового продукта. Особенно важно, чтобы в состав закваски не входили штаммы, образующие большое количество углекислого газа, в противном случае возможно всплывание зерна в процессе производства. В домашнем сыре количество молочнокислых стрептококков меньше, чем в твороге, и составляет  $10^7$ - $10^8$  в 1 г. Это объясняется тем, что во время нагревания зерна количество молочнокислых стрептококков в нем снижается на 90-95 %.

**Сметану** получают из нормализованных пастеризованных сливок путем сквашивания их закваской с последующим созреванием при низких температурах.

Сливки при производстве сметаны пастеризуют при высоких температурах, поэтому в остаточной микрофлоре преобладают термоустойчивые молочнокислые палочки и споры бактерий.

В состав заквасок для сметаны вводят *L.lactis*, *L.cremoris*, *L.diacetylactis*, *Leu.cremoris*, *Leu.dextranicum*.

В составе заквасок для сметаны часто используют термофильные стрептококки, уксуснокислые бактерии, ацидофильные палочки для ускорения кисломолочного процесса и улучшения качества продукта.

Гомоферментативные молочнокислые стрептококки обеспечивают активное сквашивание сливок. В состав закваски подбирают штаммы *L.cremoris*, образующие сгустки вязкой консистенции.

Гетероферментативные стрептококки обеспечивают ароматобразование в сметане. Общее содержание молочнокислых стрептококков в 1 г сметаны достигает  $10^7$ . Кислотность готового продукта составляет 65-90°Т.

### **Микробиологический контроль производства кисломолочных продуктов**

Производство всех ферментированных продуктов должно проводиться под строгим контролем санитарно-гигиенических условий производства и готовой продукции, а также всего технологического процесса.

Эффективность пастеризации молока, предназначенного для производства продуктов контролируется не реже 1 раза в декаду.

Закваски обязательно контролируют на наличие бактерий группы кишечной палочки. БГКП должны отсутствовать в  $10 \text{ см}^3$  закваски.

Контроль производства кисломолочных продуктов проводят ежемесячно. Не реже одного раза в 5 дней готовую продукцию контролируют на наличие БГКП и по микроскопическому препарату.

Контроль технологического процесса производства творога и сметаны производится не реже 2 раз в месяц.

Вид продукта	Кол-во продукта (г, см <sup>3</sup> ) не допускаются		
	БГКП (колиформы)	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы	Staph.aureus
Творог, дом.сыр, твор.изделия без термической обработки	0,001	25	0,1
Творог, дом.сыр, твор.изделия с термической обработкой	0,01	25	0,1
Сливочные десерты	0,01	25	1,0
Простокваши	1,0	25	1,0
Кефир, кумыс, ацидофильные продукты	0,01	25	1,0
Кефир «Би-фидок»	0,01	25	1,0
Напитки из сыворотки	0,01	25	1,0
Сметана	0,001	25	1,0
Сметана с термической обработкой	0,01	25	1,0

Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы не допускаются в 25 г всех видов кисломолочных продуктов. Золотистый стафилококк не должен содержаться в 1 см<sup>3</sup> сметаны, простокваш и др. продуктов, а в твороге его содержание - не допускается в 0,1 г.

В случае возникновения в продукции порока излишняя кислотность и вспучивание, с оборудования берут пробу на наличие термоустойчивых молочных палочек и дрожжей.

## Пороки кисломолочных продуктов и

### причины их возникновения

При развитии посторонней микрофлоры и остаточной микрофлоры пастеризованного молока в кисломолочных продуктах развиваются пороки.

Медленное сквашивание происходит из-за низкого качества молока-сырья или при снижении активности закваски, а также в результате развития бактериофага. При этом пороке происходит изменение вкуса и запаха готового продукта.

В теплое время года в кефире и в сметане наблюдается слишком быстрое сквашивание. Этот порок возникает при излишнем развитии термоустойчивых молочнокислых палочек, входящих в остаточную микрофлору пастеризованного молока.

Запах сероводорода возникает из-за разложения белков молока и снижения молочнокислого брожения, что является следствием развития гнилостных бактерий и кишечных палочек. Для исправления порока необходима смена закваски.

При излишнем развитии в кисломолочных продуктах дрожжей и БГКП возникает вспучивание.

Тягучесть, ослизнение связаны с развитием уксуснокислых бактерий, а также появлением слизиобразования у молочнокислых бактерий. Может возникать из-за попадания кефирной закваски в молоко, предназначенное для других молочных продуктов.

В йогурте тягучесть может быть из-за увеличения количества термофильных стрептококков выше или при попадании с поверхности оборудования или кефирной закваски уксуснокислых .

Плесневение может возникнуть при долгом хранении продукта в условиях пониженных температур.

### 3.7 Микробиология сливочного масла

Сливочное масло – концентрат молочного жира, массовая доля которого колеблется в зависимости от вида масла от 50 до 85%. Кроме жира в масло частично переходят белки, молочный сахар, витамины и др.

Масло - высокоэнергетический пищевой продукт с хорошей усвояемостью, содержит необходимые человеку фосфолипиды (лецитин и др.), жирорастворимые витамины (А, D, Е), водорастворимые витамины группы В, витамин С, β-каротин.

По пищевой ценности масло уступает сырам и некоторым другим молочным продуктам вследствие меньшей сбалансированности основных питательных веществ и низкого содержания полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, арахидоновой, линоленовой).

Сладкосливочное масло производят из свежих пастеризованных сливок. Для производства кисломолочного масла используют сквашенные сливки.

Состав масла: молочных жир, вода, обезжиренные сухие вещества. В состав сухого вещества масла входят белки, минеральные вещества, витамины и др. Основной питательной средой для развития микроорганизмов в масле является плазма, богатая питательными веществами. Способностью к усвоению жиров (липолитической активностью) обладают флуоресцирующие бактерии, микрококки, микроскопические грибы.

#### Состав микрофлоры масла и изменение в процессе хранения

Количество первичной микрофлоры в масле зависит от условий его производства, качества сливок и способа выработки масла. Бактерии попадают в масло из воды, соли, воздуха, наполнителей, с поверхности оборудования, упаковочного материала.

Количество микроорганизмов в масле составляет в 1 г продукта от нескольких тысяч до одного миллиона клеток. Микрофлора сладкосливочного масла представлена молочнокислыми бактериями, дрожжами, спорообразующими бактериями *Bacillus* и *Clostridium*, БГКП, микроскопическими грибами, психрофильными бактериями *Pseudomonas* и др.

При температуре хранения ниже минус 11<sup>o</sup>C прекращаются микробиологические процессы и происходит отмирание микроорганизмов в масле. Через 6-9 месяцев отмирает 95-98% молочнокислых бактерий.

Количество молочнокислых микроорганизмов в кисломасляном масле составляет от пяти до десятков миллионов в 1 г. В состав закваски для кисломасляного масла входят молочнокислые микроорганизмы *L.lactis*, *L.cremoris*. Часто в закваску входит и ароматобразующий *L.diacetylactis* который способен образовывать молочную кислоту и диацетилат, придающий маслу приятный кисломасляной аромат.

### **Пороки масла**

Пороки масла чаще всего возникают во время хранения.

Затхлые, гнилостные вкус и запах чаще проявляются в сладкомасляном масле. Это порок связан с попаданием в масло БГКП и протеолитических микроорганизмов. Развитие этих микроорганизмов ведет к расщеплению белков плазмы масла до аминокислот в результате чего образуются сернистый водород и амины. Порок может возникать при загрязнении сливок или созревании их и температуре выше 8<sup>o</sup>C.

Поверхностное окисление масла (Штафф). При этом пороке происходит изменение цвета и вкуса поверхностного слоя масла. Этот процесс возникает в результате жизнедеятельности аэробной микрофлоры (флюоресцирующих и гнилостных бактерий, дрожжей и плесневого гриба). Верхний слой масла становится полупрозрачным, появляется специфический запах и горьковатый, а иногда и приторно-едкий вкус. Катализаторами процесса являются солнечный свет, высокая проницаемость упаковочных материалов.

Кислый вкус - порок сладкомасляного масла, проявляющийся при хранении масла при температуре выше 10<sup>o</sup>C. Также возможно появление этого порока или использования сырья повышенной кислотности.

Сырный вкус появляется в старом масле при разложении белка и жира протеолитическими бактериями и плеснями в результате хранения масла при низкой температуре.

Дрожжевой вкус появляется в масле в результате развития дрожжей родов *Torula* и *Saccharomyces* в несоленом кисломолочном масле.

Горький вкус возникает в результате развития протеолитических бактерий, флуоресцирующих палочек и некоторых видов плесеней и дрожжей.

Прогорклый вкус вызывают микроорганизмы, выделяющие фермент липазу. Чаще этот порок встречается в несоленом масле. Одновременно с этим масло становится ярко-желтой окраски.

Плесневение возникает в результате развития плесневых грибов при выработке масла из непастеризованных сливок, при плохой набивке масла в тару, хранении масла при высоких температурах и влажности.

### **Микробиологический контроль производства масла**

На производстве при выпуске готовой продукции в масле и спредах нормируются микробиологические показатели:

- количество БГКП;
- уровень КМАФАнМ;
- *Staphylococcus aureus*;
- *Listeria monocytogenes*;
- патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы;
- содержание дрожжей и плесеней

Микробиологические показатели определяют в готовой продукции 2 раза в месяц. БГКП в кисломолочном масле не должны содержаться в массе 0,01-0,001 г.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в 1 г сладкомолочного масла не должно превышать  $10^4 \dots 10^5$  КОЕ.

Патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы и листерии) не допускаются в 25 г масла. Наличие *Staphylococcus aureus* не допускается в 0,1 г для всех видов масла. Для вологодского масла данный показатель составляет 1 г. Количество *Listeria monocytogenes* не нормируется в кисломолочном и топленом масле.

Количество дрожжей и плесеней не должно превышать - 100 КОЕ/г,  
Для масла вологодского – 50 КОЕ/г.

### 3.8 Микробиология сыра

Сыр по вкусовым и питательным свойствам является ценным продуктом переработки молока. Вкус, аромат, консистенция и рисунок сыра формируется под влиянием сложных биохимических процессов. Формирование вида и качества сыра определяется микробиологическим составом молока. Свертывание молока (коагуляцию казеина) производят путем сквашивания его молочнокислыми бактериями и введением сычужного фермента.

При изготовлении различных видов сыров используют определенные режимы и технологические приемы, направленные на регулирование сложных биохимических процессов, протекающих в сырной массе.

#### 10. Главные особенности видов пропионовых бактерий

(Cummins, Johnson, 1986)

Особенность	P.acnes, типы		P.avidum, типы		P.granulosum
	I	II	I	II	
<u>Сбраживание:</u>					
глюкоза	+	+	+	+	+
сорбит	-	-	-	-	-
сахароза	-	-	+	+	+
мальтоза	-	-	+	+	+
гидролиз эскулина	-	-	+	+	-
<u>Биохимические тесты:</u>					
разжижение желатины	+	+	+	+	-
образование индола	+	+	-	-	-
восстановление нитратов	+	+	-	-	-

Большое влияние на консистенцию, вкус, запах и рисунок сыра оказывают молочнокислые бактерии.

Во время созревания в сыре образуются молочная, уксусная кислота, диоксид углерода, водород и подавляется развитие посторонней микрофлоры.

Пропионовокислые бактерии активно продуцируют витамин В12 (до 4-5 мг/л), обогащая готовый продукт.

В процессе пропионовокислого брожения образуется диоксид углерода, который раздвигает сырную массу, в результате чего в сыре образуются глазки.



В состав заквасочных культур для сыров иногда входят штаммы энтерококков. При своем развитии они оказывают влияние на состав свободных аминокислот, расщепляя белок в сыре.

При производстве сыров с желто-коричневой слизью используются дрожжи, грибы и пигментообразующие бактерии. Дрожжи и грибы (*Geotrichum candidum*), способствуют росту пигментообразующих бактерий (*Brevibacterium linens*), которые тормозят развитие посторонних микроорганизмов, а также формируют вкус и аромат сыров.

«Благородными плесени» используют в производстве мягких плесневых сыров. Культуры гриба *Penicillium* (*P. roquiforti*, *P. camamberti*, *P. candidum*), вызывают специфические изменения белков и жира с образованием веществ, влияющих на вкус и аромат сыров.

Сыры, имеющие в составе микрофлоры бифидобактерии обладают выраженным лечебно-профилактическим действием, которое обусловлено образованием в процессе жизнедеятельности бифидобактерий биологически активных соединений.

Технически вредными микроорганизмами для сыроделия: БГКП, молочнокислые бактерии незаквасочного происхождения, маслянокислые бактерии, гнилостные бактерии, микроскопические грибы, флуоресцирующие бактерии и др.

В сыроделии используют многоштаммовые закваски. В качестве основных микроорганизмов для производства сыров используют *Streptococcus*

*lactis* и *Streptococcus cremoris*. Кроме этого в состав заквасок входят ароматобразующие бактерии *Leuconostoc dextranicum* и *Streptococcus diacetylactis*.

Для сыров с высокой температурой второго нагревания используют закваски имеющие в своем составе термофильные микроорганизмы - *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis*. Кроме этого для таких сыров в состав закваски добавляют пропионовокислые бактерии. В основном *Propionibacterium freudenreichii (shermanii)*.

При производстве мягких плесневых сыров помимо мезофильных стрептококков используют плесень *Penicillium album* и *Penicillium candidum* нанося конидии на поверхность сыра путем орошения. Для сыров типа рокфор – микроаэрофильную плесень *Penicillium roqueforti*. Для оптимального развития плесени внутри сыра головку сыра прокалывают специальными иглами, прокалывая головку сыра, делают 30-60 проколов.

### **Изменение микрофлоры в процессе выработки сыров**

При производстве различных сыров каждый отдельный вид микробов проходит свой собственный специфический цикл развития от свертывания во время подготовки сырной массы до конца общего процесса созревания. Во время сквашивания и созревания у микроорганизмов, развивающихся в сыре происходит подъем и спад в рамках общей популяции микроорганизмов. Целенаправленная деятельность микроорганизмов в этот период оказывает существенное влияние на свойства продукта. На развитие микроорганизмов влияет сыропригодность молока (брожение и предрасположение), температура, влажность воздуха, время отделения сыворотки и содержание ее в сыре, величина рН внутри и на поверхности сыра, содержание соли и посолка в соляном бассейне, окислительно-восстановительный потенциал внутри сыра, биокатализаторы, образуемые микроорганизмами и другие факторы.

Подготовка молока. Парное и охлажденное свежесвыдоенное молоко под воздействием сычужного фермента плохо свертывается. Поэтому, молоко, предназначенное для производства сыра подвергают предварительному со-

зреванию. Выдержку молока можно проводить с использованием закваски или без нее.

Если созревание проводят с закваской, то в подготовленное пастеризованное молоко вносят чистые культуры молочнокислых стрептококков и палочек в количестве 0,1-0,3% и выдерживают при 20-22<sup>0</sup>С в течение 10-15 часов до определенной кислотности.

Во время созревания заканчивается бактерицидная фаза и начинают развиваться молочнокислые бактерии. Кислотность молока за период созревания увеличивается лишь на 1-2<sup>0</sup>Т. Образовавшаяся молочная кислота вступает во взаимодействие с фосфорно- и лимоннокислыми солями кальция, в результате фосфаты и цитраты преобразуются в лактаты, которые хорошо растворяются в воде и обогащают молоко солями кальция.

При выработке сыра возможно использование смеси незрелого и зрелого молока. Количество зрелого молока в этом случае 15-40% от общего объема смеси.

#### Свертывание молока и образование сгустка

При подготовке молока к свертыванию в него вносят бактериальную закваску в количестве 0,5-1,5% от массы молока. Для ускорения свертывания молоко нагревают до температуры 32-35<sup>0</sup>С. При разрезании сгустка ускоряется выделение влаги и создаются оптимальные условия для развития микроорганизмов. При разрезании и дроблении сгустка часть микроорганизмов отделяется с сывороткой, а большая часть остается в сырном зерне.

При повышении температуры до 40-43<sup>0</sup>С увеличивается содержание термофильных молочнокислых бактерий и снижается количество мезофильных микроорганизмов. При производстве сыров с высокой температурой второго нагревания для того, чтобы ускорить обезвоживание сырной массы проводят ее нагрев до 40-58<sup>0</sup>С.

#### Формование и прессование

Данный этап проводится для придания сыру формы. В процессе прессования и формования сырная масса уплотняется. В течении всего времени

прессования в сырной массе продолжают процессы брожения молочного сахара, вследствие образования молочной кислоты постепенно нарастает кислотность. Повышение кислотности сырной массы ведет к снижению развития гнилостных бактерий.

Под действием сычужного фермента и бактериальных экзопротеаз в процессе прессования за счет частичного протеолиз казеина происходит увеличение количества растворимых азотистых соединений- источников азотного питания молочнокислых бактерий.

#### Посолка сыров

Добавление соли влияет на формирование вкуса, запаха и консистенцию сыра, а также подавляет развитие микроорганизмов. Содержание поваренной соли колеблется от 1,2 до 7%, в зависимости от вида сыра. В случае повышения концентрации соли выше 3,7% развитие молочнокислых бактерий может полностью остановиться. В этом случае кислотность сыра будет снижаться. В таких условиях могут развиваться токсигенные стафилококки опасных для человека. Для предотвращения снижения кислотности при посолке рекомендуется использовать солеустойчивые штаммы молочнокислых бактерий (выдерживающих концентрацию соли до 6%).

#### Созревание сыра

С момента посолки начинается созревание сыра. Самым большим изменениям в процессе созревания сыра подвергаются белки, жиры, молочный сахар и в меньшей степени минеральные вещества и витамины.

За счет развития пропионовокислых, молочнокислых и др бактерий в сыре формируются характерные для каждого вида сыра органолептические показатели, а также вкус, запах и рисунок.

Микрофлора большинства свежих сыров почти полностью состоит из молочнокислых бактерий. На первой стадии созревания преобладают молочнокислые стрептококки, а на второй стадии палочки.

В течение первых двух недель созревания молочный сахар полностью сбраживается. Под действием ферментов молочнокислых бактерий лактоза

подвергается брожению и в результате которого образуется молочная кислота (65-70% общего количества молочного сахара).

Пропионовокислые бактерии в твердых сырах способны сбразивать лактаты с образованием пропионовой, уксусной кислот, а также углекислого газа. В процессе изменений лимонной кислоты образуются ароматические вещества - диацетил и ацетоин.

Казеин молока под действием сычужного фермента превращается в параказеин. В процессе созревания под воздействием молочной кислоты, сычужного фермента, поваренной соли и ферментов параказеин распадается на более простые соединения (азот, пептиды, аминокислоты и аммиак).

В начале созревания в сырах появляется горький вкус в результате образования пептонов. К концу созревания пептоны превращаются в пептиды и аминокислоты и горечь исчезает. Во время созревания сыра под действием ферментов микрофлоры свободные аминокислоты преобразуются в вещества (альдегиды, кетоны и др.), формирующие вкус и запах готового продукта.

Под действием липаз, поступающих с молоком, сычужным ферментом и продуцируемыми микроорганизмами, жир подвергается гидролизу с образованием летучих жирных кислот. Уксусная, масляная, пропионовая и др. кислоты участвуют в образовании характерного вкуса и запаха сыра.

Одновременно с жирными кислотами в сырах образуется глицерин, который потребляется микроорганизмами.

В зрелых сырах в результате разложения белков (а в сырах, созревающих при участии плесеней также и жира) накапливаются водорастворимые вещества и повышается осмотическое давление, в результате чего подавляется развитие многих микроорганизмов (в т.ч. патогенных бактерий) и повышает стойкость сыра при хранении.

### **Микробиологические пороки сыров**

При созревании в сыры могут попасть технически вредные микроорганизмы, вызывающие пороки сыров. Различают следующие пороки сыров микробиологического происхождения:

## Пороки рисунка

Вспучивание сыров возникает при выделении в избыточном количестве таких газов, как диоксид углерода и молекулярный водород.

Раннее вспучивание возникает при высоком значении рН, низкой концентрации соли в сыре и повышенной температуре в посолочном отделении в результате развития бактерий группы кишечной палочки. Для предотвращения порока необходимо создать оптимальные условия для развития молочнокислых бактерий, использования активной закваски и бактериально чистого молока.

При кормлении коров некачественным силосом в молоко попадают маслянокислые бактерии (*Cl. tyrobutyricum*). В процессе их развития в созревающем сыре после прекращения молочнокислого брожения и повышения рН возникает порок позднего вспучивания. Сыр имеет неправильный щелевидный рисунок, размягченную губчатую консистенцию, неприятный сладковатый запах.

В сыроделии используют биологически активные штаммы *Lb. Plantarum* и штаммы молочнокислых стрептококков *Lac.lactis*, вырабатывающих антибиотик низин, в качестве антагонистов БГКП и маслянокислых бактерий.

При низкой температуре созревания сыров и при использовании молока с повышенной кислотностью у сыров проявляется редкий и мелкий рисунок. У крупных сыров такой рисунок возникает вследствие пересола сыра и недостаточном развитии пропионовокислых бактерий.

При слабом развитии в мелких сырах ароматобразующих молочнокислых стрептококков, а в сырах с высокой температурой второго нгревания пропионовокислых бактерий сыр характеризуется отсутствием рисунка – слепой сыр.

## Пороки консистенции

В результате слабого развития молочнокислых бактерий и низкой концентрации молочной кислоты и влаги возникает резинистая консистенция.

При излишнем развитии молочнокислых бактерий, высокой кислотности сырной массы сырное зерно плохо связывается и появляется крошливая консистенция.

Свищи (внутренние и наружные разрывы) появляются при пересушке сырного зерна и появляются.

Колющаяся консистенция (самокол) сыра появляется при повышенном газообразовании в процессе созревания сыра.

### **Пороки вкуса и запаха**

При использовании недостаточно активных молочнокислых заквасок в сырах наблюдается слабовыраженный вкус.

Кислый вкус возникает при интенсивном развитии молочнокислых бактерий, а также при использовании молока повышенной кислотности.

В результате развития гнилостных бактерий (микрококков и микрококков-психрофилов), развивающихся при низкой температуре созревания и накоплением в сыре пептонов и горьких пептидов возникает горький вкус.

Масляная кислота, образующаяся в результате развития протеолитических маслянокислых бактерий, придает сырам прогорклый вкус.

Возбудителями порока салистый вкус и запах являются маслянокислые бактерии. При расщеплении жира образуются оксикислоты, альдегиды, кетоны.

Запах сероводорода возникает в результате развития энтерококков (*Ent.faecalis*), разлагающих серосодержащие аминокислоты. Их развитию способствуют слабый поллот и низкая кислотность сырной массы.

### **Пороки цвета и внешнего вида**

Порок изъязвление корки проявляется в виде крупных и мелких язвочек и вызывается плесенью рода *Oospora*.

Микроскопические грибы *Penicillium glaucum*, развивающиеся при нарушении целостности корки вызывают появление подкорковой плесени.

Коричневые пятна вызывают микрококки. Данный вид микроорганизмов разлагает аминокислоту тирозин и создает благоприятные условия для активного развития *Proteus vulgaris*.

### **Микробиологический контроль производства сыров**

На сыродельных предприятиях сырое молоко контролируют 1 раз в 10 дней.

