

**Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева**

А. В. К о з л о в, Д. В. С н е г и р е в

**Основы санитарной
и пищевой микробиологии**

Учебник для вузов

*Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций
у студентов и аспирантов вузов биологического и сельскохозяйственного
профиля, а также для работников научно-исследовательских учреждений
и специалистов-практиков*

Москва – 2023 г.

УДК 631.811.93 : 631.445.24 : 631.412

ББК 40.3

К 59

Авторы:

Козлов Андрей Владимирович – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Снегирев Дмитрий Владимирович – старший преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Рецензенты:

Ватников Юрий Анатольевич – доктор ветеринарных наук, профессор, директор Департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (г. Москва)

Романова Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологии, экологии, паразитологии, водных биоресурсов и аквакультуры Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина (г. Ульяновск)

Мосина Людмила Владимировна – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры экологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (г. Москва)

К 59 **Козлов А.В., Снегирев Д.В.**

Основы санитарной и пищевой микробиологии: учебник для вузов / А.В. Козлов, Д.В. Снегирев. – М.: Плодородие, 2023. – 336 с.
ISBN 978-5-6046665-6-2

Настоящий учебник обобщает теоретическую, методологическую и практическую информацию, необходимую для всестороннего и системного представления о микробиологических исследованиях в области санитарии и пищевой промышленности. В издании рассматриваются основы санитарной и пищевой микробиологии, дается понятие о методах санитарно-микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов, уточняются критерии развития микроорганизмов в пищевых продуктах, сырье и полуфабрикатах, а также рассматриваются методы предохранения пищевых продуктов от микробиологической порчи, конкретизируются аспекты микробиологического контроля и санитарно-микробиологического исследования факторов окружающей среды (воздух, вода, почва) и пищевой продукции (молоко и молочные продукты, мясо и мясные продукты, плодоовощная продукция и др.). В конце каждой главы приводятся вопросы для самоконтроля и проверки знаний студентов. Теоретические вопросы иллюстрируются примерами и пояснениями. Учебник соответствует требованиям федеральных государственных образовательных стандартов высшего образования и предназначен для студентов, обучающихся по направлениям подготовки 19.03.02 – Продукты питания из растительного сырья, 19.03.03 – Продукты питания животного происхождения, 36.03.01 – Ветеринарно-санитарная экспертиза, 06.03.01 – Биология, 05.03.06 – Экология и природопользование, 19.03.01 – Биотехнология, 35.03.03 – Агрохимия и агропочвоведение.

УДК 631.811.93 : 631.445.24 : 631.412

ББК 40.3

ISBN 978-5-6046665-6-2

© Козлов А.В., Снегирев Д.В., 2023

© ООО «Плодородие», 2023

О Г Л А В Л Е Н И Е

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ (предисловие)	8
РАЗДЕЛ 1. ОСНОВЫ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ. МЕТОДЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	11
Глава 1. Предмет, история и задачи пищевой микробиологии	11
1.1. Микроорганизмы и их роль в природе	11
1.1.1. Понятие и общая характеристика микроорганизмов	11
1.1.2. Типология микроорганизмов	16
1.2. История становления и развития микробиологии как науки	20
1.3. Российская школа микробиологи в лицах	25
1.4. Предмет, задачи и направления исследований в эволюции пищевой микробиологии	28
Вопросы для самоконтроля	32
Глава 2. Принципы и методы санитарно-микробиологического исследования	33
2.1. Понятие и цели санитарно-микробиологического исследования (vs микробиологическая экспертиза)	33
2.2. Принципы санитарно-микробиологического исследования	36
2.3. Методы санитарно-микробиологического исследования	41
2.3.1. Определение общего микробного числа (ОМЧ)	42
2.3.2. Количественный учет санитарно-показательных микроорганизмов	45
Вопросы для самоконтроля	48
Глава 3. Санитарно-показательные микроорганизмы: понятие, группы, виды	49
3.1. Понятие, требования и признаки санитарно-показательного микроорганизма	49
3.2. Группы санитарно-показательных микроорганизмов	52
3.3. Санитарно-показательные микроорганизмы, определяемые в объектах окружающей среды	54
3.3.1. Бактерии рода <i>Enterococcus</i>	54
3.3.2. Бактерий рода <i>Proteus</i>	56
3.3.3. Сульфитредуцирующие клостридии	57
3.3.4. Термофилы	58
3.3.5. Стафилококки	59
3.3.6. Стрептококки	61
Вопросы для самоконтроля	63
Глава 4. Источники и пути контаминации пищевой продукции патогенными микроорганизмами	64
4.1. Понятие и классификация контаминации пищевой продукции	64
4.2. Источники контаминации пищевой продукции	68
4.2.1. Молоко и молочные продукты	69
4.2.2. Мясо и мясные продукты	70
4.2.3. Растительные продукты	73
4.2.4. Рыба и морепродукты	76
4.2.5. Соки и напитки	76
4.3. Индикаторы бактериальных патогенов: санитарно-показательные микроорганизмы	77
Вопросы для самоконтроля	80

РАЗДЕЛ 2. КРИТЕРИИ РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ. МЕТОДЫ ПРЕДОХРАНЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ОТ МИКРОБИОТНОЙ ПОРЧИ	81
Глава 5. Свойства пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов	81
5.1. Классификация микроорганизмов пищевых продуктов	81
5.1.1. Бактерии, встречающиеся в пищевых продуктах	83
5.1.2. Плесневые грибы, встречающиеся в пищевых продуктах	85
5.1.3. Основные роды дрожжей, встречающихся в пищевых продуктах	89
5.2. Внутренние параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов	91
5.3. Внешние параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов	96
Вопросы для самоконтроля	100
Глава 6. Способы производства и хранения пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов	101
6.1. Понятие, причины и особенности микробиологической порчи пищевых продуктов	101
6.1.1. Молоко и молочные продукты	102
6.1.2. Яйца и яйцепродукты	103
6.1.3. Мясо и мясные продукты	105
6.1.4. Растительные продукты: овощи и фрукты	106
6.1.5. Рыба и морепродукты	109
6.2. Методы обеспечения безопасности пищевых продуктов при их производстве и хранении: традиционные способы	110
6.2.1. Физические методы консервирования пищевых продуктов	111
6.2.2. Физико-химические методы консервирования пищевых продуктов	113
6.2.3. Биохимические методы консервирования пищевых продуктов	115
6.2.4. Химические и комбинированные методы консервирования пищевых продуктов	115
6.3. Перспективные подходы для борьбы с микробной порчей продуктов	117
6.3.1. Бактериоцины – натуральный пищевой консервант	117
6.3.2. Бактериофаги и их ферменты	118
6.3.4. Эфирные масла	121
Вопросы для самоконтроля	122
РАЗДЕЛ 3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ	123
Глава 7. Дезинфекционная деятельность в пищевой промышленности	123
7.1. Санитарно-гигиенические требования к предприятиям пищевой промышленности	123
7.2. Понятие и виды дезинфекционной деятельности на пищевом производстве; пест-контроль	125
7.3. Направления дезинфекционной деятельности на пищевом производстве	129
7.3.1. Дезинфекция	129
7.3.2. Дезинсекция	133
7.3.3. Дератизация	136