В смешанном молоке проверяют наличие БГКП (не допускаются в 0,1 см<sup>3</sup>) и общее число спор мезофильных анаэробных; проводят контроль сыропригодности молока (общее количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий и пробу на брожение и сычужно-бродильную пробу).

Закваски контролируют 1 раз в неделю по их биологической активности, а также наличие посторонних микроорганизмов и органолептическим показателям.

Каждую партию сыра ежедекадно в процессе созревания исследуют на наличие БГКП.

Контроль качества готовой продукции проводят по показателям КМАФАнМ, БГКП, содержанию золотистого стафилококка и наличие патогенных микроорганизмов (в т.ч. сальмонелл). БГКП не допускаются в 0,01...0,001 г (в зависимости от вида сыра), золотистый стафилококк – не более 500 КОЕ (в 1 г продукта). Патогенны (в том числе сальмонеллы) не допускаются в 5 г сыра. Показатель КМАФАнМ в готовом сыре не должен превышать  $5 \times 10^4$  КОЕ/г.

### **3.9 Микробиология молочных консервов и мороженого**

При консервировании (лат. *conservo* – сохранение) молочных продуктов происходит гибель микробов, создаются условия, неблагоприятные для их развития (плазмолиз). Для длительного хранения молоко консервируют путем тепловой обработки продукта, удаления влаги, высушивания, добавления сахара.

Методы консервирования молочных консервов:

Биоз– использование естественного иммунитета сырья и поддержание в нем процессов, препятствующих развитию микроорганизмов, Так при естественной бактерицидной фазе бактерицидные вещества, находящиеся в сыром молоке, препятствуют развитию в нем микроорганизмов.

Абиоз - полное уничтожение микроорганизмов под действием высокой температуры, химических веществ, ультрафиолетовых лучей и др.

Анабиоз– подавление развития микроорганизмов при помощи физических, химических и биологических факторов.

### **Сгущенные стерилизованные продукты**

Среди стерилизованных молочных консервов наибольшее распространение имеет сгущенное стерилизованное молоко.

### **Пороки сгущенных стерилизованных продуктов**

В остаточной микрофлоре стерилизованных сгущенных молочных консервов могут присутствовать споры аэробных спорообразующих бактерий семейства Bacillaceae (*Bac.cereus*, *Bac.subtilis*, *Bac.megatherium*, *Bac.coagulans*, *Bac. circulans* и др.), а также споры бактерий рода *Clostridium*.

Причины появления порчи и пороков сгущенного стерилизованного молока: повышение температуры хранения, наличие кислорода в банках, нарушение режимов стерилизации.

### **Микробиологический контроль производства**

Для проведения контроля производства отбирают пробы молока сырья и готовой продукции по ходу всего технологического процесса.

Сырое молоко по редуктазной пробе должно быть не ниже 1 класса, количество спор мезофильных и термофильных бацилл и клостридий не должно превышать 100 в 1 см<sup>3</sup>.

В пастеризованном молоке общее количество бактерий должно находиться в пределах до 5 тыс. в 1 см<sup>3</sup>, в сгущенном молоке - не более 10 тыс. в 1 см<sup>3</sup>. Количество спор мезофильных и термофильных микроорганизмов не более 10 в 1 см<sup>3</sup>.

Готовый продукт не должен содержать патогенных микроорганизмов и токсинов и удовлетворять требованиям промышленной стерильности.

Банки выдерживают в течение 10 суток при 37°C для проверки качества термической обработки. Отсутствие вспучивания банок указывает на стерильность готового продукта и способность к длительному хранению. Кислотность готового продукта не должна превышать 50°Т.

### **Сгущенные молочные консервы с сахаром**

Сгущенные молочные консервы с сахаром вырабатывают из пастеризованного цельного (обезжиренного) молока, сливок, пахты, путем выпаривания части воды последующим добавлением сахарозы.

Молоко сгущают до 1/3 первоначального объема (влаги не более 26,5%) и добавляют к нему не менее 43,5% сахара. Такое соотношение создает высокое осмотическое давление неблагоприятное для развития молочнокислых бактерий, дрожжей, плесневых грибов и кишечной палочки.

Сгущенное молоко с сахаром хорошо сохраняется при комнатных условиях, но не является стерильным продуктом. Его микрофлору составляют молочнокислые бактерии, термоустойчивые микрококки, клостридии, бациллы и другие микроорганизмы, остающиеся после пастеризации молока и вторичная микрофлора. Наиболее опасными микроорганизмами, способными развиваться при высоких концентрациях сахара являются дрожжи, микроскопические грибы, микрококки, спорообразующие.

### **Пороками сгущенных молочных консервов с сахаром являются:**

Бомбаж банок, вызываемый осмофильными дрожжами.

Прогорклый и горький вкус, связанный с развитием термофильных спорообразующих бактерий и гнилостных бактерий.

Плесневение, образование «пуговиц», появляющиеся при наличии в банках кислорода и развитии микроскопических грибов.

### **Микробиологический контроль производства**

Контроль сырья, направляемого на выработку сгущенного молока с сахаром контролируют не реже 1 раза в декаду.

Наличие БГКП определяют в каждой партии выпускаемых молочных консервов. В готовом продукте по ходу технологического процесса ежемесячно устанавливают содержание КМАФАнМ.

На наличие дрожжей и плесеней сгущенное молоко с сахаром проверяют один раз в 5 дней .

Требования предъявляемые к сгущенному молоку с сахаром:

- Общая бактериальная обсемененность не должна превышать  $3,5 \times 10^4$  КОЕ/г;
- КМАФАнМ не выше  $2,5 \times 10^4$  Кое/г;
- БГКП для продукта расфасованного в тару потребителя не должны определяться в 1 г, для расфасованного в транспортную тару в 0,3 г;
- Патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы) не допускаются в 25 г продукта.

### **Сухие молочные консервы**

Сухое молоко получают из цельного или обезжиренного молока, а также сливок и пахты, путем высушивания на сушильных.

Сухое молоко по своим физико-химическим показателям близко к стерилизованному молоку.

После пастеризации сырого молока в нем остаются споры микроорганизмов (стафилококков микрококков, бацилл, клостридий и др.)

Температура капелек молока при сушке достигает лишь  $60-90^{\circ}\text{C}$  и лишь небольшая часть остаточной микрофлоры погибает. В процессе дальнейшей переработки может произойти вторичное обсеменение продукта.

В процессе хранения сухого молока его сохраняемость обусловлена низким содержанием влаги. Увеличение влажности продукта выше 5% может привести к его порче.

Каждую партию сухих молочных продуктов контролируют на наличие КМАФАнМ и БГКП.

В 1 г сухого молока высшего сорта количество не должно содержаться более 50 тыс. клеток микроорганизмов.

КМАФАнМ в сухом молоке высшего сорта допускается не более  $7 \times 10^4$  КОЕ/г. БГКП не должны определяться в 0,1 г (в т.ч. сальмонеллы – в 25 г продукта).

### **Пороки сухих молочных продуктов**

Основные пороки сухих молочных продуктов нечистый вкус, Бактерии *Bac.subtilis* и *Bac.cereus* вызывают неchистый, горький и прогорклый вкус.

Возникновение этих пороков связано с развитием термофильных стрептококков и стафилококков (горький вкус), бактерий рода *Pseudomona* (горький, прогорклый вкус), грибов рода *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* (плесневение).

### **Микробиология мороженого**

Сырьем для приготовления мороженого служат молоко, сухое молоко и сливки, продукты растительного или животного происхождения, а также и разного рода добавки: питьевую воду, масло, молочный белок, какао, кофе, шоколад, орехи, ванилин, природные эссенции и др.

В процессе производства, за счет насыщения воздухом при сильном взбивании, объем замороженной пастеризованной массы увеличивается на 20-120%.

Основные источники микрофлоры мороженого: сырье, оборудование, вода, воздух, обслуживающий персонал, упаковочные материалы и др. Содержание микроорганизмов в этих объектах строго нормируется.

**Микробиологический контроль производства** проводится с учетом специфики производства, оборудования, инвентаря и материалов.

Контроль технологического процесса производства мороженого предусматривает контроль сырья, смеси для мороженого и наполнителей. В них определяют общее количество бактерий (ОМЧ) и содержание БГКП. В каждой партии желатина, помимо указанных показателей ведут определяют споры бактерий.

В готовом мороженом определяют КМАФАнМ, наличие БГКП, золотистого стафилококка, а также наличие патогенных микроорганизмов. Показа-

тель КМАФАнМ не должен превышать  $1 \times 10^5$  КОЕ/г, БГКП не допускаются в 0,1 г, золотистого стафилококка – в 1 г, а патогенных микроорганизмов (в т.ч. сальмонелл) – в 25 г.

### 3.10 Микробиология вторичного молочного сырья

Вторичным (побочным, белково-углеводным) молочным сырьем называются обрат (обезжиренное молоко), молочная сыворотка (творожная или подсырная) и пахта. Вторичные продукты имеют низкую энергетическую ценность, содержат биологически активные вещества и являются важным сырьем для производства лечебно-профилактических продуктов.

**Обрат** получают при сепарировании цельного молока. Он представляет собой однородную жидкость белого цвета со слегка синеватым оттенком, вкус и запах – молочные, чистые. Кислотность продукта не должна превышать  $19^{\circ}\text{T}$ .

Основной микрофлорой обезжиренного молока являются термостойкие молочнокислые бактерии, БГКП, стафилококки, энтерококки, гнилостные бактерии, споры грибов, дрожжей и др.

До переработки хранение пастеризованного обезжиренного молока разрешается в течение 36 часов.

Из обрата готовят питьевое нежирное молоко, обезжиренные кисломолочные напитки, сыры, белковые молочные продукты и молочно-белковые пасты, молочные консервы, казеин и др.

Микробиологический контроль производства продуктов из обезжиренного молока, проводятся по общепринятым методикам. Например, молоко сухое коровье обезжиренное не должно превышать показатель КМАФАнМ  $5 \times 10^4$  КОЕ/г, БГКП не допускаются в 0,1 г, а сальмонеллы – в 25 г продукта.

При производстве сыров, творога и казеина образуется **молочная сыворотка**. Содержание лактозы в сыворотке составляет более 70% сухого вещества. В состав сыворотки входят минеральные вещества, витамины, ферменты, органические кислоты, растворимые азотистые соединения.

В состав микрофлоры сыворотки входят молочнокислые палочки и стрептококки, пропионовокислые бактерии, дрожжи, плесневые грибы, БГКП, гнилостные микроорганизмы и др.

Сыворотка в процессе хранения быстро портится и становится непригодной для производства за счет интенсивного развития в ней микроорганизмов.

Из сыворотки можно вырабатывать молочный сахар, сгущенные и сухие продукты, белковые напитки, мороженое, сыры и др.

Молочную сыворотку используют как добавку в производстве хлебобулочных и колбасных изделий. Она может служить сырьем для получения сливок, масла, альбуминового молока и творога, альбумина.

По набору и абсолютному содержанию витаминов молочная сыворотка является биологически полноценным продуктом. Содержание витаминов в сыворотке при хранении снижается.

Порог денатурации сывороточных белков в сыворотке находится на уровне 65-70°, поэтому тепловая обработка требует специфических установок для пастеризации с очищаемой поверхностью.

Микробиологический контроль продуктов из молочной сыворотки, проводят по общепринятым схемам.

Так, например, в сывороточном белковом концентрате КМАФАНМ должно превышать  $5 \times 10^4$  КОЕ в 1 г, наличие БГКП не допускается в 1 г, а патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы) не должны определяться в 25 г продукта.

**Пахта** образуется в процессе производства масла при сбивании или сепарировании сливок.

Кислотность пахты при выработке сладкосливочного масла - не более 20°Т, кислосливочного – не более 40°Т.

Содержание КМАФАНМ - не более  $4 \times 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>. Микрофлора пахты состоит из остаточной микрофлоры пастеризованных сливок (спорообразующих и термоустойчивых бактерий) и микрофлоры вторичного обсеменения

(молочнокислых бактерий, БГКП, гнилостных микроорганизмов, энтерококков).

Пахта - ценное молочное сырье. В ней содержится большое количество фосфолипидов (в 2 и более раз выше чем в масле), обладающих антиатеросклеротическим действием. Из пахты можно получить разнообразные кисломолочные напитки, концентраты, творог и творожные изделия, мороженое, и др.

### **3.11 Биоконверсия вторичного молочного сырья**

Биотехнология – совокупность промышленных методов, использующих живые организмы, клетки, ткани и биологические процессы для получения ценных для народного хозяйства продуктов.

**Биоконверсия** – процесс превращения веществ с участием живых организмов, точнее процесс превращения одних соединений в другие при участии ферментных систем живых организмов.

Одним из возможных способов использования вторичных продуктов переработки молока является биологическая переработка с использованием микро- и макроорганизмов, позволяющая быстро и эффективно перерабатывать значительное количество сырья.

Существует широкий круг микроорганизмов, способных потреблять вторичные продукты сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности с образованием микробной биомассы. Самыми перспективными являются быстрорастущие микроорганизмы, способные усваивать не гидролизованные сельскохозяйственные отходы. В наибольшей степени этим требованиям соответствуют мицелиальные грибы и дрожжи. Жидкие и плотные отходы могут быть трансформированы в кормовые препараты, обогащенные микробным белком.

Например, в Санкт-Петербургском государственном университете разработана технология получения молочной кислоты из молочной сыворотки. Используются нетрадиционные источники углерода или отходы и побочные продукты пищевой и перерабатывающей промышленности и сельского хозяй-

ства. Эффективные штаммы бактерий рубца животного ферментируют различные крахмалсодержащие субстраты с выходом молочной кислоты.

Рекомбинантный штамм дрожжей, содержащий ген лактатде-гидрогеназы (*ldh*), в больших количествах может продуцировать молочную кислоту. При производстве молочных продуктов (сыра, творога) в процессе получения белкового сгустка из молока выделяется молочная сыворотка, которая содержит 50% сухих веществ молока. Молочная сыворотка — нестойкое сырье, которое необходимо либо немедленно использовать, либо законсервировать. Используют ее для добавления в корма, получения напитков и лактозы, обогащения пищевых продуктов и полуфабрикатов, а также в качестве питательной среды для микроорганизмов при получении молочной кислоты, спирта, кормовых дрожжей и др. По статистическим данным. 48—88% получаемой во всем мире сыворотки идет на корм скоту, 0,5—4,0% — на технические и 7—52% — на пищевые цели.

Состав молочной сыворотки заметно варьирует в зависимости от качества исходного сырья, характера готового продукта, способа отделения белка (сбраживание, ферментный способ). Наличие в сыворотке легкоусвояемых источников углерода (лактоза — молочный сахар, в меньших количествах — глюкоза, галактоза и др.) и ростовых веществ позволяет считать ее перспективным сырьем в биотехнологических процессах.

На молочной сыворотке можно выращивать поверхностным и глубинным способами микроскопические грибы (*Penicillium roqueforti*, *Rhizopus oligosporus*, *Morchella* и др.). В Канаде разработан способ выращивания культуры сморчков с выходом биомассы гриба около 25—26 г/л. Известны способы получения кормовых биомасс на основе смешанной культуры микроскопических грибов и бактерий (*Lactobacterium*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Candida utilis*, *Brettanomyces anomalis* и др.). При культивировании дрожжевых микроорганизмов на сыворотке необходимо внесение дополнительных источников азота в виде мочевины, сернокислого аммония и аммиака в количестве до 1%, что способствует повышению содержания белка в дрожжах в 2-4 раза.

### **3.12 Использование лактобактерий для коррекции нарушений микробиоты кишечника человека**

Заболеваемость и смертность населения находится в прямой зависимости от условий жизни человека. Среди этих условий одно их ведущих мест принадлежит питанию. Именно вопросы питания являются подчас неразрешимой проблемой.

В организме человека обнаруживаются практически все химические элементы, встречающиеся в природе. Источниками этих элементов является пища – совокупность неорганических и органических веществ природного происхождения. Основным составляющими пищи человека являются белки, жиры, углеводы, микроэлементы и витамины. Употребление в пищу всех этих составляющих в определенном количестве, особенности питания и умеренность в питании расцениваются как благоприятный фактор здоровья.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) до 95% жителей земного шара страдают дисбактериозом кишечника. Практически ни одно заболевание не протекает без негативных последствий для кишечной микробиоты. При этом самым распространенным средством лечения являются антибиотики, которые губительно действуют на кишечные микроорганизмы, снижая содержание полезных бактерий на 3-6 порядков. В последние годы пересматривается стратегия по поддержанию и восстановлению кишечной микробиоты. У каждого человека любой географической зоны в кишечнике находятся свои индивидуальные штаммы (аутоштаммы) лактобактерий, бифидобактерий и др. Они принадлежат этому микроорганизму с рождения и изменяют ценоз в зависимости от потребляемой пищи.

Организм взрослого человека обильно заселён микроорганизмами, из числа которых более 60% колонизируют кишечник. Это, так называемые, индигенные микроорганизмы, многообразие видов которых определяет функциональность единого микробиотканевого комплекса кишечника, находящегося под постоянным контролем микробных популяций.

В кишечнике здорового человека весом 70 кг в кишечнике находится около 2-2,5 кг живой биомассы разнообразных микроорганизмов, которые стоят на страже нашего здоровья.

Микробиоте кишечника принадлежит ведущая роль в формировании иммунологической толерантности организма. Уровень активных метаболитов (уксусной, пропионовой, молочной кислот и др.), образующихся в результате микробного гидролиза галактоолигосахаридов молока, положительно отражается на состоянии кишечника. Продукты гетероферментативного брожения, свойственные лакто- и бифидобактериям, выполняют важные энергетические задачи, всасываясь в кровь и клетки различных органов и тканей.

На состояние микрофлоры влияет образ жизни, питание, экологическая обстановка и многие другие факторы. При недостатке тех или иных штаммов микроорганизмов в кишечнике может возникать нарушение микрофлоры кишечника и изменение ее видового состава - дисбактериоз.

При нарушении микроценоза ЖКТ и его отделов с преобладанием протеолитических микроорганизмов, количество жирных кислот с большим молекулярным весом возрастает, что влияет на степень профилактического воздействия продуктов. Далее возможно формирование ассоциативного патомикробиоценоза, который возможно активизирует хронический воспалительный процесс и создает биопленку определенного состава. Ассоциация микроорганизмов биопленки может проявлять высокую резистентность к противомикробным препаратам. Подобные факты были показаны на ферментированном молоке и развитии микробов-ассоциантов

Взаимодействия между микробными сообществами ферментированного молока играют ключевую роль в формировании микробиоты человека и его здоровье. Большое значение имеют лактобактерии природных экосистем. Штаммы местных национальных молочных продуктов обладают высокой метаболической пластичностью. Разнообразные биохимически активные метаболиты (пигменты, бактериоцины и т.п.), попадая в молочные продукты, придают им определенную функциональность в организме животного и человека.

Выявлена явная связь географических рас лактобактерий с характеристикой почвы, растительности, животных. Известно, что недостаток или избыток химических элементов в почвах влияет на все звенья пищевых цепей, содержание их в животном организме, синтезе биологически активных веществ в молоке, биохимической активности лактобактерий, перестройку процессов промежуточного обмена веществ, выработку новой адаптивности и устойчивости. Так как в естественных условиях биохимические процессы протекают медленно, микроорганизмы проявляют избирательную способность, успевают адаптироваться к биохимическим стрессам.

Многokратно доказано и научно обосновано, что необходимо поддерживать и восстанавливать свою собственную микробиоту, которая формируется у каждого человека с рождения. Потребление продуктов питания (особенно кисломолочных) своей географической зоны и своего этноса, способствует созданию благоприятных физиологических условий для кишечной микрофлоры и существование ее в активном состоянии. Исследовательские работы, проведенные на кафедре технологии хранения и переработки продуктов животноводства РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева в течение многих лет показали это на примере рас природных лактобактерий национальных молочных продуктов РФ.

Использование природных рас лактобактерий связано со стимуляцией их деятельности *in situ* (с лат. — «на месте») и «возвращение» в продукты питания. Интродукция в определенные искусственные и природные экосистемы (молоко, обрат и т.п.) имеется возможность конструировать продукты лечебного и профилактического назначения. Активность и качество лечебного продукта зависит от количества и природы закваски, безопасности штаммов, их выживаемости в ЖКТ, конкурентоспособности по сравнению с нормофлорой кишечника, родства на уровне вида и др.

Изучение биохимических возможностей лактобактерий природных заквасок дают основание предположить перспективу природных форм лактобактерий для сельского хозяйства, медицины и пищевой промышленности.

Ассоциации микроорганизмов, выделенных их природных заквасок (национальных продуктов) обладают не только устойчивостью к заражению патогенами, но и более высокой стабильностью по сравнению с музейными (промышленными) культурами. Результаты дальнейших исследований позволят пересмотреть традиционные взгляды на национальные молочные продукты и сформулировать новую концепцию значения этногеографических рас лактобактерий в питании и здоровье человека.

### **Контрольные вопросы**

1. Требования, предъявляемые к молоку при приемке по микробиологическим показателям.
2. Микробиология сырого молока. Источники обсеменения молока микроорганизмами. Изменение микрофлоры молока при хранении.
3. Микробиологический контроль молока и сливок, поступающих на завод.
4. Микробиология заквасок. Классификация заквасок.
5. Приготовление заквасок в специальных лабораториях (сухой бакконцентрат, жидкий бакконцентрат, сухие закваски, кефирные грибки).
6. Пороки заквасок. Микробиологический контроль качества заквасок.
7. Диетические и лечебные свойства кисломолочных продуктов. Источники микрофлоры кисломолочных продуктов.
8. Микробиологический контроль производства различных кисломолочных продуктов.
9. Микробиология масла. Источники микрофлоры масла. Условия развития микроорганизмов в масле.
10. Повышение стойкости масла при хранении.
11. Микробиологические пороки масла и микробиологический контроль маслоделия.
12. Источники первичной микрофлоры сыра и микробиология сыра. Значение микроорганизмов в производстве сыра.
13. Микробиологические показатели сыропригодности молока. Развитие микробиологических процессов при выработке сыра.
14. Возбудители пороков различных групп сыров микробиологического происхождения, меры их предупреждения.
15. Микробиологический контроль производства сыра.
16. Принципы консервирования молочных продуктов. Стерилизованные молочные консервы: изменение микрофлоры в процессе производства,

- пороки сгущенного стерилизованного молока, микробиологический контроль производства.
17. Сгущенные молочные консервы с сахаром: изменение микрофлоры в процессе производства, пороки сгущенного молока сахаром, микробиологический контроль производства.
  18. Сухие молочные продукты: изменение микрофлоры в процессе производства, пороки сухого молока, микробиологический контроль производства.
  19. Микробиология мороженого: источники обсеменения микроорганизмами, микробиологический контроль производства.
  20. Микробиология вторичного молочного сырья - молочной сыворотки, пахты, обезжиренного молока. Источники обсеменения, микробиологический контроль при производстве молочных продуктов из вторичного молочного сырья.

## **Глава 4. Микробиологический контроль качества мяса**

Мясо и мясопродукты обеспечивают потребности организма в белке и поэтому занимают важное место в рационе человека.

При переработке мяса важной задачей является снижение количества микроорганизмов. Эта задача решается разными методами консервирования (применение высоких и низких температур, копчение, сушка, посол и др.).

Среди исходной микрофлоры мяса мало полезных микроорганизмов. В основном это микроорганизмы, усваивающие белки, жиры и углеводы и значительно снижающие качество мяса и мясопродуктов.

В связи с тем, что в мясе и мясопродуктах могут находиться патогенные и токсигенные микроорганизмы (возбудители инфекционных заболеваний и пищевых отравлений) они должны находиться под строгим контролем ветеринарной службы и органов санитарно-эпидемиологического надзора.

### **4.1 Микрофлора мяса**

Ткани здоровых животных и птицы обладают защитными свойствами и практически не содержат микроорганизмов. В результате убоя здоровых животных и птицы с соблюдением всех правил стерильности в их крови, мышцах и во внутренних органах, как правило, микроорганизмы не обнаруживаются. При несоблюдении санитарно-гигиенических правил при убое, мясо и внутренние органы содержат большое количество сапротрофов (гнилостных бак-

терий, БГКП, спор плесневых грибов, дрожжей, а возможно сальмонелл и другие патогеннов.

Вследствие высокого содержания влаги и белков мясо является благоприятной средой для развития микрофлоры, которая вызывает гниlostное порчи продукта. При комнатной температуре в обычных условиях мясо можно хранить лишь непродолжительное время. Это связано прежде всего с размножением микроорганизмов. Распад белков, полипептидов, аминокислот и других компонентов мяса, катализируемая ферментными системами микроорганизмов, сопровождается снижением биологической ценности продукта, значительным ухудшением органолептических показателей. При этом не исключена возможность образования в продукте ядовитых веществ и токсинов, продуцируемых некоторыми видами микрофлоры. Поэтому опасно использовать для питания мясо и мясопродукты, которые потерпели микробиального порчи. Порча мяса может быть обусловлено также биохимическими процессами. Одним из таких видов порчи является ферментативный.

Влияние на мясо ферментов микроорганизмов имеет очень большие последствия, поэтому первым требованием является обеспечение низкого содержания микроорганизмов в мясе. Если в стерильных условиях взять куски мяса от животных специального забоя, то микробов на них не окажется. При исследовании мяса животных, забитых при обычных условиях, значительное количество проб мяса окажется обсемененными микробами. Часть микроорганизмов находится на поверхности туши животного и обсеменное мясо во время убоя. При перерезании шейных кровеносных сосудов микрофлора с загрязненной поверхности по кровеносном русле заносится в мясо. Это бактериальное обсеменение называют первичным количественным содержанием бактерий. Вторичным содержанием бактерий обозначают то количество микроорганизмов, которое образуется сразу после забоя животного во время технологических операций и заносится на поверхность мяса из загрязненного кожного покрова, пищеварительного канала и окружающей среды. Во время хранения мяса и мясных продуктов нужно предотвращать размножение микрофлоры и

повышению ее микробиальной активности, а также принимать меры по дальнейшему сокращению ее количества.

Пищевые продукты портятся, как правило, в результате жизнедеятельности микроорганизмов, которые попадают на них из окружающей среды. Такие микроорганизмы распространяются в середину мяса по прослойкам соединительной ткани, крупных кровеносных и лимфатических сосудах. Скорость продвижения микроорганизмов в середину мяса зависит от срока, температуры и других условий хранения. Они вызывают ослизненность, кислое брожение, гниение, пигментацию и плесневению мяса. Во время развития микроорганизмов сложные биологические системы распадаются на более простые химические вещества, которые часто имеют негативные свойства, неприятный запах и вкус.

Кроме белков, микробы могут влиять на углеводы, жиры, азотистые экстрактивные вещества и др. Белки мяса при этом расщепляются до полипептидов, дипептидов, аминокислот. Аминокислоты испытывают дезаминирование или дикарбоксилирование с образованием летучих жирных кислот и аминов, которые придают мясу неприятного запаха меркаптанов, сероводорода и тому подобное.

Жиры разлагаются, расщепляясь на глицерин и жирные кислоты. Доказано негативное влияние продуктов окисления жиров на организм человека, который обусловлен их прямым токсическим действием.

В процессе хранения мяса окислительная порча жиров происходит не только за счет окислительной действия кислорода воздуха, но и за счет деятельности микроорганизмов. Некоторые из них продуцируют пероксид водорода, который негативно влияет на органические вещества.

Деятельность микроорганизмов ухудшает товарный вид мяса и мясных продуктов, снижает их биологическую ценность, значительно ухудшает органолептические показатели. Не исключается возможность образования в продукте ядовитых веществ и попадания в него токсинов, которые выделяются некоторыми видами микрофлоры.

При хранении мяса и мясных продуктов микробиологические процессы происходят сравнительно интенсивно и в конечном итоге определяют срок их хранения. На интенсивность микробиальных изменений влияют: исходное обсеменение мяса, условия его охлаждения и хранения, состояние поверхности, жирность и другие факторы.

Эндогенное (прижизненное) обсеменение мяса микроорганизмами может происходить как при жизни животного, так и после убоя. Наиболее часто эндогенное обсеменение тканей животных происходит при утомлении животного, возникающего при перегоне или транспортировании на мясокомбинат.

После убоя и обескровливания туш стенка кишечника становится легко проницаемой для микроорганизмов. Содержащиеся в желудочно-кишечном тракте микроорганизмы проникают в окружающие ткани и их численность возрастает в несколько раз. Животным перед убоем необходимо дать отдохнуть не менее 3 суток. За это время ткани освобождаются от микробов, в мышцах увеличивается количество гликогена, что после убоя повышает количество молочной кислоты, способствующей устойчивости к гнилостным микроорганизмам и сохранению мяса.

Прижизненное (эндогенное) обсеменение может быть обусловлено возбудителями таких заболеваний как туберкулез, сибирская язва, лептоспироз, рожа свиней, сальмонеллез, листериоз и др.

Послеубойное (экзогенное) обсеменение происходит во время убоя животных, разделке туши и ее последующего хранения. Источники экзогенного обсеменения - кожный покров, содержимое ЖКТ, а также воздух, вода, оборудование, инструменты, руки и одежда персонала.

В 1 г (или на 1 см) волосяного покрова крупного рогатого скота содержится до 700 млн., а в отдельных случаях - даже миллиарды микроорганизмов. Значительное количество микробов имеется также на кожном покрове свиней. Так, на 1 см поверхности кожи свиней обнаруживали в области спины 58 млн. микроорганизмов, а в области живота - до 44 млн. С поверхности

кожного покрова свиней были выделены сальмонеллы ( в 26,6 % случаев), кишечная палочка (60 %), различные кокковые бактерии (58 %), бактерии рода протеус (55 %), споровые гнилостные бактерии (в 100 % случаев). Наибольшая степень микробного загрязнения кожного покрова животных отмечается осенью и весной.

В процессе разделки источником загрязнения поверхности мясных туш микроорганизмами может служить воздух цеха убоя скота и разделки туш мясокомбинатов. Исследования санитарно-гигиенического состояния воздуха этих цехов показали, что по сравнению с другими участками цеха наибольшее содержание микроорганизмов наблюдается возле устройств съемки шкур, а также около бокса на месте подвешивания оглушенных животных на конвейер и на линии обескровливания. Так, вблизи от установки для механической съемки шкур с туш крупного рогатого скота содержится во много раз больше микроорганизмов (стафилококки, бактерии группы кишечных палочек и др.), чем у отдаленных от этого участка мест цеха. В 1 см<sup>3</sup> воздуха на расстоянии 5-6 м от установки для съемки шкур обнаружено около 25 тыс. микробных клеток.

Микрофлора воздуха в цехе убоя скота и разделки туш, как правило, представлена микроорганизмами, которые постоянно присутствуют на кожном покрове животных. Это поровые аэробные и анаэробные гнилостные бактерии, плесневые грибы, актиномицеты, дрожжи, грамотрицательные непоровые палочки, т. е..

Основную массу микрофлоры свежего мяса составляют микроорганизмы – обитатели желудочно-кишечного тракта животных. Чаще всего обнаруживаются стафилококки, микрококки, БГКП, различные виды аэробных бактерий, анаэробные клостридии, непоровые бактерии, дрожжи, молочнокислые палочки, споры стрептомицетов и плесневых грибов.

Микрофлора мясного сырья представлена широким разнообразием микроорганизмов: споровыми аэробными и анаэробными гнилостными бактериями, грамотрицательными непоровыми палочками, плесневыми грибами,

дрожжами, актиномицетами, кокковыми бактериями и др. Наиболее опасными считаются *Proteus*, *Escherichia coli*, *Cl.perfringens*, *Cl.botulinum*, *Bac.cereus*, *Bac.subtilis*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, споры грибов и некоторые другие. К положительной микрофлоре относят молочнокислые бактерии.

После извлечения внутренних органов проводят зачистку туши: сухую (без применения воды) или мокрую (влажную).

При сухой зачистке срезают остатки внутренних органов, побитости, небольшие участки, загрязненные кровью или содержимым желудочно-кишечного тракта, зачищают бахрому и т.д. В процессе охлаждения и последующего хранения мясных туш, подвергавшихся сухой зачистке, подсыхают фасции и выступающая после снятия шкуры серозная жидкость. Поверхностные слои мышечной ткани обезвоживаются и уплотняются, что способствует образованию хорошо выраженной корочки подсыхания. Происходит фиксация микробов на поверхности туши. В пленках подсохших коллоидов создаются неблагоприятные условия для размножения микробов.

Мокрая зачистка заключается в обмывании туш струей теплой воды или в обработке фонтанирующими щетками. При мокрой зачистке значительная часть загрязнений удаляется. Однако слабый напор и невысокая температура воды (не выше 50 ° C) не столько способствуют удалению микроорганизмов, сколько приводят к их перераспределению с загрязненных на незагрязненные участки поверхности туш. В результате мойки туш, особенно при использовании травяных или капроновых щеток, рыхлая подкожная клетчатка еще более разрыхляется и в нее проникают микроорганизмы. Кроме того, при мойке происходит значительное увлажнение поверхности туш. Вследствие этого замедляется образование корочки подсыхания, что способствует проникновению микроорганизмов в ткань.

Вода, применяемая для мойки туш в процессе их разделки, может служить причиной дополнительного микробного обсеменения поверхности мясных туш. Поэтому на мясоперерабатывающих предприятиях следует исполь-

зовать воду, отвечающую санитарным требованиям, предъявляемым к питьевой воде.

При незначительном загрязнении туш следует ограничиваться сухой зачисткой.

Внутрь тканей бактерии попадают вдоль костей и кровеносных сосудов и при благоприятных условиях вызывают порчу мяса. Плохое обескровливание увеличивает риск порчи.

Бактериологическое исследование мяса производят периодически по графику с целью контроля санитарного состояния не реже 1-го раза в 10 дней.

Обязательное микробиологическое исследование мяса осуществляют в следующих случаях:

- при заболевании желудочно-кишечного тракта или дыхательных путей;
- при подозрении на инфекционное заболевание животного;
- подозрении на обсеменение возбудителями пищевых токсикоинфекций и токсикозов;
- при убое из-за травмы;
- при «вынужденном» убое;
- при убое животных-производителей.

Микробиологическое исследование мяса выполняют в соответствии с инструкцией ветеринарно-санитарного надзора. Для анализа отбирают следующие образцы: мышцы сгибателя и разгибателя конечности, часть печени, легкого, селезенку, почку, лимфатические узлы с окружающей соединительной тканью, трубчатую кость.

В соответствии с ГОСТ 21237—75 мясо убойных животных нормируется по количеству мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), возбудителей зооантропонозов; бактериям группы кишечных палочек (колиформам); бактерий рода *Proteus*, патогенным микроорганизмам, в т.ч. сальмонеллам; листериям (*L.monocetogenes*).

Определение общего количества бактерий на поверхности мяса. При расчете бактериальной обсемененности 1 см<sup>2</sup> поверхности мяса исходят из того, что микрофлора 1 г среза соответствует 1,5 см<sup>2</sup> поверхности. Количество микроорганизмов на поверхности свежего мяса не должно превышать 100 тысяч клеток на 1 см<sup>2</sup>.

Определение общего количества микроорганизмов в мясе. В свежем мясе хорошего качества бактериальная обсемененность не должна превышать 100 тысяч клеток в 1 г.

Кроме этого в мясе определяют:

Доброкачественность (свежесть) оценивают по результатам органолептического, биохимического, бактериоскопического и микробиологического исследований согласно ГОСТам. Оценка свежести мяса представлены в таблице 10.

Свежесть мяса характеризуется также показателями общей бактериальной обсемененности в 1 г или на 1 см<sup>2</sup> поверхности.

Органолептическую оценку производят по общепринятым признакам: цвету, консистенции, запаху мясной и жировой ткани, характеру бульона при варке.

#### 11. Оценка свежести мяса

Качество мяса	pH	Бактериоскопическая картина
Свежее	5,6-6,2	В мазках-отпечатках микробов нет или имеются единичные бактериальные клетки на поверхности мяса
Пониженной свежести	6,3-6,5	В мазках-отпечатках из глубины мяса обнаруживают 20-30 кокков и единичные палочки, на поверхности - несколько десятков клеток в поле зрения. Имеются распавшиеся мышечные волокна
Несвежее	6,6 и выше	В мазках-отпечатках с поверхности и с глубины мяса выявляются масса клеток с преобладанием палочек, имеется множество распавшихся мышечных волокон

#### Пороки мяса

Мясо играет большую роль в питании населения. Белки мяса обладают высокой биологической ценностью, так как имеют хорошо сбалансированный аминокислотный состав, наиболее близкий к составу аминокислот белков человека. Белки мяса служат для построения тканей человека, ферментов, гормонов. Мясо и мясные продукты, по данным отдельных исследователей, стимулируют рост, развитие, половое созревание, рождаемость потомства и способствуют его выживаемости. Пищевая ценность разных видов мяса обусловлена в значительной степени соотношением входящих в его состав тканей (мышечной; соединительных - рыхлой и плотной; жировой; костной). Состав тканей различается также в зависимости от вида мяса.

Мясо является ценным продуктом питания, поэтому очень важно, чтобы само мясо и приготовленные из него полуфабрикаты не содержали микроорганизмов, которые могли бы привести к пищевым отравлениям или к порче мяса.

Мясо является исключительно благоприятной средой, на которой микроорганизмы развиваются очень быстро. В крови, мышцах здоровых животных, как правило, микроорганизмы отсутствуют, они могут обнаруживаться лишь у больных и ослабленных животных, организм которых не в силах препятствовать проникновению микрофлоры через стенки кишечника. Кроме того, животные утомленные, голодавшие, после переохлаждения также могут содержать в мышцах микроорганизмы, поскольку они проникают через стенки желудочно-кишечного тракта и разносятся кровью. Такой метод поступления микроорганизмов в мышцы (в дальнейшем в мясо) называется эндогенным и осуществляется при жизни животного.

Таким образом, при эндогенном обсеменении в мясе могут оказаться как сапрофитные микроорганизмы, не вызывавшие заболевания животных, так и патогенные, если животное было больно. Эти микроорганизмы в дальнейшем

приведут либо к порче мяса, либо могут стать источником заболевания для человека. Все это обуславливает необходимость предоставить животному

К дефектам мяса относятся загар, осушение, плесневение, гниение, кислое брожение, пигментация, потемнение цвета, ожоги, механические загрязнения, следы насекомых, пожелтение и прогоркание жиров [6].

Таким образом автолиз мяса может сопровождаться его порчей за счет жизнедеятельности проникающих в него микроорганизмов. В результате мясо может приобретать пороки, из которых можно отметить — ослизнение, плесневение, закисание, загар мяса и гниение.

**Ослизнение** мяса вызывают устойчивые к низким температурам слизеобразующие микроорганизмы (молочнокислые бактерии, дрожжи и др.), которые хорошо развиваются даже при 0°C. Оно возникает при разных колебаниях температуры и влажности воздуха, недостаточном охлаждении. Поверхность мяса становится липкой, серо-белого цвета с неприятным кисловато-затхлым запахом. Порок охватывает обычно только поверхностный слой. Мясо с таким пороком для человека не опасно, но хранить его нельзя. Его необходимо промыть водой или 15-20% раствором соли с последующим подсушиванием и проветриванием. Мясо надо быстро использовать, лучше для приготовления первых блюд или применять методы переработки, включающие в процессе их изготовления воздействие высокой температуры.

Процесс ослизнения на начальной стадии хранения следует отличать от ослизнения при гниении мяса.

**Плесневение** мяса возникает при появлении на поверхности плесневелых грибов. Развитию их способствует высокая влажность мяса и плохая вентиляция воздуха в местах хранения. Плесневение сопровождается распадом белков с образованием продуктов щелочного характера и тем самым создаются условия для развития гнилостной микрофлоры. При поверхностном поражении плесенью мясо промывают 20-25% раствором поваренной соли или 3-5% раствором уксусной кислоты с последующим проветриванием. Сильно

пораженное мясо или при наличии затхлого запаха, не исчезающего при проветривании, в пищу не допускается.

**Закисание** мяса вызывают кислотообразующие бактерии в случаях, если мясо плохо обескровлено, влажное или хранится при высоких температурах. Мясо размягчается, становится серого цвета с неприятным запахом. На таком мясе хорошо развивается плесень и слизиобразующие бактерии. Такое мясо для человека не опасно, его исправляют промыванием водой.

**Загар мяса** — вид порчи, возникающий в первые часы после убоя животного в результате неправильного хранения мяса в душном помещении при температуре выше 18-20°C, а также при нарушении условий охлаждения или замораживания. Загар возникает также, если поместить парное мясо в воздухо непроницаемую тару. В результате загара происходит анаэробный распад гликогена с накоплением кислых и плохо пахнущих веществ. Характерные признаки загара — коричнево-красный или сероватый цвет мышц с зеленоватым оттенком, появление сильно кислого запаха, напоминающего запаха содержимого желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота, дряблая консистенция пораженного участка.

Мясо с признаками загара можно исправить и употребить в пищу. Для этого его разрубают на мелкие куски и хорошо проветривают на воздухе. Если признаки загара не исчезают в течение 24 часов, мясо использовать в пищу нельзя.

**Гниение** — сложный процесс распада белков, обусловленный жизнедеятельностью разнообразных гнилостных микроорганизмов, развитие которых происходит при определенных условиях, высокой температуре, повышенной влажности и доступе кислорода. На скорость протекания процессов гниения влияет степень обсеменения гнилостной микрофлоры, которая связана с несоблюдением санитарно-гигиенических правил. Легче подвергается процессам гниения мясо плохо упитанных животных. Бактерии обычно попадают в глубь мяса по соединительной ткани, поэтому гниение может происходить одновременно в разных слоях [4].

**Изменения цвета мяса.** Этот порок встречается в связи с развитием на поверхности мяса различных микроорганизмов. Например, микроб «чудесная палочка» образует красные пятна, палочка «синего гноя» — синие, флюоресцирующая палочка — зеленые. Изменения цвета наблюдаются по всей поверхности или очагам. Подобного рода дефекты санитарной опасности не представляют. Однако употреблять мясо в пищу следует только после снятия верхнего пораженного слоя. Изменения цвета мяса могут быть связаны с типом кормления и возрастом животного. Так, у старых животных, а также при обильном кормлении свежей травой, свиней — кукурузой, морковью, льняными жмыхами жир обычно имеет темно-желтый цвет. Потемнение цвета мышечной ткани и жира, особенно подкожного, у туш свиней наступает после длительного хранения, особенно на свету) или в результате скачкообразных изменений температуры при хранении мясопродуктов. Во всех этих случаях товарный вид мясопродуктов ухудшается, и хотя эти продукты не опасны в санитарном отношении (за исключением прогорклого шпика), использовать их в пищу можно только с разрешения специалиста. Иногда после убоя животного обнаруживают, что некоторые ткани приобрели черный или бурочерный цвет. Чаще всего в черный цвет окрашена печень рогатого скота. Это окрашивание связано с отложением в тканях черного пигмента — меланина. Как считают ученые, это явление возникает в результате поедания животными некоторых трав: житняка, камыша и других. В некоторых животных встречаются ткани, окрашенные в печеночно-бурый цвет, что, как установлено учеными, чаще всего связано с отложением в тканях желтого пигмента или с каким-либо заболеванием [5].

**Изменения в запахе и вкусе** мяса могут возникнуть по самым различным причинам. Часто они зависят от кормового рациона, употребления лекарственных и дезинфицирующих веществ. Мясо, имеющее посторонний запах, употреблять в пищу категорически запрещается.

Мясо в начальной стадии порчи опаснее, чем в более поздней. Это объясняется накоплением гнилостных веществ типа амидов и бактериальных ток-

синов, которые по мере углубления процесса гниения превращаются в менее ядовитые.

В начальной стадии порчи исчезает корочка подсыхания, поверхность мяса покрывается слизью, цвет более темный или грязно — серый, консистенция мягкая, ямка выравнивается с опозданием, бульон со слабо гнилостным запахом, мутный.

### **Основные факторы, влияющие на размножение микроорганизмов в мясе**

Температура. Чем ниже температура, тем меньше скорость размножения микроорганизмов. Но при нулевой температуре размножаются психрофилы, плесневые грибы и дрожжи.

Влажность и осмотическое давление. При пониженной влажности развитие микроорганизмов замедляется, они переходят в состояние анабиоза, а споры — в стадию спор. Увеличение влажности воздуха приводит к повышению осмотического давления и концентрации растворимых в воде веществ, что вызывает плазмолиз микробных клеток. Такое же действие оказывает раствор хлорида натрия. Некоторые микроорганизмы, хорошо растут в соленом мясе и даже в рассоле 15%-ной концентрации соли.

Показатель pH зависит от содержания гликогена и образуемой из него молочной кислоты. После убоя реакция мяса слабощелочная - pH 7,1-7,2. Во время созревания под влиянием ферментов в мышечной ткани расщепляется гликоген, накапливается молочная кислота и мясо приобретает кислую реакцию — pH 5,5-5,8. В такой среде рост гнилостных микроорганизмов приостанавливается. К концу четвертых суток количество кислоты в мясе снижается и реакция среды снова становится щелочной.

## 4.2 Изменения в качестве мяса, происходящие после убоя и в процессе хранения

При соблюдении всех санитарно-гигиенических правил производства мяса на 1 см<sup>2</sup> площади поверхности свежего мяса насчитывается не более нескольких тысяч или десятков тысяч микроорганизмов. При низком уровне санитарного состояния в цехах убоя на 1 см<sup>2</sup> площади поверхности туши может достигать сотен тысяч или даже миллионов.

В процессе созревания мяса здоровых, упитанных животных, с высоким содержанием гликогена, происходит интенсивное накопление молочной кислоты и значительное снижение рН.

У животных больных, плохо упитанных, утомленных, т. е. убитых в состоянии резкого снижения резистентности организма, кроме прижизненного эндогенного микробного обсеменения органов и тканей наблюдается уменьшение количества гликогена в мышцах почти вдвое по сравнению с нормой. При созревании мяса таких животных посмертные окислительные процессы (т. е. накопление молочной кислоты) замедлены по сравнению с процессами, протекающими в мясе здоровых и отдохнувших животных, рН снижается незначительно (табл.11).

11. Изменение рН мяса после созревания

Состояние убойных животных	Говядина	Телятина	Свинина
Отдохнувшие	5,1	5,4	5,3
Утомленные	6,2	6,7	6,9

Поскольку мясо, полученное от животных с пониженной сопротивляемостью организма, имеет после созревания более высокий рН, развитие гнилостных бактерий в нем подавляется слабо. В процессе хранения такое мясо быстрее портится.