7.4. Правила личной гигиены работников предприятий пищевой промышленности	138
Вопросы для самоконтроля	143
Глава 8. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха	144
8.1. Микрофлора воздуха: источники и состав	144
8.2. Методы исследования микрофлоры воздуха помещений	147
8.2.1. Метод определения общей микробной обсемененности воздуха по Коху (метод оседания)	149
8.2.2. Метод определения общей микробной обсемененности воздуха аппаратом Кротова (метод засасывания)	151
8.2.3. Другие приборы определения общей микробной обсемененности воздуха аспирационным методом	153
8.3. Способы очистки и обеззараживания воздуха	156
8.3.1. Физические способы очистки и обеззараживания воздуха: применение бактериальных фильтров	157
8.3.2. УФ-излучение как способ очистки и обеззараживания воздуха	158
8.3.3. Химические способы очистки и обеззараживания воздуха: воздействие аэрозолями дезинфицирующих средств	160
8.3.4. Озонирование как способ очистки и обеззараживания воздуха	161
Вопросы для самоконтроля	162
Глава 9. Санитарно-микробиологическое исследование воды	163
9.1. Микрофлора воды: источники и состав	163
9.2. Методы и процедура оценки санитарно-бактериологического состояния питьевой воды и воды из естественных водоемов	169
9.3. Способы очистки и обеззараживания воды	176
9.3.1. Химические способы очистки и обеззараживания воды	178
9.3.2. Механические способы очистки и обеззараживания воды	178
9.3.3. Комбинированные и комплексные способы очистки и обеззараживания воды	186
Вопросы для самоконтроля	188
Глава 10. Санитарно-микробиологическое исследование почвы	189
10.1. Микрофлора почвы	189
10.2. Процедура микробиологического исследования почвы как источника контаминации пищевых продуктов	193
10.3. Способы очистки и обеззараживания почвы	196
Вопросы для самоконтроля	204
РАЗДЕЛ 4. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ	205
Глава 11. Кишечные инфекционные заболевания и отравления при употреблении недоброкачественных пищевых продуктов	205
11.1. Пищевые инфекции: зооантропонозные и антропонозные заболевания	205
11.1.1. Зооантропонозы	205
11.1.2. Антропонозы	213
11.2. Пищевые отравления: пищевые токсикоинфекции, пищевые интоксикации и микотоксикозы	216
11.2.1. Пищевые токсикоинфекции и интоксикации (токсикозы)	217

11.2.2. Микотоксикозы	220
11.3. Обеспечение микробиологической безопасности пищевых продуктов на предприятиях: основные принципы системы ХААСП	223
Вопросы для самоконтроля	229
Глава 12. Санитарно-микробиологическое исследование молока и молочных продуктов	230
12.1. Общие сведения, химический состав, нормальная и анормальная микрофлора молока	230
12.2. Фазы изменения микрофлоры молока; микробиологическая порча молока	235
12.2.1. Общий ход молочнокислого процесса в молоке	235
12.2.2. Бактерицидная фаза	236
12.2.3. Фаза смешанной микрофлоры	238
12.2.4. Фаза молочнокислых бактерий	239
12.2.5. Фаза дрожжей и плесеней	240
12.2.6. Признаки микробной порчи молока	241
12.3. Способы сохранения и консервирования молока	242
12.4. Микробиология молочных продуктов	244
12.4.1. Количество компонентов, входящих в состав микрофлоры заквасок	245
12.4.2. Морфология заквасок кисломолочных продуктов	248
12.5. Методы санитарно-микробиологического исследования молока и молочных продуктов	249
12.5.1. Микробиологический контроль пастеризованного и стерилизованного молока	249
12.5.2. Микробиологический контроль кисломолочных напитков, творога и сметаны	253
Вопросы для самоконтроля	257
Глава 13. Санитарно-микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов	258
13.1. Общие сведения о первичной переработке туш и влияние ее на бактериальную обсемененность мяса	258
13.2. Микробиология свежего, охлажденного и мороженого мяса	261
13.2.1. Количественный и качественный состав микрофлоры охлажденного мяса	263
13.2.2. Количественный и качественный состав микрофлоры замороженного мяса	265
13.2.3. Микробиологическая порча мяса	267
13.3. Микробиология мясных продуктов: колбасные изделия	269
13.3.1. Динамика микрофлоры в процессе изготовления колбас	269
13.3.2. Влияние тепловой обработки на микрофлору вареных колбас	272
13.3.3. Микробиология копченых и сыровяленых колбас	273
13.3.4. Изменение микрофлоры колбасных изделий при хранении	275
13.3.5. Микробиологическая порча колбасных изделий	276
13.4. Методы санитарно-микробиологического исследования мяса и мясных продуктов	277
13.4.1. Методы санитарно-микробиологического исследования свежего мяса	277
13.4.2. Методы санитарно-микробиологического исследования колбасных изделий	285
Вопросы для самоконтроля	288

Глава 14. Санитарно-микробиологическое исследование плодов, овощей и продуктов переработки	290
14.1. Микрофлора свежих плодов и овощей	290
14.2. Болезни плодов и овощей, вызываемых микроорганизмами	292
14.3. Микрофлора овощей и плодов при квашении, солении, мариновании	294
14.4. Методы санитарно-микробиологического исследования плодов и овощей; условия хранения	297
Вопросы для самоконтроля	300
Глава 15. Санитарно-микробиологическое исследование других пищевых продуктов	301
15.1. Водные биологические ресурсы: рыба, морепродукты	301
15.1.1. Микрофлора свежей рыбы	302
15.1.2. Микрофлора замороженной рыбы	304
15.1.3. Микробиология рыбы при посоле, мариновании, высушивании, вялении и копчении	305
15.2. Яйца и яичные продукты	308
15.2.1. Микробиология свежих яиц	308
15.2.2. Микробиология яичных продуктов	311
15.3. Зерновые продукты: зерна, крупы, мука, хлеб, макаронные изделия	312
15.3.1. Микробиология зерна	312
15.3.2. Микробиология крупы	313
15.3.3. Микробиология муки	314
15.3.4. Микробиология хлеба	315
15.3.5. Микробиология макаронных изделий	316
15.4. Специи и пряности	316
Вопросы для самоконтроля	317
Глава 16. Основные принципы консервирования и хранения пищевых продуктов и плодовоовощной продукции; микробиология консервного производства	318
16.1. Понятие и принципы консервирования пищевых продуктов и плодово-овощной продукции	318
16.2. Основы микробиологии консервного производства	321
16.3. Микробиологический и санитарный контроль консервного производства	325
Вопросы для самоконтроля	330
СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	331

ВВЕДЕНИЕ (предисловие)

Все более возрастающий интерес мировой общественности микробной контаминации пищевых продуктов привела во второй половине XX в. к рассмотрению этой проблемы на глобальном уровне; впервые – на конференции ООН по защите окружающей среды в 1972 г. в Стокгольме. Данная конференция и выработанные в ее рамках рекомендации стали ключевыми в интенсификации международного сотрудничества в области контроля над безопасностью пищевых продуктов и профилактике пищевых инфекций. Действительно, через пищу передается более двухсот болезней бактериальной, вирусной, паразитарной природы. Согласно оценке Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), каждый год ими болеют более 600 млн. человек (т.е. почти каждый десятый житель планеты) и 420 тыс. умирают, что приводит к потере 33 млн. лет здоровой жизни (ДАЛИ¹). Количество таких инфекций растет во всем мире, даже в развитых странах. Пищевой путь передачи возбудителей, как правило, преобладает при вспышках острых кишечных инфекций (далее – ОКИ) и отравлениях, а при некоторых нозологиях, к примеру, *сальмонеллезе* (лат. salmonellosis), является основным².