Основные представители микрофлоры свежего мяса: *E.coli*, *Proteus vulgaris*, спорообразующие гнилостные: *Bac.subtilis*, *Bac.mesentericus*, *Cl.sporogenes*, *Cl.putrificum* и др. Кроме этого на поверхности мяса можно об-

наружить плесневые грибы, дрожжи, а иногда сальмонеллы и другие патогенные микроорганизмы.

Количество микроорганизмов в мясе зависит от уровня санитарного состояния производства. Число микроорганизмов на поверхности мясных туш может быть от нескольких тысяч до 500 тысяч и более клеток в на 1 см<sup>2</sup>.

Вдоль костей и кровеносных сосудов бактерии попадают вглубь тканей и при благоприятных условиях вызывают порчу мяса. Плохо обескровленное мясо портится быстрее.

После убоя существенно изменяются важнейшие свойства мяса. Они характеризуются распадом прижизненных биологических систем, образующих живые ткани. Процессы синтеза в клетках прекращаются, и основное значение приобретает разрушительная деятельность ферментов. Важную роль в созревании мяса играют микроорганизмы.

Созревание мяса — процесс, который вызывают ферменты, в результате его мясо размягчается и в нем образуются вещества, улучшающие вкус и запах готовых изделий. Созревание обусловлено многочисленными биохимическими и коллоидными изменениями в мясе убойных животных.

При созревании изменяются состав и качество основных компонентов мяса. Так, реакция среды мышечной ткани сдвигается в кислую сторону. Если при жизни рН мышечной ткани составлял 7,1-7,2, то через час после убоя он снижается до 6,2-6,4, а через 24ч - до 5,6-5,8. Такое мясо дольше хранится и сохраняет свои вкусовые и питательные качества. Оптимальные сроки созревания мяса для кулинарных целей 10-14 суток, для фасованного мяса 5-7 суток. Срок созревания других видов мяса менее продолжительный, а мяса разных видов птицы ограничен — 1—6 сут.

Для ускорения созревания мяса применяют ряд методов. Разработаны физические и биохимические методы с использованием ферментов растительного, животного и микробного происхождения.

Физические методы — электростимулирование, действие повышенной температуры с одновременным облучением ультрафиолетом. В мясной про-

мышленности при производстве копченостей применяют различные деформирующие воздействия — массажирование или тумблирование отрубов мяса. Предложен метод обработки мяса ультразвуком, под действием которого разрушаются клетки и освобождаются лизосомальные ферменты.

*К биохимическим* относят методы, основанные на действии протеолитических ферментов растительного и микробного происхождения. В мясной промышленности используют: папаин, содержащийся в листьях дынного дерева; фицин — в листьях инжира; бромелин — в листьях ананаса. Оптимальная активность этих ферментов проявляется при температуре около 50 °С.

Источником получения ферментов микробного происхождения служат бактерии, актиномицеты, дрожжи и плесени. Известно более 40 видов ферментных препаратов на основе этих ферментов. Разрешено использование препарата терризина, выделяемого из микроба террикола. Для размягчения мяса достаточно 15 г этого препарата на 1 т мяса.

*Физиологические методы* ускорения созревания заключаются во введении животным активных препаратов за 2—3 ч до убоя. В качестве таких препаратов используют адреналин, пирокатехин и ряд других физиологически активных соединений, объединенных общим названием «демотины». Эти препараты ускоряют распад гликогена, снижают уровень молочной кислоты, тормозят распад АТФ и предотвращают образование актомиозинового комплекса.

Применение различных методов ускорения созревания позволяет использовать почти все жесткое мясо для приготовления порционных полуфабрикатов с достаточно приемлемой консистенцией.

Охлажденное мясо направляют преимущественно в розничную торговлю, а также используют в производстве отдельных колбасных изделий и рубленых полуфабрикатов.

Для снижения бактериальной обсемененности мясного сырья и птицы и улучшения показателей качества и безопасности получаемых продуктов, применяют следующие технологические приемы: обработка туши (сухая и влаж-

ная), охлаждение, замораживание, посол, тепловая обработка, консервирование и другие.

### **Микрофлора охлажденного мяса**

Охлаждение мяса, субпродуктов и мяса птицы, хранение их в охлажденном состоянии являются наиболее совершенными методами их консервирования.

В процессе холодильного хранения в зависимости от температурных режимов хранения охлажденного и мороженого мяса происходят неодинаковые изменения количественного и группового состава микрофлоры, размножение которой может вызвать порчу продукта.

Охлаждение и замораживание мяса сразу после убоя животных предотвращает размножение микроорганизмов в мясе.

Мясо на холодильниках охлаждают в специальных камерах при температуре около 0°C, применяют также более низкие начальные температуры при ступенчатом охлаждении. Однако очень быстрое охлаждение приводит к «холодовому» сокращению мышц и необратимым изменениям, при этом мышечная ткань приобретает жесткую консистенцию. Причиной «холодового» сокращения является торможение биохимических процессов при температуре около 10°C. Качество мяса можно улучшить электростимуляцией — воздействием электрического тока на парные туши или части туш. После охлаждения температура в толще мяса должна быть от 0 до 4 °C.

На охлажденном мясе в процессе хранения могут развиваться только те микроорганизмы, которые имеют наиболее низкие температурные пределы роста и размножения, т. е. психрофильные.

Охлаждение значительно задерживает ферментативные и микробиологические процессы в мясе и субпродуктах. В период массового убоя скота в торговлю поступает кроме охлажденного и остывшее мясо. Однако остывшее мясо в стадии посмертного окоченения менее пригодно для кулинарной обработки, чем охлажденное.

Правильно охлажденное мясо имеет корочку подсыхания; цвет охлажденной говядины ярко-красный, свинины — бледно-розовый, а баранины — темно-красный. Баранина и говядина имеют специфический запах, свинина почти без запаха. Консистенция всех видов мяса упругая, мышцы при легком надавливании не выделяют мясного сока.

Микрофлора мяса, поступающего на хранение в камеры охлаждения, разнообразна по составу и обычно представлена мезофилами, термофилами и психрофилами, т. е. микроорганизмами, имеющими неодинаковые температурные пределы роста.

К концу охлаждения в глубоких слоях мяса температура должна достигать 0—4°C. Следовательно, на охлажденном мясе в процессе его хранения могут развиваться только те микроорганизмы, которые имеют наиболее низкие температурные пределы роста и размножения, т. е. психрофильные.

Термофильные и большинство мезофильных микроорганизмов, которые не развиваются при температурах, близких к 0°C, после охлаждения мяса полностью приостанавливают своё развитие, переходя в анабиоз. В процессе последующего хранения продукта эти микроорганизмы постепенно отмирают и, следовательно, их количество уменьшается. Но некоторые патогенные и токсигенные бактерии из группы мезофилов (сальмонеллы, токсигенные стафилококки и др.) длительное время сохраняют жизнеспособность при низких температурах и не отмирают в процессе хранения охлажденного мяса.

В аэробных условиях хранения на охлажденном мясе размножаются плесневые грибы и аэробные дрожжи, преимущественно родов *Rhodotorula* и *Torulopsis*, а также неспоровые грамотрицательные бактерии родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*. Активность развития той или иной группы этих психрофильных микроорганизмов зависит от влажности и температуры хранения мяса.

При обычном общепринятом температурно-влажностном режиме производства на охлажденном мясе растут главным образом аэробные неспоровые грамотрицательные бактерии группы *Pseudomonas*—*Achromobacter*. Из

этой группы наиболее активно размножаются бактерии рода *Pseudomonas*, которые при совместном развитии с бактериями рода *Achromobacter* подавляют рост последних. Поэтому при хранении в обычных (аэробных) условиях сверх допустимого срока наиболее часто возбудителями порчи охлажденного мяса являются бактерии рода *Pseudomonas*. В условиях, неблагоприятных для развития психрофильных аэробных бактерий (пониженная влажность и более низкая температура хранения), наблюдается активный рост плесневых грибов и аэробных дрожжей, которые имеют более низкие температурные пределы роста и менее требовательны к влажности.

Для создания условий неблагоприятных для развития аэробных микроорганизмов (аэробные бактерии, плесневые грибы, аэробные дрожжи) дополнительно к холодильной обработке используют частичную замену воздуха углекислым газом или полную замену азотом, а также озонирование и вакуумную упаковку. В этом случае размножение этих психрофильных микроорганизмов задерживается или полностью подавляется. При таких способах хранения происходит активное размножение психрофильных микроаэрофильных и факультативно-анаэробных бактерий родов *Lactobacterium* и *Microbacterium*, а также факультативно-анаэробных грамотрицательных бактерий рода *Aeromonas*, способных развиваться в анаэробных условиях.

Такие патогенные микроорганизмы как золотистый стафилококк, сальмонеллы, возбудитель ботулизма сохраняют жизнеспособность в охлажденном мясе.

При активном размножении микроорганизмов в результате их жизнедеятельности может наступить порча охлажденного мяса: ослизнение, гниение, кислотное (кислое) брожение, пигментация (появление пигментных пятен), плесневение и свечение.

При хранении охлажденного мяса необходимо поддерживать низкую температуру на постоянном уровне. Колебание температуры окружающего воздуха приводит к ухудшению качества, увеличению потерь и значительному сокращению продолжительности хранения мяса вследствие конденсации

влаги на его поверхности. Даже небольшого изменения температуры воздуха при высокой относительной влажности достаточно для достижения точки росы и увлажнения поверхности мяса. Для снижения потерь на испарение влаги уменьшают циркуляцию воздуха. Однако малая циркуляция приводит к застою воздуха, который приводит к ослизнению и плесневению мяса, поэтому создают интенсивность циркуляции, что позволяет замедлить развитие микробов.

Хранить охлажденное мясо на холодильниках рекомендуется при температуре от 0 до  $-1,5^{\circ}\text{C}$ , относительной влажности воздуха 85-90% и циркуляции воздуха. 0,2-0,3 м/с. При этих условиях продолжительность хранения с учетом времени транспортирования составляет: говядины — 10—16 сут, свинины и баранины — 7—14 сут.

Подмороженное (переохлажденное) мясо можно хранить при температуре  $-2^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  до 17 сут.

Сортовые отрубы в оборотной таре разрешается хранить на предприятиях при температуре от 0,5 до  $-1,5^{\circ}\text{C}$  не более 7 сут, а упакованные в полимерную пленку под вакуумом — до 15 сут.

Потери массы мяса зависят не только от температуры и влажности хранения, но и от вида мяса, его упитанности и удельной поверхности.

### **Микрофлора замороженного мяса**

Мороженое мясо - это подготовленное для длительного хранения свежее мясо.

Замораживают мясо охлажденное или парное. Производство и хранение замороженного мяса связаны с дополнительными затратами на замораживание и поддержание необходимых условий хранения. Кроме того, при замораживании и хранении неизбежны потери мяса. Замороженное мясо уступает по качеству охлажденному. По мере хранения ухудшаются органолептические показатели и питательная ценность замороженного мяса в связи с частичной потерей витаминов и изменениями в составе жира. Однако, замораживание

пока остается основным методом консервирования мяса для длительного хранения.

Во время замораживания мяса отмирают микроорганизмы, содержащиеся в охлажденном мясе. Кроме низкой температуры на микроорганизмы губительно действуют пониженная влажность, высокая концентрация растворенных в продукте веществ, изменение содержащихся в клетках белков и механическое действие льда, образующегося вне клетки, а при быстром замораживании — и внутри клетки.

Микроорганизмы отмирают как в процессе замораживания мяса, так и в процессе его последующего хранения в замороженном состоянии. Чем ниже температура ( $-18...-20^{\circ}\text{C}$ ) и выше скорость замораживания, тем больше погибает микроорганизмов. При неглубоком медленном замораживании до температуры не ниже  $-10...-12^{\circ}\text{C}$  микроорганизмов отмирает значительно меньше.

Мясо замораживают в морозильных камерах и морозильных аппаратах преимущественно при температуре от  $-18$  до  $-25^{\circ}\text{C}$ , но применяют и более низкие температуры. В некоторых случаях мороженое мясо хранят при температуре  $-12^{\circ}\text{C}$ , но его качество значительно ниже.

Мясо овец, коз и телят замораживают целыми тушами, свиней - полутушами, КРС - четвертями и кусками. Хранят замороженное мясо в холодильных камерах плотно уложенным в штабеля. На качество замороженного мяса влияет глубина процесса созревания и скорость его замораживания.

Говядину можно хранить до 12 месяцев при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  и относительной влажности воздуха 95—98%, баранину — до 10, свинину в шкуре — до 8, без шкуры — до 6 и субпродукты — не более 4 месяцев. При увеличении температуры до  $25^{\circ}\text{C}$  продолжительность хранения говядины увеличивается до 18 месяцев, а свинины и баранины — до 12 месяцев.

Субпродукты в охлажденном состоянии хранят при температуре около  $0^{\circ}\text{C}$  до 3 сут, от 0 до  $6^{\circ}\text{C}$  — 36 ч, до  $8^{\circ}\text{C}$  — 12 ч. Мороженые субпродукты хранят при такой же температуре соответственно до 3 сут, 48 и 24 ч.

В магазинах и на базах, где меняется тепловой режим, сроки хранения охлажденного и замороженного мяса значительно сокращаются. Срок хранения охлажденного и замороженного мяса при температуре от 0 до 6 °С — до 3 сут, а сортовых отрубов говядины в таре — не более 48 ч. При температуре около 0 °С замороженное мясо можно хранить до 5 сут. При температуре не выше 8 °С охлажденное и замороженное мясо хранят не более 2 сут. Фасованное охлажденное мясо при температуре от 0 до 6 °С разрешается хранить не более 36 ч.

Несмотря на то, что при замораживании и хранении наблюдается значительное уменьшение количества жизнеспособных микробных клеток, полного отмирания микроорганизмов в мороженом мясе не происходит. Даже после длительного хранения мороженого мяса оно может содержать большое количество живых сапротрофных бактерий — возбудителей порчи, а иногда — и патогенных бактерий. Большинство плесневых грибов и дрожжей на мороженом мясе при —18°С не погибают в течение 3 лет. При —15-20°С токсигенные стафилококки сохраняют жизнеспособность на мороженом мясе более 30 дней, а сальмонеллы — до 6 мес и более. При —20°С содержание *E.coli* уменьшается только через 6 мес, а энтерококки остаются практически постоянно в течение 9 мес хранения мороженных продуктов.

При температуре хранения выше —10°С на мясе могут размножаться психрофильные микроорганизмы (преимущественно плесневые грибы), они менее чувствительны к пониженной влажности и высокой концентрации растворенных в продукте солей. Последние концентрируются в результате замерзания воды. При температурах, более близких к —10°С (—5 -10°С), размножаются *Cladosporium herbarum* и *Thamnidium elegans*; при температурах около —5°С и выше — плесени родов *Penicillium*, *Mucor* и др. Некоторые дрожжи (*Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Cryptococcus* и др.) также растут на мясе при температуре около —5°С. При —3°С и выше на мороженом мясе иногда размножаются отдельные виды бактерий.

При температурах выше — 10°C, микроорганизмы, развиваясь на мороженом продукте, могут вызывать в процессе длительного хранения его порчу. Наиболее распространенная порча мороженого мяса — плесневение.

Возбудителями плесневения мороженого мяса чаще всего являются плесени родов *Thamnidium*, *Rhizopus* и *Cladosporium*, которые имеют наиболее низкую предельную минимальную температуру роста и активно размножаются в условиях холодильного хранения при —5 -10°C, когда рост других плесневых грибов прекращается или сильно задерживается. Плесени, как аэробные микроорганизмы, развиваются, как правило, на поверхности мясной туши: наиболее активно на участках с интенсивным движением воздуха. На развитие этих микроорганизмов влияет повышенная влажность, поэтому часто их рост наблюдается на более увлажненных участках (паховые складки, внутренняя поверхность ребер и др.). Развиваясь на мясе, плесени снижают количества азотистых веществ, повышают щелочность, распад белков и жира. В результате мясо приобретает затхлый запах.

Минимальная предельная температура роста психрофильных микроорганизмов выше —10°C. Поэтому при хранении мяса ниже —10°C психрофилы и мезофилы не размножаются, а частично отмирают. В соответствии с этим по действующей в нашей стране технологической инструкции мороженое мясо рекомендуется хранить при —12°C и ниже, что позволяет сохранить его практически неограниченное время без признаков порчи.

При разморозке (дефростации) на поверхности мяса повышается температура, происходит выделение мышечного сока и создаются хорошие условия для размножения микроорганизмов.

На скорость развития микроорганизмов влияет способ замораживания мяса. Оптимальным является быстрое глубокое замораживание, в результате которого в мышечной ткани образуются мелкие кристаллы льда. При разморозке оболочки мышечных клеток не травмируются и мышечный сок остается в мышечных волокнах. В случае неглубокого медленного замораживания в мышечной ткани образуются крупные кристаллы льда. При дефростации они

разрывают оболочки мышечных волокон и способствуют выделению мышечного сока.

Скорость размораживания мяса также влияет на интенсивность развития микрофлоры. При медленном размораживании от 1 до 8°C температура на поверхности мяса повышается медленно, происходит реабсорбция выделяющегося мышечного сока и интенсивность развития микроорганизмов значительно снижается.

### **Виды порчи мяса**

При активном развитии микроорганизмов охлажденное мясо может быстро портиться.

Ослизнение происходит в начальный период хранения. Оно появляется на поверхности мясных туш в виде сплошного налета из колоний бактерий, дрожжей и др. микроорганизмов. Основные возбудители ослизнения аэробные бактерии родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*. При хранении мяса в анаэробных условиях размножаются психрофильные бактерии родов *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Aeromonas*, выше 5°C - микрококки, стрептококки, стрептомицеты, гнилостные бактерии.

Количество бактерий на мясе, начинающем покрываться слизистой пленкой колеблется от 3 до 50 млн на 1 см<sup>3</sup>. При появлении толстой пленки число микроорганизмов достигает 10<sup>9</sup>...10<sup>10</sup> на 1 см<sup>3</sup>.

Скорость появления слизи зависит от исходной обсемененности мяса и увеличивается с повышением температуры хранения и относительной влажности воздуха.

При хранении мяса с признаками ослизнения происходит дальнейшая его порча – гниение. Его вызывают неспорообразующие аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, псевдомонады, протеи, а также спорообразующие аэробные (*Bac.subtilis*, *Bac.meseutericus*, *Bac.megatherium*, *Bac.mycoides*) и анаэробные бактерии (*Cl.sporogenes*, *Cl.putrificus*, *Cl.perfringens*).

Гниение может происходить как в присутствии кислорода, так и без его доступа. При аэробном гниении под влиянием протеолитических ферментов гнилостных бактерий осуществляется постепенный распад белков мяса с образованием конечных продуктов – аммиака, сероводорода, диоксида углерода, воды, солей фосфорной кислоты. В результате неполного окисления продуктов дезаминирования аминокислот идет накопление большого количества органических веществ: индола, скатола, масляной кислоты, спиртов.

Многие из перечисленных веществ придают мясу неприятный гнилостный запах. Поверхность мяса становится бурой или серовато-зеленой и размягчается. Упругость мышечной ткани понижается. Показатель рН из слабокислого ставится щелочным.

Анаэробное гниение начинается в глубине мышечной ткани и вызывается бактериями, попадающими в мясо эндогенным путем из желудочно-кишечного тракта. В результате изменяются цвет, консистенция и другие органолептические показатели мяса, как и при аэробном гниении и сопровождаются еще более неприятным зловонным запахом. Обычно при гниении мяса анаэробные и аэробные процессы идут одновременно.

Возбудителями кислотного брожения являются психрофильные молочнокислые палочки рода *Lactobacillus*, бактерии рода *Microbacterium* и дрожжи, которые способны развиваться в анаэробных условиях в глубине мышечной ткани. Этот вид брожения сопровождается появлением кислого запаха зеленовато-серой окраски на разрезе и размягчения мышечной ткани.

Плесневение мяса возникает при снижении температуры хранения до -5 - 10°C и пониженной влажностив. Плесневые грибки (*Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*) вызывают появление своеобразного затхлого запаха за счет распада белков и жиров. При развитии плесеней в мясе создаются благоприятные условия для развития гнилостных микроорганизмов.

Пигментация возникает при развитии аэробных пигментообразующих бактерий и проявляется появлением на поверхности мяса пигментных пятен. Пятна красного цвета на поверхности мяса образует чудесная палочка

*Ps. prodigiosum*; синего - синегнойная палочка *Ps. aeruginosa*; зеленого, флюоресцирующая палочка *Ps. fluorescens*.

Свечение. Этот порок возникает в результате размножения на поверхности мясной туши фотогенных (светящихся) бактерий, которые обладают способностью свечения — фосфоресценцией. Свечение обусловлено наличием в клетках светящихся бактерий фотогенного вещества (люциферина), который окисляется кислородом при участии фермента люциферазы. Фотогенные бактерии являются облигатными аэробами и обладают психрофильностью. К группе фотобактерий относятся различные неспоровые грамотрицательные и грамположительные палочки, кокки и вибрионы. Типичным представителем фотогенных бактерий является *Photobacterium phosphoreum* — неподвижная коккоподобная палочка. Большинство светящихся бактерий содержится в морской воде и на теле обитателей моря, в том числе на рыбе. Эти микроорганизмы часто попадают на мясо при его хранении вместе с рыбой. Фотогенные бактерии хорошо размножаются на рыбе и мясе, но не вызывают каких-либо изменений их запаха, консистенции и других органолептических показателей.

### **Микрофлора мясопродуктов, консервированных посолом**

Одним из способов консервирования мяса является посол, в результате которого мясопродукты приобретают характерные аромат, вкус и окраску.

При посоле под влиянием высокой концентрации поваренной соли, пониженной температуры и антагонистических взаимоотношений микроорганизмов различных видов резко изменяется количество и групповой состав микрофлоры мяса.

Добавление поваренной соли губительно действует на микрофлору за счет повышения осмотического давления. В результате происходит обезвоживание, плазмолиз клеток микроорганизмов и нарушение их жизнедеятельности. Ионы хлора угнетающе действуют на микробные клетки, снижая их ферментативную активность.

Многие микроорганизмы, неспособные размножаться при высоких концентрациях хлористого натрия, сохраняют свою жизнеспособность в условиях посола продолжительное время. Так, листерии выживают концентрацию 24%-ного рассола более года, сальмонеллы — несколько месяцев, бруцеллы - до 2 мес. Поэтому для посола необходимо использовать благополучное в санитарном отношении мясо только здоровых и отдохнувших животных.

Под влиянием соли микроорганизмы в процессе посола могут изменять свои свойства. Например, сальмонеллы становятся похожими на сапротрофных бактерий группы кишечных палочек. Через 30 дней посола при высеве на среду Эндо вместо характерных для сальмонелл мелких бесцветных колоний они дают рост в виде крупных красных колоний и не агглютинируются специфическими сальмонеллезными сыворотками. Поэтому из солонины редко удается выделить возбудителей токсико-инфекций рода *Salmonella*.

В процессе посола изменяется количество и качественный состав микрофлоры рассола и мясопродуктов. В результате размножения микробов, адаптированных к условиям посола, общее количество микроорганизмов в рассоле возрастает в десятки раз и достигает в конце посола сотен тысяч и миллионов микробных клеток в 1 мл. Численность микроорганизмов в мясе в течение первых 3—4 нед посола также увеличивается, а затем начинает постепенно уменьшаться.

Качественный состав микрофлоры изменяется в результате подавления жизнедеятельности одних и преимущественного развития других видов микроорганизмов, а также вследствие адаптации некоторых микроорганизмов к условиям посола.

В рассол вместе с солью можно вносить сахар, специи, нитрит, аскорбиновую кислоту и другие добавки. Сахар придает продукту нежность и мягкость. Специи дают аромат. Нитрит используется для цвета. Кроме этого добавление нитрита оказывает губительное действие на грамотрицательные палочки и многие виды клостридий.

В рассолах для соленых мясopодуктов изменяется качественный и количественный состав микрофлоры.

В рассолах и солонине обнаруживают обычно различные солеустойчивые микрококки (*M.candidans*, *M.citreus*, *M.alvatum* и др.), бактерии рода *Pseudomonas* (*Ps. viscosa* и др.), *Achromobacter* (*A.reticulare*), *E. coli*, солеустойчивые молочнокислые бактерии (*L. plantarum*, *L. leichmanii*, *Pediococcus cerevisiae*, *Str. lactis*), энтерококки и грамположительные споровые палочки группы *subtilis—mesentericus*. Все эти микроорганизмы составляют основную микрофлору рассолов и соленых мясopодуктов. Кроме того, в рассолах иногда обнаруживают представителей рода *Leuconostoc*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Proteus*, анаэробных клостридий (*Cl. bifermentans*, *Cl. sporogenes* и др.), спорообразующие аэробные бактерии, галофильные дрожжи и плесени.

Изменение состава микрофлоры связано с влиянием консервирующих факторов посола и антагонистическими отношениями между микроорганизмами. Таким образом, микробный антагонизм, поваренная соль и пониженная температура являются важными консервирующими факторами, действующими на микроорганизмы и вызывающими изменения биохимических процессов при посоле мяса.

При посоле окороков в производственных заливочных рассолах к концу процесса микрофлора бывает обычно представлена главным образом молочнокислыми бактериями. Количество их в 1 мл рассола может достигать 80—90% от общего числа обнаруженных микроорганизмов. Кроме молочнокислых бактерий в состав основной микрофлоры заливочных рассолов, как правило, входят микрококки.

Процесс посола окороков и получение продукта с хорошо выраженными органолептическими свойствами связаны с развитием микроорганизмов, и в частности, молочнокислыми бактериями и микрококками. Большое количество молочнокислых бактерий из рода *Lactobacterium* — активных антагонистов — гнилостных микробов обнаруживают в старых производственных рас-

солах хорошего качества. Подавляя развитие гнилостных бактерий, микробы-антагонисты предохраняют продукты от порчи в процессе посола.

При нарушении температурного режима посола (недостатке соли), высокой микробной обсемененности сырья, нарушении санитарно-гигиенических условий производства и активного развития микроорганизмов может наступить порча рассола и соленых мясopодуKтов.

При порче рассола отмечаются изменения запаха (вместо ароматного и чистого — затхлый, гнилостный или кисловатый) и вкуса (прогорклый, кислый). В недоброкачественном рассоле наблюдается сильное помутнение и выпадение хлопьев, образование стойкой пены и поверхностной пленки, изменение цвета (коричневого в красно-бурый или зеленоватый при закисании). В испорченном рассоле, по сравнению с доброкачественным, отмечается более высокий уровень pH (выше 7,0).

Рассолы не должны содержать патогенных микроорганизмов, устойчивых к высоким концентрациям соли, в том числе сальмонелл.

Возбудителями порчи рассолов и мясopодуKтов чаще всего являются бактерии рода *Achromobacter*, *Spirillum*, *Vibrio*, иногда лактобактерии, микрококки, бактерии рода *Leuconostoc*, энтерококки и плесени. Кроме перечисленных микроорганизмов в начальной стадии порчи рассолов обнаруживают в небольших количествах бактерии группы кишечных палочек (*E. coli* и др.), *Proteus vulgaris*, стрептококков, анаэробных клостридий и аэробных спорообразующих бактерий, которые, хотя и неспособны активно размножаться при посоле вследствие повышенной чувствительности к высоким концентрациям соли, однако также могут участвовать в процессе порчи рассолов.

### **Микрофлора мясopодуKтов высушенных в вакууме**

В промышленных условиях для удлинения сроков хранения применяют сублимационную сушку. Сублимация – удаление влаги при низкой температуре (-15 – 20°C) в условиях вакуума. Высушенные таким методом продукты в герметичной могут храниться в течение нескольких лет в обычных температурных условиях.

Мясо и мясопродукты, предназначенные для сублимационной сушки, предварительно подвергают быстрому замораживанию до температуры - 30 – 40°С. В процессе последующей сублимации, вода, находящаяся в виде льда, , переходит из твердого состояния в пар, минуя жидкую фазу.

В процессе сублимации удаляется вся свободная вода и часть связанной (75 – 90%), а при досушивании испаряется оставшаяся вода. Досушивание продукта проводят при температуре 40 – 80° С.

Остаточная микрофлора таких продуктов представлена в основном стафилококками, молочнокислыми бактериями, дрожжами, а также спорами аэробных и факультативно-анаэробных бактерий.

При хранении сублимированных мясопродуктов в герметичной упаковке происходит частичное отмирание сохранившихся микроорганизмов. Особенно активно этот процесс происходит в первые 4 – 6 месяцев хранения.

### **4.3 Микрофлора сырой рыбы и гидробионтов**

Состав микроорганизмов рыбы и гидробионтов зависит от их вида и физиологического состояния, условий обитания, времени и способа вылова и других факторов. Микроорганизмы присутствуют в пищеварительных органах рыбы (особенно в кишечнике), на слизистой оболочке рта, поверхности жабр, тела рыбы (кожи, покрова) и гидробионтов. На поверхности рыбы встречаются различные бактерии, дрожжи, актиномицеты и некоторые обитающие в воде грибы. Среди бактерий, находящихся на поверхности рыбы, а также в гидробионтах, более часто обнаруживаются микрококки, сарцины, спорообразующие и бесспорные палочки. Среди них выявляли представителей *Achromobacteriaceae*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *E. coli*, *Clostridium*, *Vibrio parahaemolyticus* и др.

В покровной (кожной) слизистой оболочке могут также содержаться светящиеся бактерии, например *Photobacterium phosphoreum*. Среди дрожжей, обнаруживаемых на рыбе и гидробионтах, идентифицированы такие как *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotonda*, *Pichia*, *Cryptococcus*.

Микрофлора кишечника рыбы более постоянна и менее зависима от окружающей среды. В большом количестве в кишечнике рыбы развиваются гнилостные бактерии, среди которых наиболее часто встречаются клостридии. Рыбы при жизни подвержены различным инфекционным заболеваниям. Возбудители болезней рыб могут быть патогенными для самих рыб и для человека.

Гнилостные процессы, протекающие в рыбе и гидробионтах, аналогичны тем, которые наблюдаются в мясе теплокровных животных, но развиваются они быстрее. Для сохранения рыбы и гидробионтов используют такие технологические приемы, как замораживание, посолка, маринование, высушивание, копчение, тепловая обработка и др., которые позволяют увеличить срок годности этой продукции при транспортировании и хранении.

Рыба (сырая, охлажденная и мороженая), в соответствии с СанПиН 2.3.2.1078-01, нормируется по следующим микробиологическим показателям: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ); бактерии группы кишечных палочек (БГКП, колиформы); стафилококки (*Staph. aureus*); патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы и листерии (*L. tonocytogenes*). В морской рыбе дополнительно нормируется количество *Vibrio parahaemolyticus*, которое должно быть не более 100 КОЕ/г.

#### **4.4 Микрофлора яицепродуктов**

За счет защитных механизмов организма птицы (в частности, наличия лизоцима-бактерицидного белка) свежие яйца, полученные от здоровых птиц являются стерильными и не содержат микроорганизмов.

Обсеменение яиц птиц происходит двумя путями.

Эндогенное заражение яиц происходит во время его формирования в яичнике и яйцеводе. Птицы могут иметь скрытую форму инфекционного заболевания (сальмонеллеза, орнитоза, туберкулеза и др.) или быть бактерионосителями. Яйца могут быть заражены патогенными микроорганизмами (стафилококками, протейями, псевдомонадами и др.).

Опасность представляет заражение яиц сальмонеллами, способными вызывать тяжелые токсикоинфекции. Особенно часто инфицированными сальмонеллами бывают яйца водоплавающей птицы. В связи с этим запрещено продавать яйца водоплавающих птиц (утиные и гусиные) в продовольственных магазинах, на рынках и реализовать их в сыром виде через сети общественного питания.

Экзогенное обсеменение яиц происходит при сборе, хранении, транспортировке скорлупы яиц пометом, почвой, подстилкой, руками работников. В результате происходит проникновение микроорганизмов через поры скорлупы и подскорлупные оболочки микроорганизмами.

Свежее яйцо птицы имеет естественные защитные механизмы. В белке яйца присутствуют антибиотические вещества (лизоцим, овидин и др.) обеспечивающие сильное бактерицидное действие. Кроме этого высокое значение рН белка (9,2) и его устойчивость к протеолитическим ферментам подавляют развитие микроорганизмов в яйце.

При хранении антимикробное действие белка, а также защитные свойства скорлупы и подскорлупной оболочки снижаются.

Для улучшения товарного вида яиц и удаления микроорганизмов применяют мойку с дезинфицирующими препаратами, а также дезинфекцию яиц дезинфицирующими веществами (парами формальдегида, йода, хлора) или использование озоновых комплексов.

Хранение яиц при температуре  $0 - 2^{\circ}\text{C}$  и относительной влажности воздуха 85% продлевает действие защитных свойств.

Микрофлору яиц представляют бактерии из кишечника птиц, воздуха, почвы, воды (*Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *E. coli*, *Aspergillus*, *S. cholerae suis* и др.). Яйца с признаками порчи непригодны для использования. При овоскопии таких яиц видны темные пятна. Под воздействием микроорганизмов происходит разжижение белка, он становится мутным, появляется неприятный запах сероводорода.

На развитие микроорганизмов в яйце влияют:

- вид бактерий и вирусов,
- степень инаktivации лизоцима в белке,
- влажность воздуха,
- температура и продолжительность хранения.

В соответствии с СанПиН 2.3.2. 1078-01 яйца нормируются по следующим микробиологическим показателям: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ); бактерии группы кишечных палочек (БГКП, коли-формы); патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы. При этом для яиц куриных диетических и перепелиных КМАФАнМ должно составлять не более  $1 \times 10^2$  КОЕ/г, БГКП не должны содержаться в 0,1 г, а для яиц куриных столовых и других видов птиц - КМАФАнМ не более  $3 \times 10^5$  КОЕ/г ( $\text{см}^3$ ); БГКП - в 0,01 г. Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы не должны содержаться в 125 г для всех видов яиц.

В пищевой промышленности используют как яйца, так и яичные продукты: яичный порошок и яичный меланж - замороженная смесь белка и желтка в естественном соотношении. В меланже могут обнаруживаться стафилококки, бациллы и грамотрицательные палочки, плесневые грибы, микрококки, сарцины, а иногда и патогенные бактерии, в т.ч. сальмонеллы.

#### **4.5 Микрофлора мясных полуфабрикатов**

Мясные полуфабрикаты изготавливают из охлажденного и мороженого сырья.

Для удлинения срока хранения мясных полуфабрикатов их подвергают замораживанию в течение 1 – 3 часов при температуре  $-30 - 40^\circ\text{C}$ .

Содержание бактерий в замороженных мясных изделиях не должно превышать  $10^2 - 10^3$  КОЕ/ 1 г. В изделиях из фарша и субпродуктов общая бактериальная обсемененность составляет  $10^4 - 10^5$  КОЕ/ 1 г. Бактерии группы кишечной палочки не должны обнаруживаться в 0,1 г мясных изделий.

Срок хранения и реализации быстрозамороженных мясных полуфабрикатов составляет 4 суток при температуре хранения  $-5^{\circ}\text{C}$  и 2 суток при  $0^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.6 Микрофлора стартовых культур, используемых в технологии мясных и рыбных продуктов**

Стартовые культуры применяют для целенаправленной и ускоренной ферментации и созревания сырокопченых, сыровяленых колбас и цельномышечных деликатесов.

Наиболее часто в состав стартовых культур входят:

- Молочнокислые бактерии: *Lb.acidophilus*, *Lb.plantarum*, *Lb.curvatus*, *Lb.fermenti*, *Leuconostoc*, *Lac.diacetylactis* и др.
- Микрококки: *Micrococcus caseolyticus*, *Pediococcus acidilactici*.
- Стафилококки: *Staph.xylosus*, *Staph.carnosus*, *Staphюosciuri*.
- Дрожжи: *Debaryomyces*
- Плесневые грибы: *Candida*, *Penicilium*

Молочнокислые бактерии, микрококки, стафилококки, дрожжи и плесневые грибы расщепляют углеводы и жиры и способствуют образованию вкусовых оттенков колбас. Стартовые культуры имеют важное значение в формировании аромата сырокопченых колбас. Они участвуют в образовании окраски продукта – «эффект обратного покраснения». В ходе развития микроорганизмов образуется нитрозопигмент, который придает продуктам окраску от красно-коричневой до интенсивно-красной. Оптимум для образования нитрозопигмента является рН 5,5-5,4.

Многие исследователи полагают, что добавление стартовых культур, обладающих денитрифицирующей активностью, в мясные продукты, позволяет уменьшить дозировку нитрита натрия, применяемого для стабилизации цвета готового продукта. Денитрифицирующей способностью отличаются микрококки и некоторые лактобациллы. Последние участвуют в распаде гликогена с образованием молочной и других органических кислот, способству-

ют разбуханию коллагена и эластина, повышая нежность, сочность мясopодуктов и улучшают их консистенцию.

Бактериальные культуры, вносимые в виде стартовых заквасок, оказывают антибиотическое действие, вытесняя нежелательные микроорганизмы. Благодаря внесению стартовых культур рН среды продукта сдвигается в кислую сторону, а их метаболиты (низин, ацидофилин, лактоцидин, бревин и др.) предохраняют колбасы от порчи.

Штаммы коллекционных культур плесневых грибов *Penicillium* используют в составе колбасных оболочек для образования защитного слоя.

Основной ассортимент стартовых культур выпускается зарубежными фирмами. Эти закваски включают штаммы бактерий *Staph.xylocerevisiae*, *Pedicoccus acidilactici*, *Ped.pentosaceus*, *Ped.cerevisiae*, *Lactobacillus*. В состав отечественных заквасок входят в основном штаммы бактерий рода *Lactobacillus*, *Micrococcus*.

Применение стартовых культур в производстве продуктов из рыбы находится в стадии разработки.

## 4.7 Микробиология колбас

Микроорганизмы попадают в колбасный фарш на всех основных этапах технологического процесса его приготовления. Степень исходной микробной обсемененности колбасного фарша зависит от санитарно-гигиенических условий и соблюдения технологических режимов производства. В силу различий технологических процессов выработки вареных и копченых колбасных изделий микрофлора этих их изменяется неодинаково.

Готовые колбасы относятся к продуктам, употребляемым в пищу без предварительной термической обработки и поэтому должны отвечать высоким санитарным требованиям.

К сырью в колбасном производстве предъявляют высокие санитарные требования, поскольку оно является одним из источников микробного обсеменения.

Для вколбасных изделий используют сырье, полученное от упитанных, здоровых. Мясо условно-голодное можно использовать только с разрешения ветеринарно-санитарного надзора и после предварительной термической обработки.

Обсемененность микроорганизмами сырья, благополучного в санитарном отношении (т. е. полученного от здоровых животных), также может быть различной в зависимости от санитарно-гигиенических условий его получения, хранения, транспортировки, предварительной обработки, температурных режимов. Например, размороженное мясо содержит значительно большее количество микробов, чем охлажденное, так как в процессе оттаивания мороженых продуктов создаются благоприятные условия для размножения микроорганизмов. При этом микробная обсемененность поверхности размороженного мяса зависит от гигиенических условий соблюдения технологических режимов оттаивания.

Сырье с пониженной свежестью и ослизнением, наличием на поверхности загрязнений (кровь, содержимое желудочно-кишечного тракта и др.) содержит значительное количество микроорганизмов. В производство такое сырье может быть допущено только после предварительной тщательной санитарной обработки.

Подготовка мяса. Во время операций, выполняемых вручную, таких как разрубка туш, обвалка, жиловка, количество микроорганизмов в мясе резко увеличивается.

В процессе разрубки, обвалки и жиловки неизбежно в мясо попадают различные сапротрофные и условно-патогенные микроорганизмы. Возможно попадание и патогенных микроорганизмов с туши животного или окружающей среды. Степень обсеменения мяса зависит от величины кусков, на которые оно разделяется. Количество микроорганизмов в мелких кусках превышает их количество в крупных кусках почти в 100 раз.

Для снижения микробного обсеменения сырья необходимо проводить процесс его подготовки не более нескольких часов и при пониженной темпе-

ратуре производственных помещений, а также соблюдать санитарно-гигиенический режим производства.

Увеличение количества микроорганизмов в мясе при посоле происходит результате попадания вместе с посолочной смесью (рассолом) различных солеустойчивых и солелюбивых микроорганизмов (*Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, пигментных кокков, дрожжей, спор плесневых грибов, актиномицетов и др.). Чтобы исключить дополнительный источник обсеменения мяса микроорганизмами нужно применять стерильную посолочную смесь.

Микроорганизмы попадают в мясо также с оборудования и инвентаря, используемого при посоле. При соблюдении режима посола дальнейшего значительного увеличения количества микроорганизмов не происходит. Для этого необходимо соблюдать температуру не выше 2—4°C и срок посола не более 1—3 сут для вареных и не более 5—10 сут для сырокопченых колбас.

При измельчении мяса на волчке и куттере и последующей обработке фарша в смесильной машине происходит дальнейшее обсеменение фарша.

Дополнительное обсеменение фарша происходит при добавлении специй и шпика. Со специями в фарш попадает значительное количество споробразующих бактерий: *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. cereus*, *Bac. typhimurium* и др. После внесения специй количество спор в фарше для колбасы возрастает в 50 - 100 раз. Уменьшить микробное загрязнение колбасного фарша позволяет использование стерильных специй.

Источником дополнительного обсеменения может быть оборудование и обслуживающий персонал. Перед началом работы и в конце рабочего дня все оборудование промывают горячей водой и обрабатывают паром. Мелкие части оборудования (ножи, решетки, валы необходимо тщательно чистить и мыть горячим содовым раствором). Рабочие, обслуживающие машины, в начале смены и в процессе работы, должны мыть и дезинфицировать специальными растворами, а также следить за чистотой рабочей одежды.

Естественные кишечные оболочки могут содержать микроорганизмы, являющиеся возбудителями порчи мяса и мясопродуктов. В мокросоленых

кишечных оболочках обычно в большом количестве присутствуют галофильные и солеустойчивые микроорганизмы (*Bac. halophilum*, *Micr. carneus*, *Micr. roseus halophilus*, *Micr. citreus*, *Micr. albus*, *Sarcina flava*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, актиномицеты, плесени и др.). В пресно-сухих кишечных оболочках также часто находятся споровые аэробные гнилостные бактерии (*Bac. mesentericus*, *Bac. subtilis* и др.), актиномицеты, споры плесневых грибов и различные кокковые бактерии.

### **Влияние тепловой обработки на микрофлору вареных колбас**

После наполнения колбасных оболочек фаршем продолжают изменения микрофлоры колбас.

Осадка При соблюдении технологического режима (температура не выше 2°С, относительная влажность 85—95%, продолжительность процесса не более 2—4 ч) количество и качественный состав микрофлоры фарша почти не изменяется. Повышение температуры и увеличение продолжительности осадки может привести к значительному размножению микроорганизмов (в том числе иногда *Cl. perfringens* и других токсигенных бактерий) и увеличению общей микробной обсемененности.

Обжарка (обработка горячим дымом при 80—110°С в течение 0,5—2 ч). При этом процессе оболочка (а частично сам фарш с краев) пропитывается составными частями дыма, подсушивается. В результате этого создаются условия, неблагоприятные для размножения микробов на поверхности колбасных батонов. Под влиянием горячего дыма фарш нагревается. В батонах диаметром 3—5 см температура повышается до 40—50°С, а в батонах диаметром 5—15 см и больше - от -30 до —40°С. В результате в батонах большого диаметра создаются условия, благоприятные для размножения микробов.

Варка колбас придает продукту специфические вкусовые качества и способствует уничтожению микроорганизмов в продукте.

Варка колбас паром длится при 85-90°С от 10 мин до 2,5 часов. Температура внутри батонов достигает 70-72°С. После варке в готовом продукте мо-

гут сохраняться неспорообразующие термоустойчивые бактерии и споры бактерий.

До варки общее количество микроорганизмов в 1 г сырого фарша составляет десятки тысяч и более микробных клеток. После варки в 1 г фарша - сотни или несколько тысяч клеток бактерий.

### **Состав остаточной микрофлоры**

Остаточная микрофлора колбасных изделий после варки представлена в основном спорообразующими бактериями (*Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Cl. sporogenes* и др.) и незначительным количеством неспоровых бактерий, главным образом кокков. Количество неспорообразующих бактерий в вареных колбасах большого диаметра составляет обычно не более 10—12%, в батонах небольшого диаметра — только 4—7%, а в сосисках — всего 1—3% от общего количества микробов, выживших при варке.

В готовых колбасах нормируется общее количество бактерий, содержание патогенных и условно-патогенных. КМАФАнМ не должно превышать  $1-2,5 \times 10^3$  КОЕ; сальмонеллы должны отсутствовать в 25 г продукта; облигатные анаэробы не допускаются в 0,01 г. Наличие БГКП, протей, *Cl. perfringens* свидетельствует о «недоваре» - недостаточной термической обработке.

После варки колбасы охлаждают под душем до температуры 30-35°C для того чтобы предотвратить размножение сохранившихся бактерий, а после этого охлаждают до 4°C. Реализация вареных колбас должна осуществляться в течение 72 часов.

**Безоболочные виды колбасных изделий (мясные хлеба, карбонад и др.)** после надлежащей термической обработки также имеют незначительную общую микробную обсемененность; в целом они не должны содержать патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Групповой состав микрофлоры представлен главным образом споровыми формами сапротрофов и единичными кокковыми бактериями. После термической обработки эти продукты часто получают практически стерильными. При несоблюдении мер предосторожности на конечных операциях (извлечение из форм, внутризавод-

ских перемещений, упаковка в бумагу или целлофан) их поверхность легко может быть обсеменена микроорганизмами, так как они не имеют защитной оболочки. Наиболее часто встречаются в колбасном производстве *E.coli*, *P.vulgaris*, споровые гнилостные бактерии, кокки. На поверхности упакованной продукции количество микробов достигает сотен тысяч на 1 см<sup>2</sup> и *E.coli* обнаруживают во всех пробах.

Копчение и сушка. Групповой состав микрофлоры полукопченых колбас после копчения и сушки не изменяется. Общее количество микроорганизмов несколько уменьшается, поскольку часть микробов, выживших при варке, отмирает в процессе дополнительной обработки.

Количественное содержание остаточной микрофлоры вареных и полукопченых колбас может колебаться в значительных пределах в зависимости от исходного количества и группового состава микрофлоры сырого фарша, правильности соблюдения термического режима варки, вида, сорта колбас и др. Так, общая микробная обсемененность мясных колбасных изделий составляет в среднем от нескольких десятков до нескольких сотен или нескольких тысяч микробных клеток в 1 г, тогда как в ливерных колбасах может содержаться от нескольких десятков -тысяч до нескольких сотен тысяч микробов в 1 г. В колбасах III сорта всегда содержится больше микроорганизмов, чем в колбасных изделиях I и II сортов.