Для защиты здоровья и жизни населения повсеместно создаются системы обеспечения микробиологической безопасности пищи, основанные на нормативно-правовых требованиях в санитарном, пищевом законодательстве и техническом регулировании, гигиеническом нормировании, государственном надзоре и производственном контроле продукции. Приоритетной их задачей в настоящее время является постоянное совершенствование, основанное на непрерывном получении новых знаний в сфере биологии, генетики микробов с учетом их изменчивости, поведения и выживаемости в процессе пищевых технологий и при взаимодействии с микроорганизмом. Именно поэтому фундаментальные и прикладные гигиенические исследования по профилактике инфекций, токсикоинфекций и интоксикаций от пищи, по развитию нормативной и методической базы оценки ее качества и безопасности ставятся в приоритет на национальном уровне практически любой страны мира.

Целью учебного пособия является углубленное изучение основ санитарной и пищевой микробиологии и микробиологии пищевых производств, формирование научного мировоззрения о роли микроорганизмов в различных процессах переработки и хранения пищевых продуктов. Это позволит уважаемому читателю приобрести необходимые знания, умения и навыки для решения задач в области обеспечения высокого уровня сани-

¹ Прим.: ДАЛИ (англ. DALY) – число лет жизни популяции, прожитых с инвалидностью или другими проблемами со здоровьем или потерянных в результате преждевременной смерти.

² Шевелева С.А., Куваева И.Б., Ефимочкина Н.Р., Минаева Л.П. Микробиологическая безопасность пищи: развитие нормативной и методической базы // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 4. С. 125-145. С. 126.

тарно-микробиологического состояния производства, предупреждения потери и получения доброкачественной продукции, учета основных закономерностей развития технически полезной и вредной микрофлоры при разработке новых видов пищевой продукции, что, в общей совокупности будет способствовать предупреждению указанных выше негативных трендов. Для достижения этой цели пособие разделено логически на **четыре раздела**: «Основы санитарной микробиологии. Методы санитарно-микробиологического контроля пищевых продуктов», «Критерии развития микроорганизмов в пищевых продуктах. Методы предохранения пищевых продуктов от микробиологической порчи», «Микробиологический контроль и санитарно-микробиологическое исследование факторов окружающей среды» и «Микробиологический контроль и санитарно-микробиологическое исследование пищевой продукции».

В *первом разделе* рассматривается предмет, история и задачи пищевой микробиологии, принципы и методы санитарно-микробиологического исследования, изучаются понятие, группы и виды санитарно-показательных микроорганизмов, а также источники и пути контаминации пищевой продукции патогенными микроорганизмами. *Второй раздел* посвящен проблеме свойств, способов производства и хранения пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов. В *третьем разделе* изучаются вопросы дезинфекций в пищевой промышленности, раскрываются особенности санитарно-микробиологического исследования воздуха, воды и почвы. В *четвертом разделе* рассматриваются кишечные инфекционные заболевания и отравления при употреблении недоброкачественных продуктов питания, уточняется специфика и алгоритм санитарно-микробиологического исследования молока и молочных продуктов, мяса и мясных продуктов, плодов, овощей и продуктов переработки и других пищевых продуктов (раба и морепродукты, яйца и яичные продукты, зерновые продукты, напитки, специи и пряности). Отдельное внимание здесь уделено принципам консервирования и хранения пищевых продуктов, плодоовощной продукции, а также микробиологии консервного производства.

Для лучшего усвоения учебного материала, к каждой главе прилагается **методический комплекс**, включающий в себя вопросы для самоконтроля. Также уважаемому читателю предлагается *сопроводительный глоссарий* и *перечень дополнительной (рекомендуемой) литературы*.

В результате освоения дисциплины «Основы санитарной и пищевой микробиологии» студент должен:

знать

- общие категории и понятия санитарной микробиологии;
- основы общей (санитарной) и промышленной (технической) микробиологии и микробиологии пищевых производств;

- основные микробиологические показатели качества пищевых продуктов, средства и методы определения микробиологического состояния объектов окружающей среды, безопасности и качества пищевых продуктов по микробиологическим критериям;
- способы обнаружения основных санитарно-показательных микроорганизмов в окружающей среде и пищевых продуктах;
- влияние контаминации пищевых продуктов патогенными и условно-патогенными микроорганизмами на безопасность пищевых продуктов и здоровье потребителя;
- санитарно-гигиенические требования, предъявляемые к персоналу, оборудованию, устройству и функционированию производственных (торговых) предприятий и микробиологической безопасности пищевых продуктов в процессе их жизненного цикла;

уметь

- выделять микроорганизмы из объектов окружающей внешней среды: воды, воздуха, почвы, смывов, сырья и пищевых продуктов;
- проводить первичную идентификацию микроорганизмов основных групп по культуральным, морфологическим, биохимическим и антигенным признакам классическими методами;
- определять влияние различных факторов на жизнедеятельность микроорганизмов и микробиологическую безопасность товаров по основным нормативных микробиологическим критериям;

владеть

- методами оценки качества сырья и пищевых продуктов животного и растительного происхождения по основным санитарно-микробиологическим критериям;
- методами анализа санитарно-гигиенического состояния окружающей внешней среды в процессе полного жизненного цикла.

Коллектив авторов желает уважаемому читателю успехов в изучении курса «Основы санитарной и пищевой микробиологии» и дальнейшей профессиональной деятельности!

РАЗДЕЛ 1. ОСНОВЫ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ. МЕТОДЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Глава 1. Предмет, история и задачи пищевой микробиологии

1.1. Микроорганизмы и их роль в природе

1.1.1. Понятие и общая характеристика микроорганизмов

Микроорганизмы играют значимую роль в круговороте веществ в природе. Считается, что в предбиологический период самые распространенные элементы находились в связанном состоянии и входили в состав: *азот – аммиака* (NH_3), *кислород – воды* (H_2O), *углерод – метана* (CH_4). Именно благодаря деятельности живых организмов, и, в первую очередь, микробов, азот и кислород присутствуют в окружающем нас мире в форме простых газов, а углерод – в виде оксида углерода (CO_2).

Количественное содержание в атмосфере азота, кислорода и углекислого газа, равно как и других химических элементов, необходимых для жизни, отражает равновесие между их образованием и использованием в природных процессах. Подобные метаморфозы происходят во всей биосфере, охватывающей океаны, моря, пресные водоемы, почву континентов и нижнюю часть атмосферы, где обитают живые организмы. Биосфера находится в достаточно устойчивом состоянии (по космическим меркам) благодаря непрерывному поступлению солнечной энергии и постоянному круговороту *углерода, кислорода, азота, серы и фосфора*. С помощью этой энергии фотосинтезирующие организмы превращают углекислый газ и прочие неорганические вещества в глюкозу и другие органические соединения, которые впоследствии становятся источником энергии всех организмов. Такие организмы (морские одноклеточные водоросли, высшие растения на суше), в свою очередь, выступают источником питания для животных.

Таким образом, *основные элементы сохраняются в органическом состоянии в ходе превращений, которые приводят к включению этих элементов в клетки и ткани животных*. А для того, чтобы стать доступными для использования фотосинтезирующими организмами, органические вещества должны перейти в неорганическую форму. Этот **процесс минерализации**, т.е. превращения в ходе разложения растительных и животных

остатков, осуществляется по преимуществу микробами. Есть данные, которые подтверждают, что минерализация 90% органического углерода, т.е. превращение его в CO₂, осуществляется именно микроорганизмами. Остальные 10% углекислого газа образуются в результате дыхания микроорганизмов, за счет сгорания топлива и проч.

Важно отметить, что процессы могут происходить *только в условиях, благоприятных для жизнедеятельности микроорганизмов*, которые являются возбудителями таких процессов, например, гниения. Так, в пустыне трупы не сгнивают, они мумифицируются, так как условий для развития гнилостных микроорганизмов просто нет. Гнилостные процессы происходят в организме человека, в частности, в кишечнике; одним из возбудителей этого является кишечная палочка (лат. *Escherichia coli*). Еще профессор И.И. Мечников³ предположил, что продукты гниения в макроорганизме вызывают его отравление и даже являются причинами старения. Одно из наиболее серьезных заболеваний – газовая гангрена, когда происходит гниение тканей живого организма, разрушающихся под действием экзотоксинов⁴, которые продуцируют возбудители этой болезни – клостридии (лат. *Clostridium*). Однако, от процесса гниения есть и польза; к примеру, гнилостные бактерии используются при обработке кож для отделения их от шерсти.

Особенно важны процессы гниения в природе, так как именно они происходят при естественном самоочищении таких объектов окружающей среды, как почва и вода. Такие процессы происходят и в специальных очистных сооружениях (полях ассенизации, орошения и проч.), при биологической обработке и обеззараживании сточных вод, содержащих много органических веществ. Много азота (в связанном состоянии) поступает в почву с мочой, содержащей мочевины. Известно, что люди и животные ежегодно выделяют порядка 20 млн т мочевины, однако, она не может

³ **Илья Ильич Мечников** (1845-1916) – русский и французский биолог (микробиолог, цитолог, эмбриолог, иммунолог, физиолог и патолог). Лауреат Нобелевской премии в области физиологии и медицины (1908). Один из основоположников эволюционной эмбриологии, первооткрыватель фагоцитоза и внутриклеточного пищеварения, создатель сравнительной патологии воспаления, фагоцитарной теории иммунитета, теории фагоцителлы. Выдвинул и развивал одну из первых концепций старения, разработал пробиотическую диету с целью обретения долгой и здоровой жизни, ввел в обращение сам термин «геронтология». И.И. Мечникова называют «отцом теории врожденного иммунитета» и «отцом геронтологии» (хотя с последним, как это часто бывает в науке, ситуация неоднозначна, и порой определение «отец геронтологии» применяется и в отношении других ученых, развивавших исследование старения позднее).

⁴ **Экзотоксины** – это вещества, вырабатываемые грамположительными и грамотрицательными бактериями и выделяемые ими в окружающую среду; белки с молекулярной массой 10-900 кДа. Оказывают токсическое воздействие на организм человека, нарушают процессы в клетке, а именно: повышают проницаемость мембран, блокируют синтез белка, нарушают взаимодействия между клетками

быть непосредственно использовала растениями. Только особые уробактерии подвергают мочевины аммонификации⁵, в результате чего образуются NH_3 , CO_2 и H_2O .

Примеров жизнедеятельности микроорганизмов – множество, а их роль в организации мира природы сложно переоценить, т.к. является основанием существования всего живого на нашей планете. Микроорганизмы широко распространены: они есть в воздухе, воде, почве, причем во всех климатических зонах, присутствуют на растениях, на всех окружающих нас предметах, в частности в продовольственных и непродовольственных товарах. Присутствуют и непрерывно «трудятся», уничтожая все отжившее; эти микробы называются *сапрофитами* (греч. *sapros* – гнилой, *phyton* – растение), т.е. питающиеся мертвыми органическими веществами. Другими словами, переиначив известную цитату В.С. Боже, если исчезнет человек, то этого никто не заметит, а если исчезнут микроорганизмы – мир перестанет существовать в привычном нам формате.

Несмотря на то, что микроорганизмы имеют микроскопические размеры, мир микробов весьма разнообразен и большинство этих существ одноклеточные. Дифференциация клеток на ткани и органы у микробов отсутствуют. В настоящее время известны и такие микроорганизмы, которые и вовсе не имеют клеточного строения. Однако, всем микроорганизмам свойственны *форма и размеры*, выраженные в микрометрах (мкм): 1 мкм = 0,001 мм. Для уточнения в микробиологии применяют и более мелкую единицу – нанометр (нм): 1 нм = 0,001 мкм. Помимо размеров, у микроорганизмов существует ряд особенностей, которые позволяют принципиально отделить их от представителей остального мира (см. рисунок 1.1). Безусловно, это отнюдь не означает, что все микроорганизмы всеядны и все они могут обитать в любых условиях. Одновременно с этим, ка каждый такой объект обязательно найдет свой «микроорганизм – любитель», и абсолютно непригодные для жизни области могут оказаться местом обитания тех микроорганизмов, которые мы просто пока не умеем выделять в привычных средах.

⁵ **Аммонификация** (также гниlostное разложение, гниение) – процесс разложения азотсодержащих органических соединений (белков, аминокислот) в результате их ферментативного гидролиза под действием аммонифицирующих микроорганизмов с образованием токсичных для человека конечных продуктов – аммиака, сероводорода, а также первичных и вторичных аминов при неполной минерализации продуктов разложения: трупных ядов, например: путресцин и кадаверин; ароматических соединений, например: скатол, индол – образуются в результате деаминации и декарбоксилирования аминокислоты триптофана; серосодержащих аминокислот, например: цистеина, цистина и метионина, – приводит к выделению сероводорода, тиолов, диметилсульфоксида.

⇒ способность употреблять самую разнообразную пищу (микроорганизмы могут использовать в качестве "продуктов питания" различные вещества, абсолютно "непригодные для еды" с точки зрения прочих живых существ);

⇒ способность приспосабливаться практически к любым условиям существования (микроорганизмы обнаружены во льдах вечной мерзлоты и жерлах вулканов);

⇒ способность к быстрому размножению (скорость деления некоторых бактерий составляет 30 минут).

Рисунок 1.1 – Отличительные особенности микроорганизмов

Практически все микроорганизмы способны воспринимать информацию из окружающей среды, однако, только в виде сигналов: механических, физических и, по преимуществу, химических, поступающих в клетку через оболочку. Вся жизнедеятельность микроорганизмов, равно как и макроорганизмов, определяется деятельностью *генетической системы*. Так, существование генов как отдельных единиц наследственности было установлено в 1965 г. Георгом Менделем, а в 1869 г. Фридрих Фишер впервые выделил ДНК. И только в середине прошлого столетия было доказано, что ДНК является носителем единиц наследственности (*генов*). В 1953 г. Френсис Крик и Джеймс Уотсон определили ее структуру, основанную на двойной спирали. К 1966 г. генетический код уже был полностью расшифрован, в результате чего выяснилось, что хромосома состоит из особых функциональных единиц – *оперонов*. Было установлено, что все живые существа используют один код записи генетической информации, что послужило прямым доказательством единства происхождения живой материи. Ген – это единственный носитель и хранитель жизни; это структура, свойственная только живой материи.