При соблюдении всех санитарных норм и технологических режимов производства общая микробная обсемененность вареных и полукопченых колбас I и II сортов допускаются не выше 1000 и колбас III сорта - не выше 2000 микробных клеток в 1 г.

В колбасах не должны содержаться патогенные и условно-патогенные микроорганизмы (*E. coli* и *Proteus vulgaris*). Их присутствие указывает на нарушение санитарных норм или на несоблюдение технологических режимов осадки, обжарки или варки.

### **Микробиология копченых и сыровяленых колбас**

Для приготовления сырокопченых колбас используют длительную осадку батонов в течение 5-7 суток. Затем продукт подвергают холодному копчению при 18—25°<sup>0</sup> и сушке, длящейся до 1,5 мес. Сыровяленые (вяленые) колбасы сушат без предварительного копчения.

Закисание (созревание) колбасного фарша и сушка колбасы является важнейшим фактором консервирования колбасных изделий. Полезная микрофлора колбасного изделия вместе с добавками и компонентами коптильного дыма определяют вкус и запах изделия.

Поскольку в процессе изготовления сырокопченых колбас не применяют тепловой обработки, обеспечивающей уничтожение неспорных микроорганизмов, микрофлора этих колбас изменяется иначе, чем вареных и полукопченых. В ходе технологического процесса микрофлора их изменяется количественно и качественно в отношениях, так как создаются условия, замедляющие их рост, но не исключающие размножение микроорганизмов в продукте. В результате общая микробная обсемененность фарша постепенно возрастает во время длительной осадки, копчения (у сырокопченых колбас), и в начале процесса сушки, количество их достигает к 10—20-му дню созревания (сушки) продукта - миллионов и более микробных клеток в 1 г. Затем общая численность микроорганизмов постепенно снижается и через 30—50 дней к окончанию сушки снижается в несколько раз.

Общая бактериальная обсемененность готового колбасного фарша - не более 10<sup>6</sup> КОЕ в 1 г.

Качественный состав микрофлоры фарша меняется в процессе созревания колбас. Основную массу микрофлоры составляют граммотрицательные бактерии, в том числе из группы кишечных палочек (*E. coli* и др.) и рода *Proteus*; аэробные бациллы (*Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus* и др.), анаэробные клостридии, энтерококки, стафилококки. Кроме этого, в фарше обычно содержатся в небольших количествах дрожжи, микрококки и молочнокислые бактерии.

В процессе созревания за счет снижения рН, изменения концентрации соли, снижению влажности и действию антисептических коптильных веществ в колбасах количество молочнокислых бактерий, микрококков и дрожжей увеличивается, а гнилостные бактерии отмирают.

Многие штаммы *L. plantarum*, *L. breve*, *Pediococcus cerevisiae* и других молочнокислых бактерий, выделяемые из копченых колбас, обладают выраженным антагонизмом в отношении тест-культур *E. coli*, *Proteus vulgaris*, гнилостных аэробных бацилл (*Bac. subtilis* и др.), стафилококков. Штаммы дрожжей из рода *Deba-ryomyses* оказывают антагонистическое действие на плесневые грибы *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Endomyces lactis* (*Oidium lactis*).

Микробы-антагонисты к которым относятся молочнокислые бактерии и микрококки, обладают значительной солеустойчивостью, что позволяет им более активно размножаться в процессе постепенного обезвоживания продукта. В результате их развития происходит постепенное вытеснение грамотрицательных бактерий, аэробных гнилостных бацилл, стафилококков. Антагонизм обусловлен антибиотическим действием метаболитов и сдвигом рН фарша в кислую сторону, неблагоприятную для размножения гнилостных и условно-патогенных бактерий.

В процессе созревания колбас групповой состав микрофлоры изменяется и становится более однородным. Обычно в конце созревания сырокопченых и вяленых колбас молочнокислые бактерии и микрококки составляют наиболее значительную часть общего количества микрофлоры продукта. Грамотрицательные бактерии, преобладавшие в начальный период процесса, по мере созревания колбас постепенно отмирают и не обнаруживаются в фарше: бактерии рода *Proteus* - к 18—20—30-му дню, а *E. coli* — через 30—50 дней сушки. В готовых созревших колбасах эти микроорганизмы, как правило, отсутствуют.

Полезная мкрофлора оказывает существенное влияние на формирование специфических органолептических свойств сыровяленых и сырокопченых

колбас. Представителями микрофлоры готовых колбас являются молочнокислые бактерии (*Lbs. plantarum*, *Lbs. brevis*, *Pediococcus cerevisiae*, *Leuconostoc dext.*), микрококки, дрожжи (*Debariomycetes*).

В процессе копчения продукт пропитывается антисептическими веществами коптильного дыма, подавляющими развитие микроорганизмов. Однако к действию коптильных веществ наиболее чувствительны только неспорообразующие микроорганизмы, особенно *E. coli*, *Proteus vulgaris*, стафилококки и вегетативные формы споровых бактерий. Споры аэробных бацилл, клостридий и плесени обычно при копчении не погибают.

Кроме того, значительные количества коптильных веществ проникают только в поверхностные слои фарша, а в центре колбасных батонов их концентрация обычно в 10—15 раз ниже. Следовательно, коптильные вещества играют лишь второстепенную роль в подавлении жизнедеятельности микрофлоры фарша. Бактерицидный эффект копчения заключается главным образом в создании бактерицидной зоны в поверхностных участках продукта, защищающей его от проникновения извне и размножения микроорганизмов.

Варено-копченые колбасы в отличие от сырокопченых подвергаются осадке в течение 1—2 суток, затем горячему копчению при 50—60°C. После этого изделия подвергают варке, вторичному копчению при 32—45°C и сушке в течение 7—15 суток.

Во время осадки и первичного копчения, как и при изготовлении сырокопченых колбас, происходит активное размножение микрококков, молочнокислых бактерий и общее количество микробов в фарше увеличивается.

При варке значительная часть микрофлоры фарша погибает. В том числе отмирают *E.coli*, *Proteus vulgaris*, часть молочнокислых бактерий, микрококков и споровых бактерий.

Выжившие при варке микроорганизмы, главным образом молочнокислые бактерии и микрококки, размножаются в процессе вторичного копчения и сушки. По сравнению с сырокопченными колбасами общее количество микроорганизмов в готовых варено-копченых колбасах ниже.

Состав микрофлоры варено-копченых колбас, в конце созревания практически не отличается от состава микрофлоры сырокопченых колбас. В нем преобладают микрококки и молочнокислые бактерии, влияющие на процесс формирования органолептических показателей готового продукта.

### **Изменение микрофлоры колбасных изделий при хранении**

Сырокопченые колбасы являются самыми стойкими при хранении. В зависимости от сорта продолжительность их хранения при температуре 4 -6°C до 6 месяцев.

Срок хранения варено-копченых колбас составляет 3-5 дней при температуре 4-6°C, а замороженном виде 6 месяцев. После замораживания варено-копченых изделий возможно размягчение и потеря копильного аромата.

Срок хранения вареных колбас, содержащих более 50% влаги составляет 1-2 недели при температуре 2-4°C.

## **4.8 Микробиология мясных консервов**

Срок хранения стерилизованных мясопродуктов в герметически закрытых банках при соблюдении определенных режимов составляет несколько лет.

Для изготовления консервов используют мясо от здоровых упитанных животных. Мясо загрязненное, пониженной свежести, условно-годное, плохо обескровленное, полученное от животных вынужденного убоя, дважды замороженное не допускается к использованию при производстве консервов.

**Источниками микрофлоры** для консервированных продуктов являются сырье (мясо животных, субпродукты, растительные материалы) и вспомогательные материалы. Сырье может содержать значительное количество сапротрофных микроорганизмов, в том числе анаэробных клостридий и термофильных бацилл, вызывающих пороки консервов. Иногда в сырье могут содержаться токсигенные и патогенные микроорганизмы, такие как *Сl. perfringens*, токсигенные стафилококки, сальмонеллы и др.

При изготовлении мясо-растительных консервов используют растительное сырье (бобы, фасоль, горох и др.), которое может быть источником сильного обсеменения продукта эпифитными микроорганизмами. На поверхности

растительного сырья обычно обнаруживают десятки и сотни тысяч микробов в 1 г. Основную микрофлору составляют почвенные споровые микроорганизмы (аэробные бациллы, анаэробные клостридии, в том числе иногда возбудитель ботулизма — *Cl. botulinum*). Количество и групповой состав микроорганизмов может быть различным, что зависит от вида растительного сырья, условий возделывания растений и качества пищевых добавок.

Следовательно, мясо и растительное сырье являются основными источниками микрофлоры консервируемых продуктов. От загрязненности их в значительной степени зависит концентрация остаточной микрофлоры и обсемененность продукта до стерилизации. Поэтому при производстве консервов к мясному сырью предъявляют более высокие требования, чем при производстве колбас.

В процессе закладки плотных составных частей продукта (мясо, растительное сырье, пряности) и заливки жидких составных частей (бульон, соус) и доведении массы нетто до стандартной (порционирование) возможно повышение обсемененности консервируемого сырья. Источниками обсеменения при ручной раскладке могут быть руки рабочих или оборудование, а также вспомогательные пряности, соль, сахар, бульонная добавка и др.

Пряности обычно содержат большое количество микроорганизмов. Общая микробная обсемененность пряностей (перец, лавровый лист, кориандр, гвоздика и др.), часто составляет десятки и сотни тысяч, а иногда и миллионы микробных клеток в 1 г. В пряностях аэробные бациллы и анаэробные мезофильные и термофильные клостридии. Наибольшее содержание микроорганизмов в молотых пряностях.

Соль и особенно сахар часто бывают обсеменены (до 80% случаев) различными споровыми аэробными и анаэробными бактериями, главным образом мезофильными бациллами и клостридиями. Жир-сырец, добавляемый в консервы, содержит значительное количество бесспорных микроорганизмов; в топленом жире присутствуют термоустойчивые споры многих аэробных и анаэробных бактерий; для бульонной заливки характерно разрастание споро-

вых термофильных микроорганизмов, попадающих в нее из трубопроводов бульоноварочных установок, где они могут размножаться. Консервируемые продукты обсеменяются главным образом термоустойчивыми микроорганизмами, состав которых разнообразен благодаря внесению вспомогательных добавок.

Дополнительным источником обсеменения продукта микроорганизмами может быть консервная тара (банки). До санитарной обработки они содержат значительное количество кокковых бактерий, мезофильных аэробных бацилл и анаэробных клостридий, неспоровых гнилостных бактерий, плесеней, дрожжей, актиномицетов и бактерий группы кишечных палочек. Перед использованием консервные банки следует подвергать тщательной санитарной обработке (мойке и пропариванию).

Мероприятия по снижению микробной обсемененности консервируемых продуктов должны предусматривать строгое выполнение санитарных правил и всех технологических режимов производства, а также микробиологический контроль санитарно-гигиенических условий производства и санитарного качества сырья.

Во время закатки из банок удаляется кислород и создается вакуум. Такие условия сохраняют химический состав продукта, способствуют более полному сохранению органолептических свойств и витаминов и устраняют возможность развития аэробных бактерий.

Закатанные банки проверяют на герметичность в ваннах с горячей водой. Негерметичные банки (из которых поднимается воздух в виде пузырьков) на стерилизацию не отправляют.

**Стерилизация консервов** проводится в автоклавах и является заключительным этапом технологического процесса консервирования. Данная операция уничтожает патогенные и токсигенные микроорганизмы, а также микроорганизмов, способных вызвать порчу продукта. Стерилизация проводится при температуре 112—120°C.

Эффективность стерилизации консервов зависит от многих факторов. В первую очередь от температуры и продолжительности нагрева, количественного и качественного состава микрофлоры, консистенции продукта, его химического состава, концентрации поваренной соли в продукте.

Обычно причиной порчи пищевого продукта является гетерогенная ассоциация самых разнообразных микроорганизмов. Наличие широкого спектра микроорганизмов затрудняет предупреждение загрязнения. Для этого нельзя ограничиться применением какого-то одного специфического способа, предназначенного в основном для устранения одного определенного источника загрязнения. Борьба можно лишь путем общих санитарно-гигиенических мероприятий.

Уничтожение микробов при стерилизации является функцией времени и температуры. Чем выше температура, тем быстрее гибнут микроорганизмы. Однако, несмотря на воздействие высоких температур, в консервах после стерилизации микробные клетки могут сохраняться жизнеспособными, т. е. не всегда достигается полная стерильность всех банок. Поэтому при выработке различных видов консервов ориентируются обычно на консервированный продукт, удовлетворяющий требованиям промышленной стерильности. В консервированном продукте промышленной стерильности допускается присутствие только ограниченного числа видов спорообразующих микроорганизмов. В нем должны отсутствовать микроорганизмы и вещества микробиологического происхождения, опасные для здоровья людей, а также микроорганизмы, способные развиваться и вызывать порчу продукта при температуре хранения, установленной для данного вида консервов.

Иногда условия того или иного производства или сам способ стерилизации каким-то образом способствует интенсивному развитию одного определенного вида микроорганизмов. Последний начинает доминировать в микрофлоре данного пищевого продукта и может вызвать резкие изменения вкуса, запаха и цвета продукта, появление слизи и т.д.

Споры различных видов спорообразующих микроорганизмов обладают неодинаковой устойчивостью к высоким температурам. Так, споры многих мезофильных аэробных бацилл отмирают уже при 100°C, тогда как споры *Bac. subtilis* могут сохранять жизнеспособность при 130°C. Устойчивы к действию высоких температур также споры термофильных аэробных бацилл (*Bac. coagulans*, *Bac. aerothermophilus*, *Bac. stearothermophilus* и др.), сохраняющих жизнеспособность при 125—130°C. Споры анаэробных микроорганизмов отмирают при высоких температурах медленнее, чем споры аэробов. Споры разных штаммов одного и того же вида микроба также могут иметь неодинаковую устойчивость к высоким температурам. Наиболее термоустойчивыми являются зрелые покоящиеся споры.

Следовательно, результаты стерилизации во многом зависят от того, какова устойчивость микроорганизмов, содержащихся в продукте, к температурам, применяемым при его консервировании. В не меньшей степени на результаты стерилизации влияет общее содержание бациллярных форм микроорганизмов, их спор. Чем выше начальная микробная обсемененность консервов, тем больше времени требуется для полного уничтожения микроорганизмов и тем больше их может выжить при нагревании.

В продуктах с повышенным содержанием жира устойчивость микроорганизмов к высокой температуре повышается и эффективность стерилизации снижается.

Устойчивость микроорганизмов к высокой температуре повышается за счет их осморегуляции при концентрациях соли 3-5%.

Для многих спорообразующих бактерий и их спор (в т.ч. *Cl. Botulinum*) устойчивость к высокой температуре повышается при концентрации поваренной соли 1—2%.

Наивысший эффект действия соли на термоустойчивость некоторых видов бацилл и клостридий (*Bac. mesentericus*, *Cl. sporogenes*) и аспорогенных форм микроорганизмов (*Micrococcus candidans*, *Lactobacterium* и др.) наблюдается при концентрации соли 5,8%. Споры *Cl. periringens* наиболее устойчи-

вы к нагреванию в присутствии 3% поваренной соли. Повышение термоустойчивости микроорганизмов при небольших концентрациях поваренной соли объясняется осмотическим отсасыванием влаги из микробных клеток, в результате чего их устойчивость к нагреванию повышается.

Концентрация соли выше 10% уменьшает термоустойчивость *Cl. perfringens*, *Cl. botulinum* и других микроорганизмов. В этом случае начинает проявляться ее высаливающее действие на белки, что приводит к снижению термоустойчивости микробов и их спор.

Известно, что термофилы в сравнении с мезофилами содержат в клетках меньше денатурирующихся белков и больше насыщенных жирных кислот, чем ненасыщенных.

**Остаточная микрофлора консервов.** Микроорганизмы, которые при тепловой обработке, т. е. в процессе стерилизации консервов, сохранили свою жизнеспособность, принято называть остаточной микрофлорой. Состав остаточной микрофлоры стерилизованных консервов, как правило, бывает представлен спорообразующими бактериями, споры которых обладают значительной устойчивостью к действию высокой температуры. Из спорообразующих бацилл значительную долю остаточной микрофлоры мясных и мясорастительных консервов обычно составляют термофилы (*Bac. polymyxa*, *Bac. asterosporus*, *Bac. stearothermophilus*, *Bac. thermoliquefaciens*, *Bac. coagulans*, *Bac. aerothermophilus*), а также, мезофильные аэробные бациллы (*Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. mesentericus vulgatus* и др.), имеющие термоустойчивые споры.

В промышленно-стерильных консервах не должно содержаться патогенных и токсигенных микроорганизмов, а также возбудителей порчи консервов. Допустимое количество клеток микроорганизмов в 1 г консервируемого продукта составляет  $1:10^1$ —  $1:10^3$ .

Для выявления остаточной микрофлоры, способной развиваться, после стерилизации консервы подвергают косвенному микробиологическому кон-

тролю —термостатной выдержке при 37°C в течение 10 сут. Если в консервах перед стерилизацией установлены повышенная общая микробная обсемененность, наличие спор клостридий или термофильных аэробов — возбудителей плоскокислой порчи, то они подлежат 100%-ной термостатной выдержке. За это время сохранившие жизнеспособность споры микроорганизмов могут прорасти. Затем вегетативные формы их будут размножаться и вызовут порчу продукта, определяемую внешним осмотром (бомбаж или течь на лопнувших банках). Однако термостатная выдержка — недостаточный критерий промышленной стерильности консервов. При длительном хранении консервов, подвергнутых термостатированию, иногда вновь выявляются бомбажные банки. Это объясняется, во-первых, тем, что температура термостатной выдержки (37°C) не является оптимальной для всех микроорганизмов остаточной микрофлоры консервов. Среди них много термофилов, активно проявляющих свою жизнедеятельность при более высоких температурах. Во-вторых, споры, ослабленные стерилизацией, часто не успевают прорасти в течение 10 дней и проявляют свою активность значительно позже. Например, споры *Bac.subtilis* и *Bac. mesentericus* иногда прорастают при 37°C только после 20—27-дневной инкубации, *Cl.botulinum* и *Cl.sporogenes* нередко после 56—58 дней, а споры *Cl. pasteurianum* в некоторых случаях через 75—91 день.

Кроме того, термостатирование не позволяет обнаружить в консервах жизнеспособные клетки бактерий, размножение которых не сопровождается образованием газов и не приводит к бомбажу банок (возбудители плоскокислой порчи, токсигенные стафилококки и другие патогенные бактерии).

В процессе хранения остаточная микрофлора может долго сохраняться в неактивном состоянии (не размножаясь) и не влиять на доброкачественность консервов. Возможен переход микроорганизмов от временного «латентного» состояния к активной жизнедеятельности и размножению.

### **Порча консервов**

Бомбаж проявляется в консервных банках с вздувшимися доньшками. Может быть микробиологическим и химическим.

В результате активной жизнедеятельности микроорганизмов скоплением в банке газов возникает микробиологический бомбаж. Размножаясь в анаэробных условиях они минерализуют органические вещества продукта (углеводы и белки) с образованием больших количеств газообразных веществ ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  и др.). Порчу консервов с образованием бомбажа чаще всего вызывают гетеротрофные газообразующие мезофильные облигатные анаэробы: *Cl.sporogenes*, *Cl.putrificus*, *Cl.bifermentans*, *Cl.histolyticus*, *Cl.perfringens*, *Cl.pasteurianum*, *Cl.butyricum*. Первые четыре представителя клостридий обладают высокой протеолитической активностью, что обуславливает обычно гнилостный распад белков до аминокислот с образованием газов. Остальные – сахаролитические клостридии – гидролизуют дисахариды, полисахариды, гликоген с образованием газов. Типичными возбудителями бомбажа мясных и мясо-растительных консервов чаще всего являются *Cl.sporogenes*, *Cl.putrificus* и *Cl.perfringens*.

Бомбаж консервов может вызывать токсигенный облигатный анаэроб *Cl.botulinum*. Однако при его размножении в консервах не всегда наблюдается явно выраженный бомбаж. При развитии термофильных облигатных анаэробов *Cl.thermosaccharolyticus*, обладающих сахаролитическими свойствами, образуется большое количество газов ( $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ).

Причиной бомбажа мясных и мясо-растительных консервов может быть активное развитие факультативно-аэробных термофильных бактерий рода *Bacillus* (*Bac.mesentericus ruber*, *Bac.polymyxa*, *Bac.asterosporus*).

Кроме спорообразующих микробиологический бомбаж могут иногда вызывать бесспорные газообразующие бактерии группы кишечных палочек, рода *Proteus*, кокки, дрожжи и др., которые сохранили жизнеспособность при стерилизации или были привнесены в готовые консервы вследствие негерметичности тары.

Плоскокислая порча появляется в результате разложения углеводов под влиянием микроорганизмов. Из-за образования органических кислот у консервов изменяется цвет, а также появляется кислый запах и вкус.

Основными возбудителями плоскокислой порчи консервов спорообразующие аэробные микроорганизмы (*Bac.stearotherophilus*, *Bac.aerotherophilus*, *Bac.sicarotherophilus*, *Bac.nondiastaticus*, *Bac.panis viscosus*, *Bac.coagulans*). Они развиваются в консервированных продуктах, богатых углеводами и сохраняют жизнеспособность в условиях хранения при повышенных температурах (55—70°C).

Порчу мясных и мясо-растительных консервов чаще всего вызывают *Bac. aerotherophilus* и *Bac. stearotherophilus*.

Сульфитная порча возникает при развитии в консервах термофильных анаэробных бактерий *Cl.nigrificans*, способных разлагать белки с образованием сероводорода. Сероводород растворяется в содержимом, продукт чернеет и приобретает запах тухлых яиц.

### **Микробиологический контроль консервов**

Вредное влияние на мясо ферментов микроорганизмов имеет очень большие последствия. Поэтому первым требованием является обеспечение низкого содержания микроорганизмов в мясе при консервировании. В процессе их производства консервируемых продуктов обязательно микробиологическое исследование перед стерилизацией и контроль готовой продукции после стерилизации.

После стерилизации консервы в количестве 5 - 10% из каждой партии подвергают термостатированию при температуре 37°C в течение 10 суток для выявления остаточной микрофлоры. При наличии бомбажа, течи из лопнувших банок проводят дополнительное исследование микрофлоры для выявления возбудителей порока.

Ежедневно в каждом виде вырабатываемой продукции на каждой линии определяют общее количество микроорганизмов. Общее микробное число (ОМЧ) в 1 см<sup>3</sup> продукта должно быть не выше - 200 тыс. КОЕ для мяса тушеного; 50 тыс. для мясо-растительных консервов; и не более 10 тыс. КОЕ паштетов. Один-два раза в неделю для каждого вида вырабатываемой продукции с

профилактической целью определяют споры облигатных анаэробов и термофильных бактерий.

#### **4.9 Биоконверсия отходов мясной промышленности**

Эффективность процессов биодегратации жиросодержащих отходов мясной промышленности можно существенно повысить используя микробные препараты. Жиросодержащие отходы представляют собой преимущественно смесь различных триацетилглицеридов, состав которых активно трансформируется микроорганизмами. Наиболее перспективным биодеструктором могут служить дрожжи *Yarrowia lipolytica*. При аэробном культивировании дрожжи дают хорошую биомассу с содержанием сырого протеина 30-35% и жироподобных веществ – около 10%.