Как правило, говоря о генетической системе, используется термин «**геном**»; под ним понимается вся совокупность нуклеотидов⁶, которые содержатся в хромосоме или в их наборе конкретного организма. Объем и

⁶ **Нуклеотиды** (нуклеозидфосфаты) – это группа органических соединений, представляющих собой фосфорные эфиры нуклеозидов. Свободные нуклеотиды, в частности АТФ, цАМФ, АДФ, играют важную роль в энергетических и информационных внутриклеточных процессах, а также являются составляющими частями нуклеиновых кислот и многих коферментов.

сложность генома определяют степень сложности структурной организации данного индивидуума, соответственно уровень и характер проявления им своей жизни. **Генотип** – это совокупность имеющихся у конкретного существа индивидуальных генов, а **фенотип** (от др.-греч. φαίνω «являю; обнаруживаю» + τύπος «образец») – индивидуальное проявление генотипа, т.е. совокупность морфологических признаков и физиологических процессов. В среднем ген состоит примерно из тысячи пар нуклеотидов, ДНК большинства растений и животных – из нескольких миллиардов пар; у человека насчитывается $2,5 \cdot 10^9$. Геном микроорганизмов может быть представлен количеством от нескольких тысяч нуклеотидов (к примеру, у генома вируса СПИД их 9213). Информация, которая зашифрована в ДНК, стабильна и, одновременно с этим, способна меняться и дополняться для совершенствования, сохранения и выживания рода.

Изменение генотипа, которое происходит спонтанно, называется **мутацией** (лат. mutatio «изменение»). Она происходит в том случае, если в ДНК изменяется, выпадает или встраивается нуклеотид, что обуславливает проявление измененной информации и, соответственно, изменение признака организма. Мутации бывают *генные* и *хромосомные* (когда затрагиваются несколько генов). Особой формой изменчивости, основу которой составляют мутации, является *диссоциация*, т.е. расщепление признаков. Так, при диссоциации происходит образование нескольких типов колоний бактерий при расसेве чистой их культуры. В следствие этого процесса меняются морфология этих колоний и их физико-биохимические свойства. Трансформация ДНК способствует передаче потомкам различных признаков, например, образование капсул, ферментированную активность, устойчивость к различным химическим соединениям и лекарственным веществам. Получение наследственно измененных форм микроорганизмов за счет использования метода радиационного и химического мутагенеза позволяет создавать мутантов, вырабатывающих во много раз больше ценных продуктов (ферментов, витаминов, аминокислот и проч.). В последние десятилетия все большее развитие получает **генная инженерия** – раздел молекулярной генетики, направленный на создание новых генетических структур и разработку способов их переноса в клетки прокариотных и эукариотных организмов. Данные вопросы крайне сложны и многогранны, поэтому подлежат дальнейшему исследованию академическим и микробиологическим сообществом.

1.1.2. Типология микроорганизмов

С древнейших времен живой мир делили два царства: царство растений и царство животных. Нидерландский натуралист *Антони ван Левенгук*, открывший микроорганизмы, изначально считал, что это – «маленькие живые зверушки», однако, найти им место среди живых существ на нашей планете удалось значительно позже⁷. Даже известный шведский систематик *Карл Линней* в XVIII в. сомневался в целесообразности классификации микробов, поэтому отнес их всех к одному роду, который назвал просто – «хаос». Ко второй половине XIX в. ученые пришли к выводу о том, что микроорганизмы существенно отличаются и от животных, и от растений, вследствие чего они были выделены в отдельное царство – «протисты». Позднее их разделили на *высшие* – *эукариоты* (лат. *Eukaryota* от др.-греч. εὖ- «хорошо; полностью» + κάρυον «орех; ядро») – организмы, имеющие рибосомы⁸, митохондрии⁹ или хлоропласты¹⁰, не содержащие пептидогликан¹¹ и, главное, имеющие ядро, и *низшие* – *прокариоты* – организмы, в клетках которых нет оформленного ядра, а имеется компактное образование – нуклеоид, представленный одной или несколькими хромосомами, состоящими из ДНК. К эукариотам относятся все высшие растения и животные, примером же прокариот являются бактерии, в т.ч. цианобактерии (сине-зеленые водоросли), вирусы.

Впоследствии все известные живые существа были разделены на **четыре царства**: эукариоты, эубактерии, архебактерии и вирусы, и плазмиды. *Эубактерии* – это безъядерные прокариоты, нуклеоид которых представлен одной или несколькими хромосомами, состоящими из ДНК, клеточная стенка большинства из них содержит пептидогликан, митохондрии и хлоропласты отсутствуют. В свою очередь, клеточная стенка *архебактерий* не содержит пептидогликана, у них особая химическая структура липидов и некоторые другие отличия. К примеру, экстремальные галофилы

⁷ См. подробнее: Фридман М. Десять величайших открытий в истории медицины / М. Фридман, Д. Фридланд; [пер. с англ. Е. Богатыренко]. – М.: КоЛибри, 2012. – 430 с.

⁸ **Рибосомы**, также **гранулы Паладе** (в честь первооткрывателя Джорджа Паладе) – это немембранные органеллы (постоянные компоненты клетки) всех живых клеток. Представляют собой макромолекулярные машины, служащие для биосинтеза белка на стадии трансляции.

⁹ **Митохондрия** (от греч. *μίτος* – нить и *χόνδρος* – зернышко, крупинка) – двумембранная сферическая или эллипсоидная органелла диаметром обычно около 1 микрометра. Характерна для большинства эукариотических клеток, как автотрофов (фотосинтезирующие растения), так и гетеротрофов (грибы, животные).

¹⁰ **Хлоропласты** (от греч. *χλωρός* – «зеленый» и от *πλαστός* – вылепленный) – зеленые пластиды (внутриклеточные органеллы), которые встречаются в клетках фотосинтезирующих эукариот. С их помощью происходит фотосинтез.

¹¹ **Муреин** (также известный как пептидогликан) – основное вещество в клеточной стенке бактерий, который преимущественно выполняет антигенные и механические функции защиты клетки. По-научному, пептидогликан – это гетерополимер N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, который образован через лактатные остатки N-ацетилмурамовой кислоты с помощью коротких пептидных цепочек.

(от др.-греч. ἄλς – соль и φιλέω – люблю), способные расти в насыщенном растворе соли (до 32%), метаногены, получающие энергию роста путем восстановления углекислого газа до метана (строгие анаэробы¹²), термоацеофилы, растущие при 75-90 °С и проч. Среди них не обнаружены возбудители инфекционных заболеваний. Наконец, *вирусы и плазмиды* – это особое царство, к которому относятся микроорганизмы, геном которых представлен или ДНК, или РНК (рибонуклеиновая кислота) (у всех организмов есть и ДНК, и РНК). Эти существа не имеют собственных систем для синтеза белка и выработки энергии, поэтому они получили название «абсолютные внутриклеточные паразиты». Схема разделения живых организмов на основании *трех основных уровней* клеточной организации была предложена в 1969 г. Согласно ей, выделяются **пять царств**: монара (monera) – одноклеточные прокариоты, протисты (protista) – одноклеточные эукариоты, растения (plantae) – многоклеточные эукариоты, животные (animalia) – многоклеточные эукариоты и грибы (fungi) – одноклеточные и многоклеточные эукариоты.

К настоящему времени разработано множество новых подходов к систематике микроорганизмов (см. подробнее пп. 5.1). **Систематика** (от др.-греч. σῆμαντικός – «обозначающий») – это наука разнообразия организмов и их взаимодействия, которая включает в себя *таксономию, классификацию и идентификацию*. **Таксономия** (от др.-греч. τάξις – строй, порядок и νόμος – закон), как учение о принципах и практике классификации и систематизации, делит все микроорганизмы на группы по различным уровням: *царство, подцарство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид, подвид*. Основной таксономической единицей является **вид** – совокупность микроорганизмов, имеющих общее происхождение, сходный генотип и наиболее близкие фенотипические признаки. Вид, в свою очередь, подразделяется на подвиды, или варианты.

Геносистематика дает возможность охарактеризовать генотип микроорганизмов, данные о котором получаются путем анализа выделенных из объекта нуклеиновых кислот¹³. *Метод секвенирования*¹⁴ заключается в

¹² **Анаэробы** (от греч. αν – отрицательная частица, греч. αέρ – «воздух» и греч. βίος – «жизнь») – организмы, получающие энергию при отсутствии доступа кислорода путем субстратного фосфорилирования, конечные продукты неполного окисления субстрата при этом могут быть окислены с получением большего количества энергии в виде АТФ.

¹³ **Нуклеиновая кислота** (от лат. nucleus – ядро) – высокомолекулярное органическое соединение, биополимер (полинуклеотид), образованный остатками нуклеотидов.

¹⁴ **Секвенирование** – это определение последовательности нуклеотидов в составе ДНК (молекулы, несущей генетическую информацию).

определении последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах и сравнение таких последовательностей у различных микроорганизмов и построение филогенетических деревьев привело к коренным изменениям в систематике микроорганизмов и всего живого в целом. В настоящее время разрабатывается классификация всех живых существ с выделением всего *трех доменов (империй): Bacteria, Archaea и Eukarya*. Домен фр. domain – область, от лат. dominium владение) – это подцарство; в первый входят прокариоты, имеющие типичные признаки бактерий (это настоящие бактерии, зубактерии), во второй – все одноклеточные и многоклеточные эукариотические организмы, включая человека (его микроскопическими объектами являются водоросли, низшие грибы, простейшие), в третий – прокариоты, представленные архебактериями, или археями (к ним относятся метаногены, обитающие в донных отложениях водоемов и в рубце жвачных животных; экстремальные галофилы).

Для установления вида микроорганизма необходимо провести определение культуральных, физиологических, биохимических и молекулярно-биологических свойств и воспользоваться определителем (справочником). Среди множества существующих, наиболее известным в настоящее время является определитель бактерий, изданный группой микробиологов-исследователей во главе с *Девидом Берджи* в 1923 г.¹⁵. Он несколько раз переиздавался, а очередное издание было подготовлено группой крупнейших специалистов из разных стран. Согласно определителю Берджи, бактерии входят в два домена – *Bacteria* и *Archaea*.

Классификация микроорганизмов на все протяжении от открытия до современности постоянно меняется, утесняется по мере того, как наука идет вперед. Как правило, к микромиру относят бактерии, грибы, вирусы и простейшие, про каждого из которых мы расскажем уважаемому читателю в последующих главах. Размеры представителей микромира различаются в достаточной степени, однако, в большинстве случаев это за пределами возможностей человеческого глаза. Примерная схема, которая представлена на **рисунке 1.2**, позволяет сориентироваться в размерах этого многообразия. Также **классификацию микробов** можно представить и в зависимости от других признаков, например: *по потребности в кислороде воздуха* – аэробные (могут развиваться только в присутствии кислорода воздуха),

¹⁵ Определитель бактерий Берджи: в 2-х т. / [Р. Беркли и др.]; под ред. Дж. Хоулта [и др.]; пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. – 9-е изд. – М.: Мир, 1997. – 429; 799 с.

факультативно-анаэробные (могут развиваться в условиях недостатка кислорода воздуха и анаэробные (могут развиваться в отсутствие кислорода воздуха); *по отношению к окраске по Граму*¹⁶ – грамположительные (бактерии, которые дают положительный результат в тесте, например, *Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, Clostridium*) и грамотрицательные (бактерии, которые не окрашиваются кристаллическим фиолетовым при использовании окраски микроорганизмов по методу, например, *Escherichia coli, Salmonella, Shigella*); *по форме, типам размножения, питания и проч.*

Электро-микроскоп		Световой микроскоп										Невооруженный глаз			
		Вирусы				Грибы									
		Микоплазмы		Бактерии				Простейшие							
...	0,01	...	0,1	...	1	5	10	15	...	30	...	50	...	100	...
Микрометры (мм)															

Рисунок 1.2 – Примерная шкала размерности микроорганизмов

Для систематики и классификации микроорганизмов также могут быть использованы: *морфологические признаки* (величина, форма, характер взаиморасположения клеток), реакция на окрашивание красителями (отношение к окраске по Граму); *культуральные свойства*, т.е. особенности роста на жидких средах (образование пленки на поверхности, рост в виде осадка, помутнения и проч.) и плотных питательных средах (характер колонии: цвет, консистенция, размер и проч.). Разделение на группы может быть сделано также и *в зависимости от способности бактерий образовывать споры* (на споровые и не образующие спор), *подвижность* (подвижные и неподвижные), по *биохимическим свойствам* и проч.

С тех пор как микробиологи научились выращивать микроорганизмы, в микробиологии (см. подробнее пп. 1.2) среди прочих появились такие термины, как «колония» и «культура». **Колония** – это видимое простым глазом изолированное образование, инициируемое при размножении микроорганизмов и накоплении клеток до такого количества (за определенный

¹⁶ **Метод Грама** – это метод окраски микроорганизмов для исследования, позволяющий дифференцировать бактерии по биохимическим свойствам их клеточной стенки. Предложен в 1884 г. датским врачом *Гансом Кристианом Грамом*.

период времени, называемый *периодом инкубации*), которое можно наблюдать без микроскопа (иногда с лупой, т.к. размер колоний составляет менее 1 мм). Колония является скоплением потомства одной или нескольких клеток. Посевом из отдельной (изолированной) колонии можно получить чистую культуру любых микроорганизмов. Под **культурой** понимается совокупность микроорганизмов, которые выросли на питательной среде (плотной или жидкой). Отдельно выделенная культура отдельного вида микробов называется **штаммом**, т.е. конкретным образцом (штамм – низшая единица микроорганизмов). **Клоны** – это культуры, которые получают из одной клетки. Выращивание культуры позволяет производить *культивирование*.

Перечисленные и другие признаки, которые используются для систематики микроорганизмов, также применяются и для их идентификации, что необходимо для разработки микробиологических методов контроля (см. подробнее пп. 11.3), методов борьбы с различными видами порчи (см. подробнее пп. 6.1) и других целей. Для обозначения видов идентифицируемых микроорганизмов используется **двойная номенклатура**, состоящая из названия рода (пишется с заглавной буквы, отражает морфологический и физиологический признак и фамилию первооткрывателя) и вида (пишется со строчной буквы, обозначает видовое название) на латинском языке, например, *Clostridium botulinum*. *Clostridium* – это род грамположительных, облигатно анаэробных бактерий, способных продуцировать эндоспоры¹⁷. Бактерии рода клостридий вырабатывают наиболее сильные из известных ядов – ботулотоксин (*Clostridium botulinum*), тетаноспазмин (*Clostridium tetani*), ε-токсин *Clostridium perfringens* и проч. По современным требованиям достаточно указывать первую букву рода, т.е. *C. botulinum*, *C. tetani* и *C. perfringens*.