Повысить содержание белковых веществ и качество получаемой биомассы можно за счет подбора (соотношения) оптимальной концентрации отходов, возраста, активности и концентрации посевного материала, отвечающего высокой адаптацией к субстратам смешанной микрофлоры отходов. Можно также стимулировать липолитическую активность дрожжей и сократить процесс дегреации жиросодержащих отходов с 120 до 50 ч. При этом увеличить содержание сырого протеина.

В мировой практике жироподобные отходы традиционно утилизируют аэробным способом с помощью иммобилизированной и незакрепленной массы микроорганизмов – деструкторов липидов. Через 80-90 часов отмечается почти полное разложение жиров.

#### **Контрольные вопросы**

1. Исходная микрофлора мяса. Пути обсеменения
2. Эндогенное и экзогенное обсеменение мясного сырья
3. Микробиологическое и бактериологическое исследования мяса и определение его свежести- $\ddot{e}$ -++002A
4. Основные факторы, влияющие на размножение микроорганизмов в мясе.
5. Микрофлора мяса птицы и яиц.

6. Микроорганизмы рыбы и гидробионтов.
7. Виды порчи мяса.
8. Изменения, происходящие в мясе после убоя и в процессе хранения?
9. Изменения микрофлоры мяса при охлаждении и заморозке?
10. Изменение состава микрофлоры мясопродуктов, консервированных посолом и сушкой.
11. Микрофлора мясных полуфабрикатов.
12. Микробиология колбас.
13. Микробиология сыровяленых и копченых и колбас.
14. Влияние тепловой обработки на микрофлору колбас.
15. Виды порчи колбасных изделий.
16. Изменение микрофлоры колбасных изделий при хранении.
17. Микрофлора стартовых культур, используемых в технологии 18. мясных и рыбных продуктов
19. Микробиология мясных консервов. Виды порчи
20. Микробиологический контроль производства мясопродуктов

### **Примерные темы рефератов**

1. Микроорганизмы и источники обсеменения сырого молока.
2. Дрожжи и их характерные признаки.
3. Пороки молока – сырья микробного происхождения.

4. Бактерицидная фаза сырого молока.
5. Факторы, определяющие на качество сырого молока.
6. Микробиология питьевого молока.
7. Бифидобактерии, их характеристика. Бифидопродукты.
8. Закваски в молочной промышленности.
9. Биотехнологические процессы производства молочных продуктов.
10. Технологии производства молочных функциональных продуктов.
11. Микробиология молочных консервов.
12. Микробиологический производственный контроль в молочной промышленности.
13. Биотехнология производства сливочного масла и сыров.
14. Микробиологические и биохимические процессы при созревании сыров и сыропригодность молока-сырья.
15. Вторичные сырьевые ресурсы молочной промышленности и их использование.
16. Микробиология мяса и рыбы и продуктов их переработки. Сходство и различие.
17. Микробная порча и ее влияние на качество мяса и рыбы.
18. Микробная порча парного, охлажденного и товарного мяса.
19. Микробиология крови.
20. Микробиология колбас.
21. Стартовые культуры микроорганизмов при производстве колбас.
22. Роль микроорганизмов в образовании специфических качеств мясных продуктов.
23. Микробиология консервов.
24. Микробиология рыбы и гидробионтов.
25. Микробиология рыбных консервов и пресервов.
26. Микрофлора копченых рыбных продуктов.
27. Микробная порча мясных и рыбных продуктов.
28. Патогенные микроорганизмы мясных и рыбных продуктов.

29. Микробиологический контроль в мясной промышленности.
30. Микробиология соленого мяса и мясопродуктов.

### Тестовые задания

1. Показатели качества и безопасности продуктов питания определяются
- А - микроорганизмами, находящимися в исходном сырье.  
 Б - микроорганизмами поступающими в процессе переработки  
 В - микроорганизмами, развивающимися в процессе хранения  
 Г – все утверждения верны
2. Нормативы безопасности пищевых продуктов по микробиологическим показателям содержат контроль за:
- А - санитарно-показательные  
 Б - потенциально патогенные и патогенные микроорганизмы  
 В - микроорганизмы порчи  
 Г - все утверждения верны
3. К санитарно-показательным микроорганизмам относятся
- А - мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы и бактерии группы кишечных палочек  
 Б - *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, сульфитредуцирующие клостридии.  
 В - сальмонеллы, шигеллы и др., бактерии, вызывающие пищевые гастроэнтериты.  
 Г - плесневые грибы и дрожжи, бактерии: аэробы и анаэробы и др.
4. Продуктами микробного синтеза являются
- А – витамины, провитамины, коферменты, ферменты  
 Б – антибиотики, гиббереллины  
 В – аминокислоты, ростовые вещества  
 Г – все утверждения верны
5. Процесс пастеризации и стерилизации основан на принципе
- А – биоза  
 Б – абиоза  
 В – анабиоза  
 Г – ценоанабиоза

6. Торможение процессов метаболизма микроорганизмов достигается  
 А – дегидратацией клеток при действии низких и ультранизких температур;  
 Б – высушиванием из замороженного состояния под вакуумом и из жидкости под вакуумом;  
 В – уменьшение доступа кислорода – под минеральным маслом, в запаянных ампулах, под резиновыми и парафиновыми пробками;  
 Г – все утверждения верны

7. Для длительного хранения коллекции лактобактерий обязательно выполнение приемов:  
 А – подготовка штаммов к хранению в соответствующей питательной агаризованной среде;  
 Б – контроль титра жизнеспособных клеток;  
 В – периодические пересевы культур.  
 Г – все утверждения верны

8. Мезофильные молочнокислые микроорганизмы развиваются при температуре, °С  
 А – 10-15  
 Б – 20-30  
 В – 40-45  
 Г – 45-50

9. Бифидобактерии это  
 А – негативная микрофлора молока;  
 Б – активные продуценты спиртового брожения  
 В – облигатная и доминирующая часть микрофлоры кишечника здорового человека;  
 Г – микрофлора, развивающаяся на поверхности молока в виде пленки

10. Продуцентами какого брожения являются дрожжи  
 А – молочнокислого  
 Б – спиртового  
 В – уксуснокислого  
 Г – пропионовокислого

11. Допустимые уровни содержания микроорганизмов в сыром молоке КОЕ/см<sup>3</sup>  
 А –  $1 \times 10^3$   
 Б –  $1 \times 10^5$   
 В –  $1 \times 10^7$   
 Г –  $1 \times 10^9$

12. Дрожжи используют в молочной промышленности для

- А – кефира
- Б – кумыса
- В – айрана
- Г – все ответы верны

13. Активная производственная закваска должна иметь следующие характеристики:

- А – максимальное количество жизнеспособных клеток;
- Б – отсутствие любых загрязнителей (коли-форм, дрожжей, плесеней);
- В – сохранение активности при культивировании в молоке в процессе производства продуктов и при промежуточных пересевах.
- Г – все ответы верны

14. При какой температуре происходит сублимационная сушка, °С

- А – -15-17
- Б – -60-65
- В – -100
- Г – -180

15. Бактериофаги это

- А – вирусы бактерий
- Б – дрожжевые грибы
- В – плесени
- Г – молочнокислые бактерии

16. Оптимум для образования нитрозопигмента в колбасах составляет

- А – 6,0-6,5
- Б – 5,0-5,8
- В – 5,4-5,5
- Г – 6,5-7,0

17. Бифидобактерии сквашивают молоко за

- А – 24 часа
- Б – 10 часов
- В – 4 часа
- Г – не сквашивают

18. Термостатирование мясных консервов проводят

- А – 37°С в течение 10 суток
- Б – 30°С в течение 10 суток
- В – 40°С в течение 7 суток
- Г – 42°С в течение 7 суток

19. Допустимое количество МАФАНМ в охлажденной и мороженой рыбе составляет, КОЕ/г

- А –  $5 \times 10^4$
- Б –  $7 \times 10^3$
- В –  $5 \times 10^3$
- Г –  $3 \times 10^4$

20. При концентрации растворимых веществ в среде более 2% вода из клетки переходит

- А – в окружающую среду
- Б – в другую клетку
- В – остается в этой клетке
- Г – испаряется

21. При консервировании продуктов сахаром или солью происходит следующее воздействие на микроорганизмы

- А – питание и размножение
- Б – обезвоживание и сморщивание
- В – дыхание и размножение
- Г – передвижение и питание

22. Для большинства микроорганизмов оптимальная температура развития находится в пределах

- А –  $0-5^{\circ}\text{C}$
- Б –  $5-15^{\circ}\text{C}$
- В –  $25-35^{\circ}\text{C}$
- Г –  $35-37^{\circ}\text{C}$

23. Метод стерилизации протекает при,  $^{\circ}\text{C}$

- А –  $30-60^{\circ}\text{C}$
- Б –  $60-90^{\circ}\text{C}$
- В –  $90-100^{\circ}\text{C}$
- Г –  $100-120^{\circ}\text{C}$

24. Повышенная влажность способствует

- А – повышению скорости размножения микробов
- Б – повышению скорости передвижения микробов
- В – увеличению количества растворимых питательных веществ
- Г – повышению скорости дыхания микробов

25. Какие признаки говорят о порче свежего мяса

- А – изменение цвета и запаха
- Б – появление слизи
- В – появление липкой поверхности
- Г – все ответы верны

26. Бактерицидная фаза молока – это

- А – период времени, в течении которого выдаивается молоко
- Б – период времени, в течении которого молоко находится в вымени
- В – период времени, в течении которого сохраняются антимикробные свойства молока
- Г – период времени до стерилизации

27. Какие микроорганизмы не относятся к энтеробактериям

- А – кишечная палочка
- Б – цитробактер
- В – молочнокислая микрофлора
- Г – сальмонелла

28. При ферментации молока при производстве молочнокислых продуктов протекает процесс

- А – свертывания
- Б – брожения
- В – окисления
- Г – скисания

29. Чем определяется качественный состав микрофлоры рыбы?

- А – видовой принадлежностью
- Б – возрастом рыбы
- В – составом микрофлоры воды
- Г – количеством и размерами чешуек

30. Температура охлажденной рыбы, °С

- А – +5...0
- Б – 0...-5
- В – -5...-7
- Г – -7...-8

31. Свежесть яиц оценивается

- А – по размеру воздушной камеры
- Б – по цвету скорлупы
- В – по размеру
- Г – по характерным вкраплениям

32. Оптимальные параметры влажности для развития плесени, %

- А – 15-20
- Б – 30-40
- В – 50-80
- Г – 85-90

33. Маслянокислые бактерии при своем развитии в сырах вызывают

- А – вызывают появление слизи на поверхности продукта;

- Б – способствуют появлению рисунка сыра;  
 В – вызывают газообразование и появление горького привкуса;  
 Г – улучшают вкус и запах

34. Ботулизм баночных консервов появляется

- А- из-за малого содержания сахара  
 Б- из-за малого содержания консервантов  
 В- из-за малого содержания соли  
 Г- из-за недостаточности стерилизации

35. Стерилизация мясных консервов проводится при температуре, ОС

- А – 112-120  
 Б – 100-110  
 В – 120-130  
 Г – 130-140

### Ключи к тестовым заданиям

№ вопроса	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Правильный ответ	Г	Г	А	Г	Б	Г	Г	Б	В	Б

№ вопроса	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Правильный ответ	Б	Г	Г	А	А	В	Г	А	А	А

№ вопроса	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Правильный ответ	Б	В	Г	В	Г	В	В	Б	В	Г

№ вопроса	31	32	33	34	35
Правильный ответ	А	Г	В	Г	А

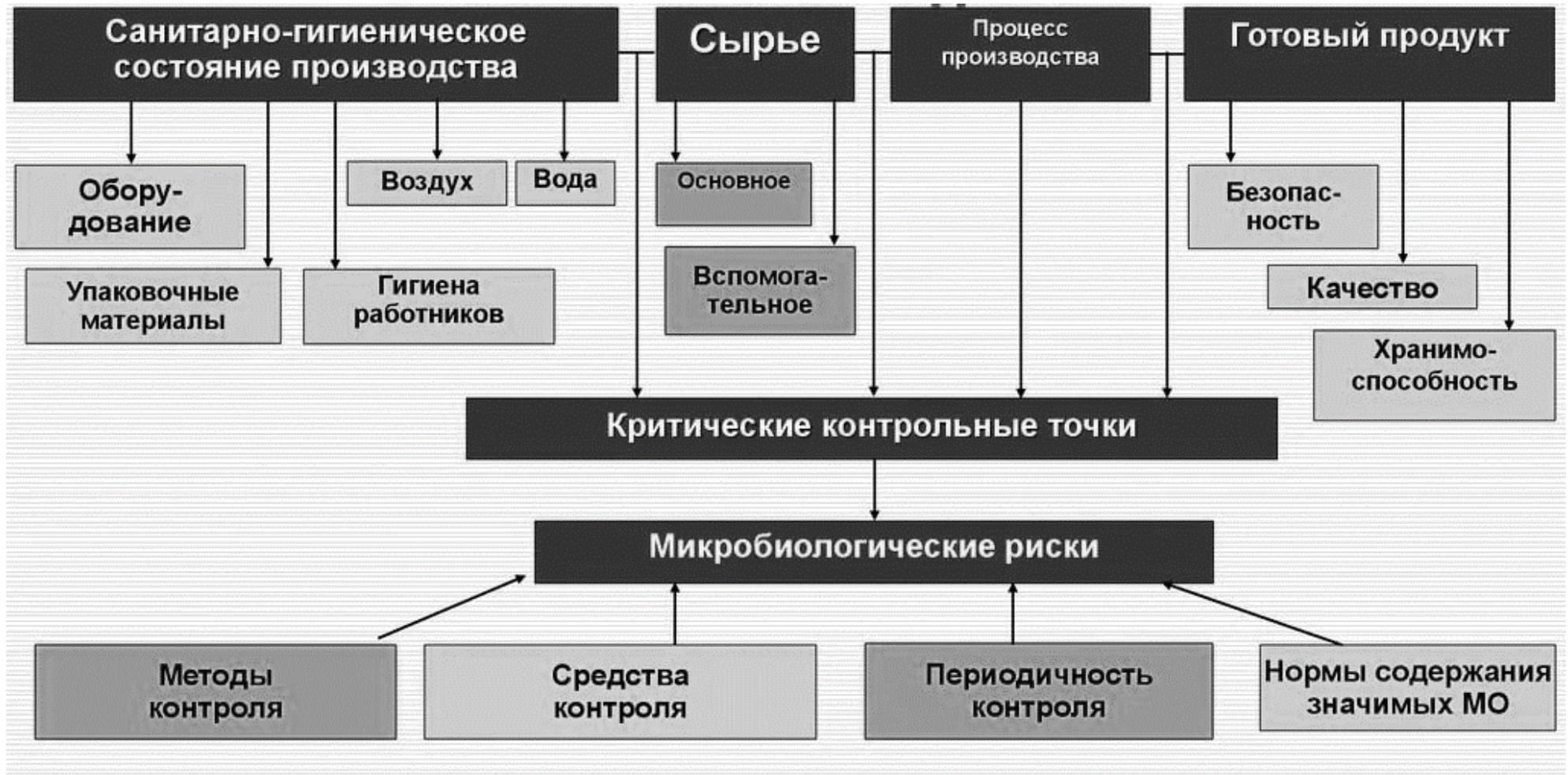
### Использованная литература

1. СанПиН 2.3.2.1078-01 "Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов" (с изменениями на 6 июля 2011 года)
2. СанПиН 2.3.2. 2804-10 Дополнения и изменения № 22 к СанПиН 2.3.2.1078-01
3. МР 2.3.2.2327-08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов)
4. Порядок санитарно-микробиологического контроля при производстве мяса и мясных продуктов". М., 1996 г. (Отраслевой нормативный документ)
5. Асонов Н. Р. Микробиология. - М.: Колос, 2000.
6. Барштейн В.Ю., Круподерова Т.А.; Гармаш С.Н. Биоконверсия отходов агропромышленного комплекса.- монография;Новосибирск: Изд.АНС«СибАК», 2016. — 88 с.
7. Воробьева Л.И. Пропионовокислые бактерии- Изд.МГУ, 1995.
8. Воробьева Л.И. Археи. М.:ИКЦ «Академкнига», 2007.- 447 с
9. Ганина В.И, Королева Н.С., Фильчакова С.А. Техническая микробиология продуктов животного происхождения: Учебное пособие.- М.:ДеЛи принт, 2008.- 352 с.
- 10.Глазко В.И. Экология XXI (словарь терминов) М.: КУРС, НИЦ ИНФРА-М, 2016. - 992 с
- 11.Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. Под редакцией С.А. Гудкова.- М.:ДеЛи принт, 2003.- 800 с.
- 12.Джей Д.М., Лесснер М.Д., Гольден Д.А. Современная пищевая микробиология.- М.: «БИНОМ. Лаборатория знаний», 2012, 886 с.

13. Жарикова Г.Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена.- М.: Издательский центр «Академия», 2008.- 304 с.
14. Еремина И.А. Микробиология молока и молочных продуктов: Учебное пособие. – Кемерово, 2004. – 80 с.
15. Методы общей бактериологии. Т. 1, 2, 3. / Под ред. Ф. Герхардта и др. – М.: Мир, 1984.
16. Меркулова Н.Г, Меркулов М.Ю., Меркулов И.Ю. Производственный контроль в молочной промышленности. Практическое руководство.- СПб.: Издательство «Профессия», 2009.-656 с.
17. Оноприйко А.А, Храмцов А.Г., Оноприйко В.А. Технология молочных продуктов мини-производств.-М.: Изд-во «Март», 2004, 411 с.
18. Определитель бактерий Берджи, 9-е изд. В 2-х т. (Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса/ Пер. с англ. под ред. Акад. РАН Г.А. Заварзина.- М.: Мир, 1997.Т.1: - 432 с, Т.2:-368 с.
19. Прогностическая микробиология Информационный портал о пищевом производстве [Электронный ресурс] <https://baker-group.net/bread-and-bakery-products/7852-predictive-microbiology.html>
20. Савелькина Н.А. Биохимия и микробиология мяса и мясных продуктов: курс лекций. В 2-х ч. 4.2 Микробиология мяса и мясных продуктов. — Брянск: Мичуринский филиал ФГБОУ ВО Брянский ГАУ, 2015. —46 с.
21. Сидоренко О.Д., Жукова Е.В., Пастух О.Н. Микробиологический контроль продуктов животноводства.- М.-МСХА, 2002.- 219 с.
22. Сидоренко О.Д. Лабораторный практикум по микробиологии.- М. МСХА, 1999.-120 с.
23. Сидоренко О.Д., Жукова Е.В. Микробиологические основы заквасок молока. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017.- 129 с.
24. Сидоренко О.Д. Микробиологические основы природной закваски молока. М.:ИНФРА-М, 2019. - 190 с.
25. Сидоренко О.Д. Биоконверсия вторичных продуктов агропромышленного комплекса. М.:ИНФРА-М, 2019.- 296 с.

26. Сидоров М.А., Билетова Н.В., Корнелаева Р.П. Микробиология мяса, мясопродуктов и птицепродуктов.- М.: Агропромиздат, 1986.- 288 с.
27. Сидоров М. А., Нецепляев С. В., Корнелаева Р. П. Лабораторный практикум по микробиологии мяса и мясопродуктов.- М.: Колос, 1996. — 127 с: ил.
28. Стейниер Р., Эдельберг Э., Дж. Ингрэм. Мир микробов. Т. 1, 2, 3. – М.: Мир, 1979.
29. Степаненко П.П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов. – М.: ИД «Лира», 2005. – 652с.
30. Теппер Е. З. И др. Практикум по микробиологии. – М.: Колос, 1979.
31. Фильчакова С.А. Санитария и гигиена на предприятиях молочной промышленности.- М.: ДеЛи принт.2008.-276 с.
32. Химия во всех направлениях – Химический портал [Электронный ресурс] [http://chemport.ru/data/chemipedia/article\\_2186.html](http://chemport.ru/data/chemipedia/article_2186.html)
33. Шлейкина А.Г. Основы биоконверсии: Учеб.-метод. пособие.– СПб.: Университет ИТМО, 2015. –57с.
34. Шуварики А.С., Лисенков А.А. Технология хранения, переработки и стандартизации продукции животноводства.- М.: ФГОУ ВПО РГАУ-МСХА им.К.А.Тимирязева, 2008.- 608 с.
35. Экологическая биотехнология. Под ред. К. Форстера. – Л.: Химия, 1990.– 383 с.

## Приложение 1



Общая схема микробиологического контроля производства продуктов животного происхождения

## Приложение 2

**Микробиологические показатели санитарно-гигиенического  
состояния контролируемых объектов, сгруппированных по назначению**

Объект контроля	Микробиологические показатели		
	БГКП	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup>
Оборудование и инвентарь	отсутствие	$\leq 100$	.*
Тара и упаковка	отсутствие	$\leq 100$	-
Упаковочные материалы	отсутствие	$\leq 100$	От 0 до 5
Деревянное оборудование	отсутствие	-	отсутствие
Руки работников	отсутствие	-	-
* - показатель при нормальном контроле не определяется			

## Терминологический словарь

**Абиоз** — прекращение жизнедеятельности микроорганизмов в продуктах (высокотемпературная обработка, применение лучистой энергии, токов высокой и сверхвысокой частоты, антибиотиков и др.). Один из основных способов консервирования продуктов, основанный на полном уничтожении микроорганизмов

**Автолиз мяса** — процесс самопроизвольного изменения химического состава, структуры и свойств мясного сырья после убоя животного под воздействием собственных ферментов мяса.

**Айран**- продукт кисломолочный, изготовленный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения, с использованием заквасочных микроорганизмов- термофильных молочнокислых стрептококков, болгарской палочки и дрожжей, с последующим добавлением или без добавления воды.

**Актиномицеты**— грибы лучистые, порядок микроорганизмов, сходных по строению с грибами и бактериями. Актиномицеты характеризуются нитевидным, палочковидным или коккоподобным строением, наличием боковых выростов. Развиваются в аэробных и анаэробных условиях, широко распространены в природе и участвуют в различных почвенных процессах (аммонификации, разложения перегноя и др.) Многие актиномицеты продуцируют антибиотики, витамины и другие биологич. активные вещества.)

**Аминокислоты** - составные части белков, характеризующие состояние белкового обмена в организме. Из 80 известных аминокислот в пищевых продуктах для человека существенную роль играют около 25, причем 8 из них не синтезируются в организме человека являются незаменимыми. Дефицит любой из незаменимых аминокислот в рационе ведет к нарушению синтеза белков человека.

**Аммонификация** - разложение микроорганизмами различных азотсодержащих органических соединений с выделением аммиака. Этот процесс обычно протекает с участием различных ферментов.

**Анабиоз** – временное, почти полное, но обратимое прекращение или резкое замедление жизненных процессов в организме. Одно из приспособлений к неблагоприятным условиям среды. Используют для длительной консервации и сохранения методом замораживания органов, тканей, микроорганизмов и изготовления сухих живых вакцин.

**Анаэробы** - организмы, способные жить и развиваться в бескислородной среде. Различают анаэробы облигатные (обязательные), развивающиеся только при полном или почти полном отсутствии кислорода, и анаэробы факультативные (условные), способные размножаться как в присутствии кислорода, так и без него (дрожжи, энтеробактерии).