1.2. История становления и развития микробиологии как науки

Микробиология (греч. *микрос* – малый, лат. *bios* – жизнь) – это наука, предметом изучения которой являются микроорганизмы (микробы), их биологические признаки, закономерности развития и те изменения, которые вызывают в среде обитания и в окружающей среде. *Целью микробиологии*, как науки является изучение систематики, морфологии (формы и

¹⁷ См. подробнее: Леванова Л.А., Захарова Ю.В. Систематика, таксономия и классификация бактерий // Фундаментальная и клиническая медицина. 2017. №1. С. 91-101.

строения) и физиологии микроорганизмов, методов их выделения и распознавания, а также выяснения их значения в природе и возможностей применения в различных сферах деятельности человека.

Не зная о существовании микроорганизмов, люди на протяжении нескольких тысячелетий широко использовали процессы их жизнедеятельности в своих целях: для приготовления кисломолочных продуктов, к примеру, при производстве кумыса, вина, пива, для получения уксуса, при силосовании¹⁸ кормов, во время вымачивания льна и так далее. Природа же этих процессов до определенного времени оставалась неизвестной. Более того, тысячелетиями люди не понимали происхождение многих, хорошо известных в наше время болезней, вызываемых различного рода микроорганизмами. Еще в V в. до н.э. древнегреческий ученый *Фукидид* предположил, что заболевания вызывают мельчайшие живые частицы (*contagium*), приникающих перорально (лат. *per os, oris*), т.е. через рот. К аналогичному выводу уже в XVI в. пришел итальянский ученый **Джироламо Фракасторо**, писавший о «зародышах» болезней (см. рисунок 1.3). Однако, увидеть их не представлялось возможным. Первый микроскоп, при помощи которого можно было увидеть объект в 32-х кратном увеличении, был сконструирован в *Голландии* *Гансом и Захарием Янсенами* в 1590 г., почти за столетие до изобретения прибора, способного увидеть микроорганизмы (с 300-кратным увеличением). Его создателем стал изобретатель-самоучка, невероятно любознательный человек – **Антонио ван Левенгук** (см. рисунок 1.4). Он, желая выяснить, что придает остроту перцу, обнаружил при микроскопировании «крошечных животных», изучению которых и посвятил всю свою жизнь. Результаты своих исследований он направлял в Лондонское Королевское общество, а позднее, к книге «Тайны природы, открытые Антониом Левенгуком» (1965), он дал описание и рисунки многих микроорганизмов, обнаруженных им с помощью микроскопа в различных настоях (дождевой воде, на мясе и проч.). С открытия А. Левенгука начался новый период зарождения микробиологии как науки и ее становления.

Возможность увидеть микроорганизмы убедила общественность в их существовании поставила вопрос о роли в окружающем мире. Однако, наука о микробах долгое время носила описательный характер, и только развитие химии и физики, разновекторные исследования процессов в жи-

¹⁸ **Силосование** – это биологический метод консервирования трав, зеленых растений и некоторых других кормов, основанный на сквашивании силосуемой массы с помощью образующейся при брожении молочной кислоты, при тщательной изоляции массы от доступа воздуха.

вой природе, функций растений и животных, их химического состава и осуществляющихся в них механизмах подготовили реальную почву для развития микробиологии. Так, к середине XIX в. уже был накоплен достаточно объемный массив знаний о микроорганизмах, а наличие микроскопа и потребность в объяснении природы болезней и порчи товаров, прежде всего продовольственных, способствовали развитию науки о микробах. Одним из основных мотивов стал значительный экономический ущерб, приносимый порчей различных продуктов (от напитков до хлопка) и болезней, вызываемых патогенами. Потеря прибыли, таким образом, стала своего рода двигателем науки.

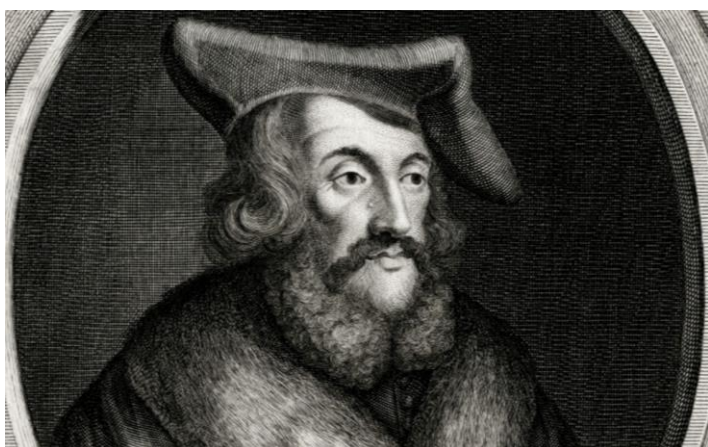


Рисунок 1.3 – Джироламо Фракасторо¹⁹



Рисунок 1.4 – Антонио ван Левенгук²⁰

Интересно будет заметить, что к тому времени еще не был окончательно решен вопрос о происхождении жизни. Известно, что теория о самозарождении жизни долгое время занимала умы крупнейших мыслителей. Так, например, согласно Аристотелю, известные двоякодышащие рыбы возникли из нильского ила, насекомые – из экскрементов или упавших на листья капель росы. Однако, идеи и рассуждения о том, как жизнь возникает от объектов неживой природы, порой не имели даже логических границ (например, опыт, описанный Я.Б. ван Гельмонтом, о зарождении мышей из зерен пшеницы²¹). В связи с открытием А. Левенгука, интерес

¹⁹ Girolamo Fracastoro: a 500 anni incontri su contagio, pandemia ed evoluzione medica. – 28.10.2021 // Telenuovo. – URL: <https://tgeverona.telenuovo.it/attualita/2021/10/28/girolamo-fracastoro-a-500-anni-incontri-su-contagio-pandemia-ed-evoluzione-medica>

²⁰ Микроскоп Роберта Гука: как был создан и сконструирован. – 15.10.2021 // Блог об изобретениях прошлого. – URL: <https://izobreteniyaproslogo.ru/bez-rubriki/mikroskop-guka-robert-guk-i-izobretenie-mikroskopa>

²¹ См. подробнее: *Крюи де П.* Охотники за микробами. – СПб., Амфора, 2006. – 359 с.; *Годфри-Смит П.* Метазоа. Зарождение разума в животном мире. – М.: Альпина нон-фикшн, 2023. – 416 с.

ученых к вопросу о происхождении жизни приобрел качественно новое направление. Его разрешение, о том, что все живое происходит только от живого (и микроорганизмы, и любые живые существа), долгое время служило импульсом для исследования микроорганизмов.

Следующий очень важный этап в развитии микробиологии связан и именем французского ученого-химика **Луи Пастера** (см. рисунок 1.5). Его множественные исследования привели в т.ч. к установлению природы процессов брожения и гниения, которые вызываются именно микроорганизмами. Более того, он смог доказать, что каждый вид брожения вызывается определенным видом возбудителей, например, сахар превращается молочнокислыми бактериями в молочную кислоту, а дрожжи – спирт. Его открытия положили начало технической микробиологии; им была выявлена роль организмов в окружающей среде, определены анаэробные микроорганизмы, разработаны принципы асептики и антисептики. Также им была установлена природа болезней вина и пива, показано, что они также являются результатом жизнедеятельности микроорганизмов. Л. Пастер предложил метод предупреждения развития микроорганизмов, названный впоследствии пастеризацией, используемый и по сей день. Были изучена и возможность при помощи стерилизации (путем автоклавирования) обеспечить полное уничтожение микроорганизмов, что положило начало развитию *консервной промышленности*.

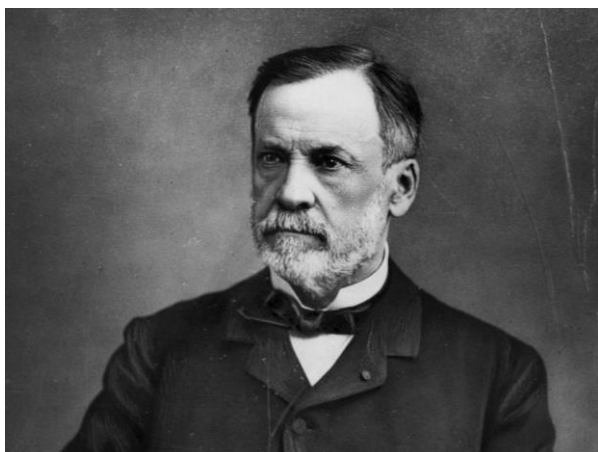


Рисунок 1.5 – Луи Пастер²²

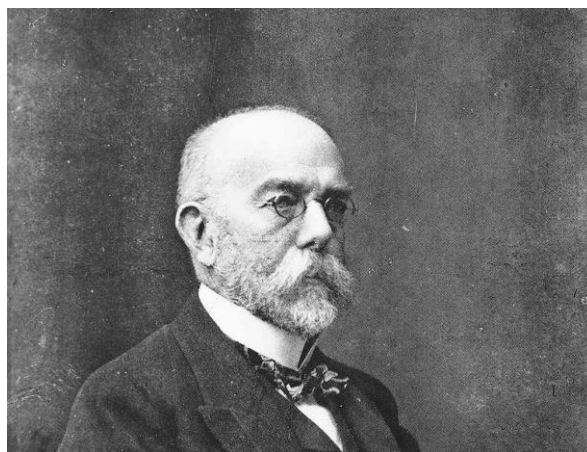


Рисунок 1.6 – Роберт Кох²³

²² Pasteur Ppu // Mavik – ULR: <https://mavink.com/explore/Pasteur-PPU>

²³ Биография Роберта Коха – основателя современной бактериологии. – 22.01.2022 // Microbiologynote. – ULR: <https://microbiologynote.com/ru/биография-основателя-современной-бактериологии-роберта-коха/>

Колоссальный вклад в развитие микробиологии внес немецкий исследователь **Роберт Кох** (см. рисунок 1.6). Несмотря на занимающую практически все свободное время врачебную практику, ему удавалось заниматься и исследовательской деятельностью, а для того, чтобы быть в курсе научных открытий, он также посещал съезды и конгрессы. Когда в 1873 г. в одной из близлежащих деревень вспыхнула эпидемия сибирской язвы, Р. Кох провел серию опытов с возбудителем инфекции. Он не только смог изучить бактерии под микроскопом, но и определить оптимальную температуру их роста, а также исследовать процесс спорообразования и воспроизводства передачи инфекции от животного к потомству. Позднее Р. Кох открыл способ выделения чистых культур микроорганизмов из отдельных (изолированных) колоний на плотных средах, предложил способы окрашивания бактерий специальными красителями, им были открыты возбудители тяжелейших заболеваний человека – туберкулеза и холеры, а введение ученым плотных сред оказалось для бактериологии революционным: до этого использовались только жидкие естественные субстраты, помет животных, кусочки плодов и овощей и проч., что, безусловно, вызывало проблемы с получением чистых культур микроорганизмов. Благодаря Р. Коху прозрачные плотные желатиновые питательные среды и агаровые пластинки²⁴ нашли применение в бактериологических лабораториях по всему миру. А опубликованные в 1881 г. в Кайзеровской службе здравоохранения сообщения Р. Коха о разработанных бактериологических методах, стали руководством для микробиологов многих стран, включая нашу.

Таким образом, конец XIX в. стал началом «золотого времени» бактериологии. Так, помимо прочего, в 1887 г. *Юлиус Рихард Петри* ввел в практику использование стеклянных емкостей (чашек), в 1871 г. стерилизацию стали проводить с помощью бактериальных фильтров, а в 1884 г. датский фармаколог и патолог *Ганс Христиан Грам* предложил дифференцирующую окраску генциан-виолетом. Особую роль в открытиях конца XIX – начале XX вв. сыграли работы Л. Пастера; например, за 1874-1900 гг. были открыты возбудители нескольких десятков человеческих и животных болезней. Сам же Л. Пастер тогда разработал способ предохранения организма от заболеваний с помощью ослабленных микробных клеток – *вакцинацию*. В 1881 г. он провел на ферме Пуй де Фор, что близ Париже,

²⁴ **Прим.:** применение **агара** для приготовления твердых сред впервые опробовала жена известного немецкого врача и микробиолога *Вальтера Хессе* Фанни, которая знала, что с помощью агара можно сделать желе твердым, и предложила мужу использовать его взамен желатину. Желатиновые среды были успешно заменены агаровыми.

эксперимент: смертельной дозой сибиреязвенной палочки были заражены овцы, ранее вакцинированные и не вакцинированные. Выживание только привитых животных показало, что человек создал беспрецедентный инструмент противостояния инфекциям.

Изучение в этот же период феномена бешенства, привело Л. Пастера к созданию Л. Пастером вакцины от этого заболевания. Проблема заключалась в том, что бешенство вызывает не бактерия, а вирус, который невозможно увидеть под микроскопом и который размножается на искусственных средах. В 1888 г. в Париже был открыт специальный институт, ставший в дальнейшем мировым центром микробиологии и названный именем Луи Пастера. Интересно то, что он был построен на средства, полученные по международной переписке – настолько был велик вклад ученого в науку. Как только появилась возможность получать чистые культуры, возникла идея создания целой коллекции выделенных штаммов в различных лабораториях в разных странах, включая нашу.

Безусловно, ценный вклад в науку был сделан **Александром Флемингом** – создателем *пенициллина*. Так, работая с плесневым грибом – пенициллиумом, он открыл продукт его жизнедеятельности и по названию плесени назвал вещество, которое он продуцирует. Открытие А. Флеминга ознаменовало начало эры антибиотикотерапии.

1.3. Российская школа микробиологи в лицах

Микробиология в нашей стране начала свое активное развитие в XIX в.; в предшествующий период научная деятельность велась достаточно фрагментарно, однако, необходимо отметить двух известных российских ученых – **Мартына Матвеевича Тереховского** и **Даниила Самойловича Самойловича**. М.М. Тереховский изучал размножение и дыхание микроорганизмов, влияние на них электрических разрядов, действие различных химических веществ. За столетие до Л. Пастера он пришел к тем же выводам, однако, к сожалению, малоизвестные работы ученого не оказали существенного влияния на мировое развитие микробиологии. В свою очередь, военный врач