**Антибиотики** - специфические вещества жизнедеятельности ряда микроорганизмов (бактерий, актиномицетов, плесневых грибов), растений или животных тканей, угнетающие рост и размножение многих микробов и даже губительно действующие на единичные из них.

**Ацидофилин** – продукт кисломолочный, произведенный с использованием в равных соотношениях заквасочных микроорганизмов - ацидофильной молочнокислой палочки, лактококков и закваски, приготовленной на кефирных грибах.

**Аэробы** – организмы (почти все животные, растения и большинство микроорганизмов), для жизнедеятельности которых нужен свободный кислород. Облигатные (безусловные) аэробы аэрофилы используют энергию только от реакции окисления, например, микобактерии туберкулеза, бациллы, культурированные аэробы, или условные аэробы, используют энергию брожения, поэтому могут жить при больших и ничтожных количествах кислорода (например, бруцеллы, листерии).

**Бактериофаг** – вирус, вызывающий разрушение бактерий бактерией. Взаимодействие Б. и микробных клеток — сложный биологический процесс, исход которого зависит главным образом от свойств фагов и проявляется лизисом бактериальных клеток или лизогенизацией культур.

**Бактерия** - группа одноклеточных микроорганизмов, составляющих царство прокариот (Procarvotaе). По морфологическим формам бактерии подразделяются на следующие группы — кокки, бактерии, бациллы, клостридии, вибрионы, спириллы и спирохеты. Для бактерий характерно отсутствие мембраны между цитоплазмой и нуклеоплазмой. Бактерии размножаются обычно простым делением.

**Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)** – беспоровые, грамтрицательные, каталазоположительные аэробные и факультативно-анаэробные палочки, сбразивающие лактозу с образованием кислоты и газа.

**Бактерицидность** - способность различных физических, химических и биологических факторов вызывать гибель бактерий. Временное прекращение или замедление размножения бактерий называется бактериостазом.

**Бактофугирование** – процесс удаления из сырого молока микроорганизмов под действием центробежной силы.

**Безопасность пищевого продукта** – состояние обоснованной уверенности в том, что пищевые продукты при обычных условиях их использования не являются вредными и не представляют опасности для здоровья нынешнего и будущего поколений.

**Биопродукт** – продукт переработки молока, изготовленный с использованием заквасочных микроорганизмов и с добавлением в процессе сквашивания или после него живых пробиотических культур (пробиотиков) и (или) пребиотиков; термическая обработка готового продукта не допускается.

**Биота**–совокупность всех организмов.

**Биотехнология** - комплекс естественных или искусственно созданных технологических приемов для создания биологических систем или использования в промышленных научных целях. Биотехнология находит применение в энергетике, сельском хозяйстве, химической промышленности, медицине, ветеринарии и т.д.

**Бифидобактерии** - микробы кишечника человека и животных, входящие в сем. Actinomycetaceae, грамположительные, неподвижные, часто вет-

вящиеся, анаэробные, полиморфные палочки, спор не образуют. Бифидобактерии непатогенные, участвуют в расщеплении углеводов, образовании витамина В<sub>12</sub> и, возможно, витамина С; являются антагонистами гнилостных и патогенных микробов в кишечнике. Б. используют для производства лечебных препаратов, применяемым при дисбактериозах и диспепсии.

**Брожение** – биологический процесс расщепления сложных биологических веществ.

**Валеология** (от одного из значений лат. valeo — «быть здоровым») — «общая теория здоровья», претендующая на интегральный подход к физическому, нравственному и духовному здоровью человека.

**Верификация** – контроль качества продуктов питания, который включает методы, процедуры и тесты, используемые для определения системы анализа угроз и критических контрольных точек.

**Ветеринарная микробиология** – часть специальной микробиологии, изучающая возбудителей инфекционных болезней животных.

**Вид контроля** – классификационная группировка контроля по определенному признаку.

**Влажность** – характеристика текстуры, описывающая восприятие количества поглащенной или выделяемой продуктом влаги.

**Вторичное молочное сырье** – побочные продукты переработки молока (обрат, сыворотка, пахта).

**Гетероферментативное брожение** – процесс, обусловленный жизнедеятельностью микроорганизмов в питательных субстратах, при котором из глюкозы помимо молочной кислоты образуются и другие продукты, например, уксусная кислота, этиловый спирт, углекислый газ и т.п.

**Гидробионт** -организм, в ходе эволюции приспособленный к обитанию в водной среде. Гидробионты являются одним из важнейших источников незаменимых для человека питательных веществ, таких как полноценный белок, легкоусвояемые жиры, витамины и минеральные вещества. Промышленное значение имеют: икра, кальмары, крабы и некоторые другие.

**Гликолиз** – процесс расщепления глюкозы до молочной кислоты в количестве не менее 50%.

**Гликолиз мяса** — процесс анаэробного (без доступа кислорода) расщепления глюкозы до молочной кислоты. Процесс гликолиза в мясе связан с образованием в мышечной ткани ряда кислот. По мере накопления молочной кислоты изменяется состояние коллоидов мышечных волокон, в них исчезает продольная волокнистость, а поперечная становится явно заметной, вследствие чего мясо по завершении гликолиза становится более нежным.

**Гниение** - анаэробное разложение органических веществ, вызываемое микроорганизмами. Оно сопровождается выделением метана, сероводорода, диоксида углерода, аммиака и ряда других газов.

**Гнилостные бактерии** – возбудители порчи продуктов животного происхождения, связанной с протеолизом (распадом белков).

**Гомоферментативное брожение** - сбраживание глюкозы до молочной кислоты (на 95%) с образованием незначительного количества других продуктов.

**Гомогенизация** – процесс обработки, обеспечивающий дробление дисперсной фазы.

**Дегидротация**- обезвоживание, или выделение воды из продукта.

**Деградация**, регрессия — процесс ухудшения характеристик какого-либо объекта или явления с течением времени, постепенное ухудшение, упадок, снижение качества

**Деструкция**, деконструкция (от лат. destructio, deconstructio) — разложение, разрушение (в большинстве случаев противоположное или отрицательное от конструкция)

**Дефростация** - процесс размораживания (оттаивания) продуктов питания перед употреблением в пищу или выработкой из них новых изделий. Обычно замороженные продукты хранятся при температурах: замороженные продукты —  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , продукты глубокой заморозки —  $-26\dots-36\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Дисбактериоз** – изменение нормальной микрофлоры организма, в частности в кишечнике, характеризующееся уменьшением количества или полным исчезновением типичных для данной области микробов и появлением атипичных форм бактерий, неспособных выполнять функцию биологического барьера. При дисбактериозе нарушена деятельность нормальной микрофлоры кишок – ее антагонистическая активность к патогенным микроорганизмам, витаминизирующая функция, понижена резистентность организма.

**Жирность** – характеристика текстуры, описывающая восприятие количества или качества жировых веществ, содержащихся в продукте.

**Закваска** – микроорганизмы и (или) ассоциации микроорганизмов, специально подобранные, непатогенные, нетоксичные, преимущественно молочнокислых, используемых при изготовлении продуктов переработки молока или колбасных изделий.

**Идентификация** - определение видовой или типовой принадлежности, заключительный этап исследований.

**Иммунитет** - способность организма защищать себя от веществ как инфекционной, так и неинфекционной природы, несущих для него чужую генетическую информацию, с целью сохранения необходимого для существования гомеостаза.

**Ингибирующие вещества** – вещества различной химической природы, оказывающие подавляющее действие на определенные процессы, например, на развитие микроорганизмов, в том числе заквасочных.

**Индикаторы безопасности продуктов** – использование микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности (колиформные бактерии, энтерококки и др.) для оценки продуктов питания.

**Инфекция** – явление, специфичной сущностью которого является внедрение и размножение инфекционного агента в макроорганизме с последующим развитием различных форм их взаимодействия – от носительства возбудителя до выраженного проявления болезни.

**Йогурт** – кисломолочный продукт с повышенным содержанием сухих обезжиренных веществ молока, изготавливаемый с использованием смеси заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской молочнокислой палочки.

**Замораживание** — отвод теплоты от продуктов с понижением температуры ниже криоскопической при кристаллизации большей части воды, содержащейся в продукте. Это предопределяет стойкость продуктов при длительном холодильном хранении.

**Каталаза** – фермент, расщепляющий пероксид водорода на воду и свободный кислород.

**Кефир** – продукт кисломолочный смешанного молочнокислого и спиртового брожения, изготовленный с использованием закваски, приготовленной на кефирных грибках, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей.

**Кислосливочное масло** - сливочное масло, изготовленное из пастеризованных сливок с использованием молочнокислых микроорганизмов.

**Кокки** - бактерии шарообразные факультативные анаэробные, редко подвижные, не образующие спор. В зависимости от расположений клеток после деления подразделяются: на микрококки — по одной, диплококки — парами, стрептококки — цепочками, тетракокки - по четыре, стафилококки — гроздьями. Относятся к грамположительным микроорганизмам.

**Колбаса** — пищевой продукт, вид колбасных изделий, представляющий собой фарш (как правило, мясной) в продолговатой оболочке. Может содержать один или несколько видов мяса.

**Коли-титр** величина, выражающая наименьшее кол-во исследуемого материала в миллилитрах (для твердых тел в граммах), в котором обнаружена одна кишечная палочка, Для определения титра кишечной палочки исследуемый субстрат отдельно в уменьшающихся объемах засевают на жидкие (реже — на плотные) среды. Коли-титр используют как показатель фекального загрязнения воды, молока и других пищевых продуктов.

**Колония бактериальная** – изолированное скопление клеток бактерий одного вида, сформированное на поверхности или внутри плотных или полужидких питательных сред в результате размножения одной или нескольких бактериальных клеток. Внешний вид и строение колоний часто имеют свои особенности и могут служить ориентировочным признаком для их идентификации.

**Консервирование** — способ изготовления консервов, заключается в технической обработке продуктов питания для угнетения жизнедеятельности портящих продукты микроорганизмов. В широком смысле под консервированием подразумевается любой процесс, значительно удлиняющий сохранность продуктов в пригодном для употребления виде.

**Консорциум** — организационная форма временного объединения объектов с целью улучшения их деятельности.

**Контроль качества продукции** – контроль количественных или качественных характеристик продукции.

**Копчение** - вид тепловой обработки продуктов, придающее аромат и оказывающее консервирующее действие. Продукты, подвергнутые копчению, пропитываются бактериостатическими веществами коптильного дыма и частично обезвоживаются, благодаря чему срок хранения их многократно увеличивается. К веществам, придающим копченым продуктам особый вкус и аромат, относятся фенолы и их производные, а также некоторые фракции альдегидов и смолистых веществ, муравьиная и уксусная кислоты.

**Критическая контрольная точка (ККТ)** – стадия, на которой возможно осуществление контроля и которая имеет решающее значение для предотвращения или устранения опасного фактора или же уменьшения его до приемлемого уровня.

**Критический лимит** – одно из самых предписанных допустимых отклонений, которые должны приниматься во внимание при определении эффективности контроля микробиологической опасности для здоровья.

**Культура** – совокупность бактерий в (на) питательных средах, выращенных из единичной колонии бактериальной клетки.

**Кумыс** – кисломолочный продукт смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения, изготовленный сквашиванием кобыльего молока заквасочными микроорганизмами болгарской и ацидофильной молочнокислых палочек и дрожжей.

**Лизис микроорганизмов** – растворение микроорганизмов под влиянием специфических бактериолизин, бактериофагов, лизоцима, антибиотиков и др. средств.

**Маслянокислые бактерии** – возбудители маслянокислого брожения, в ходе которого происходит распад углеводов, высших спиртов и лактатов с образованием масляной кислоты.

**Метаболизм** – основной обмен веществ, совокупность химических превращений, происходящих в живом организме, состоящих из ассимиляционной (анаболизм) и диссимиляционной (катаболизм) фаз.

**Микроаэрофилы** - микроорганизмы, которые растут при пониженном парциальном давлении кислорода, но не являются строгими анаэробами (актиномицеты, лактобациллы и др.) Высокая концентрация кислорода не убивает микроаэрофилов, но задерживает их рост.

**Микробиологический контроль** – контроль, позволяющий обнаруживать загрязнители микробиологической природы в сырье, материалах, полуфабрикатах на различных стадиях производственного процесса, а также на технологическом оборудовании или в окружающей среде (воде, воздухе) и устанавливать их источник.

**Микроскопирование** – изучение морфологии и строения клеток микроорганизмов с помощью микроскопа.

**Мутация**, мутационная изменчивость (лат. *mutation* перемена, изменение) – наследуемые изменения гена или генов, контролирующих определенные наследственные признаки. Мутации свойственны всем живым организмам – от вирусов до человека.

**Мясные полуфабрикаты** - изделия, подготовленные для кулинарной обработки. Основным сырьем для изготовления мясных полуфабрикатов служат мясо разных видов и субпродукте. Для приготовления отдельных полуфабрикатов используют муку, яйца, хлеб и специи.

**Органолептика** – область науки, изучающая свойства готовых продуктов, их промежуточных форм и ингредиентов, вызывающих реакцию органов чувств человека.

**Отбор образцов** – процедура, посредством которой от партии отбирается часть вещества, материала или продукции с целью проведения испытаний.

**Партия продукции** – совокупность единиц однородной продукции, изготовленных в течение определенного интервала времени по одной и той же технологической документации, одновременно предъявляемых на испытания и приемку, при оценке качества которых принимают одно общее решение.

**Пастеризация** - способ обеззараживания органических жидкостей путем нагревания их до 100°C (чаще 60—70°C) в течение 30 мин для разрушения вегетативных форм микробов с последующим охлаждением до 10°C; споры при этом не уничтожаются. Используют длительную пастеризацию (30 мин при +65°C), кратковременную (15—20 с при 72—75°C) и моментальную (при 8,5—90°C) без выдержки.

**Патогенность**- способность микробов вызывать инфекционный процесс у макроорганизмов определенного вида. Патогенность представляет сложный комплекс болезнетворных свойств микроорганизма, сформировавшийся в процессе борьбы за существование и приспособление к паразитированию в организмах растений, животных и человека. Патогенность является видовым признаком болезнетворных микроорганизмов, которые характеризуются специфичностью действия: каждый вид способен вызывать только определенную инфекционную болезнь.

**Пахта** – побочный продукт переработки молока, получаемый при производстве масла из коровьего молока.

**Питьевое молоко** – молоко, массовая доля жира в котором не более 9%, полученное из сырого молока, подвергнутое термической и другой обработке для регулирования его составных частей, без использования сухих продуктов.

**Покоящиеся формы бактерий**– длительное пребывание прокариотив метаболическом покое (анабиозе).

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**- определение видовой принадлежности бактерий и вирусов в продуктах питания. Метод отличается высокой чувствительностью, специфичностью и гибкостью.

**Посев** – внесение подготовленной к микробиологическому анализу пробы в стерильные питательные среды.

**Пребиотики** - это компоненты пищи, которые не перевариваются и не усваиваются в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, но ферментируются микрофлорой толстого кишечника человека и стимулируют её рост и жизнедеятельность

**Проба на брожение** – проверка молока на наличие микроорганизмов, вызывающих свертывание молока при определенных условиях.

**Пробиотики** – класс микроорганизмов и веществ микробного и иного происхождения, использующихся в терапевтических целях, а также пищевые продукты и биологически активные добавки, содержащие живые микрокультуры.

**Простокваша** – кисломолочный продукт, изготовленный с использованием заквасочных лактококков и (или) термофильных молочнокислых стрептококков.

**Протеолиз** – процесс расщепления белковых соединений до простых веществ (пептоны, пептиды, аминокислоты).

**Протеобактерии** – одни из важнейших бактерий в пищевых продуктах, принадлежащие к классу Proteobacteria, в который входят многочисленные

роды грамотрицательных бактерий, вызывающих порчу продуктов и являющихся возбудителями гастроэнтерита.

**Прионы** – уникальные белки, которые могут преобразовывать другие белки, вызывая изменение их форм.

**Рецептура** – документ предприятия, устанавливающий количество и качество компонентов, входящих в состав продукта.

**Ряженка** – кисломолочный продукт, изготовленный сквашиванием топленого молока заквасочными микроорганизмами термофильных молочнокислых стрептококков с добавлением или без добавления болгарской молочнокислой палочки.

**Санитарная микробиология** – часть специальной микробиологии, исследующая микрофлору окружающей среды с точки зрения возможного отрицательного или благоприятного воздействия находящихся в ней микроорганизмов на окружающую среду и здоровье человека.

**Санитарно-показательные микроорганизмы** – микроорганизмы, не вызывающие инфекционных заболеваний и токсикоинфекций, используемые для косвенной оценки микробиологической безопасности продукта.

**Свертывание** – процесс коагуляции белков в молоке или продуктах его переработки под воздействием молокосвертывающих ферментных препаратов, кислот или других веществ и факторов, способствующих коагуляции белка.

**Система контроля** – совокупность средств контроля, исполнителей и определенных объектов контроля, взаимодействующих по правилам, установленным соответствующей документацией.

**Сливки** – молочный продукт, изготовленный из молока и (или) молочных продуктов, представляющий собой эмульсию жира и молочной плазмы, с массовой долей жира не менее 9%.

**Сливочное масло** – масло из коровьего молока с массовой долей жира от 50 до 85% включительно.

**Смешанная культура** – совокупность бактерий двух или более видов.

**Созревание мяса** - процесс, который вызывают ферменты, в результате его мясо размягчается и в нем образуются вещества, улучшающие вкус и запах готовых изделий. Созревание обусловлено многочисленными биохимическими и коллоидными изменениями в мясе убойных животных.

**Срок годности** – период, по истечении которого пищевой продукт считается непригодным к употреблению по основному назначению.

**Срок хранения** – период, в течение которого пищевой продукт при соблюдении установленных условий хранения сохраняет все свои свойства, указанные в нормативной документацию.

**Стерилизация** – процесс термической обработки сырого молока или продуктов его переработки при температуре выше 100<sup>o</sup>C с выдержкой, обеспечивающей соответствие готового продукта переработки молока требованиям промышленной стерильности.

**Сушка** – процесс удаления воды из продукта для достижения значения массовой доли сухих веществ 90% и более.

**Сыворотка молочная** – ценное побочное сырье, жидкость, остающаяся после выделения белка и других составных частей сухого вещества молока при производстве творога, сыра, казеина.

**Термоустойчивые молочнокислые палочки** – технически вредная микрофлора, в результате жизнедеятельности которой происходит интенсивное кислотообразование, вызывающее пороки пищевых продуктов.

**Техническая микробиология** – часть специальной микробиологии, исследующая микроорганизмы, применяемые в производстве пищевых продуктов, воздействие антибиотиков, ферментов и других веществ микробного происхождения.

**Технически вредные микроорганизмы** – микроорганизмы, не влияющие на безопасность продукта, но влияющие на качество и вызывающие микробиологическую порчу продукта.

**Технологии препятствия или технологии барьера** – многоцелевой подход или приемы, предотвращающие прорастание и рост спор в продукте.

**Токсины** - вещества бактериального, растительного или животного происхождения, вызывающие при попадании в организм человека или животного заболевание или смерть, напр. токсин ботулинический, токсин столбнячный, токсин эшерихий и др.

**Токсигенность** – способность микроорганизмов вырабатывать микробные яды (эндотоксины и экзотоксины).

**Топленое молоко** – питьевое молоко, подвергнутое термической переработке при температуре 85-99<sup>o</sup>C с выдержкой не менее 3 часов для приобретения специфических цвета и запаха.

**Фазовые переходы** – изменение параметров состояния сгустка ферментируемого молока, характеризующих термодинамическое равновесие.

**Ферментируемые продукты** - продукты, требующие соответствующих стартовых культур или молочных заквасок и выдержки до достижения желаемой (требуемой) кислотности.

**Фосфатаза** – фермент, расщепляющий некоторые эфиры фосфорной кислоты до кислоты и спирта.

**Холодильное хранение** — это хранение продуктов после холодильной обработки при заданном режиме в камере. Под режимом холодильной обработки и хранения понимают совокупность параметров и условий, влияющих на их качество (температура, относительная влажность, скорость движения воздуха, состав среды, укладка, продолжительность процесса).

**Чистая культура** – микроорганизмы, происходящие из одного клона (единственной клетки).

**Штамм** – линия клеток одного вида бактерий, выделенных из разных источников или одного источника в разное время, отличающаяся от других штаммов некоторым свойством.

**Эндотоксины**- внутренние токсины, выделяющиеся в окружающую среду только после гибели микроорганизма. При попадании в организм вызывают повышение температуры, кишечные расстройства, рвоту. Выдерживают длительное кипячение и автоклавирование в течение 30 мин.

**Экзотоксины**- внешние токсины, выделяющиеся в окружающую среду в процессе жизнедеятельности микроорганизмов . Самые сильные природные токсины. При температуре 60-80<sup>0</sup>С разрушаются в течение 20-60 минут

**Энтерококки** – грамположительные, не образующие спор стрептококки, сбраживающие лактозу с образованием молочной кислоты; распространены в окружающей среде и фекалиях позвоночных.

**Эффект оттаивания** – микроорганизмы погибают не в результате замораживания, а в процессе оттаивания.

## Содержание

Введение

### **Глава 1. Микроорганизмы, качество и безопасность продуктов животного происхождения**

- 1.1 Качество и безопасность продовольственного сырья
- 1.2 Особенности взаимоотношений микроорганизмов в пищевых продуктах
- 1.3 Коллекции микроорганизмов
- 1.4 Таксономия и значение микроорганизмов пищевых продуктов
- 1.5 Предсказательная микробиология и индикаторные микроорганизмы
- 1.6 «Технология препятствия» или «технология барьера»

### **Глава 2. Микрофлора продуктов животного происхождения**

- 2.1 Микроорганизмы, используемые для ферментированных продуктов
- 2.2 Микроорганизмы – возбудители порчи (пороков) пищевых продуктов
- 2.3 Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы недоброкачественных продуктов питания

## 2.4 Санитарно-показательные микроорганизмы

### **Глава 3. Микробиология молока и молочных продуктов**

- 3.1 Требования, предъявляемые к молоку и микробиологический контроль сырья
- 3.2 Микрофлора сырого молока и сливок
- 3.3 Пороки сырого молока и сливок
- 3.4 Изменение микрофлоры молока при термической обработке (стерилизации, пастеризации)
- 3.5 Микрофлора заквасок
- 3.6 Микрофлора кисломолочных продуктов
- 3.7 Микробиология сливочного масла
- 3.8 Микробиология сыра
- 3.9 Микробиология молочных консервов и мороженого
- 3.10 Микробиология вторичного молочного сырья
- 3.11 Биоконверсия вторичного молочного сырья
- 3.12 Использование лактобактерий для коррекции нарушений микробиоты кишечника человека

### **Глава 4. Микробиологический контроль качества мяса**

- 4.1 Микрофлора мяса
- 4.2 Изменения в качестве мяса, происходящие после убоя и в процессе хранения
- 4.3 Микрофлора сырой рыбы и гидробионтов
- 4.4 Микрофлора яичепродуктов
- 4.5 Микрофлора мясных полуфабрикатов
- 4.6 Микрофлора стартовых культур, используемых в технологии мясных и рыбных продуктов
- 4.7 Микробиология колбас
- 4.8 Микробиология мясных консервов
- 4.9 Биоконверсия отходов мясной промышленности

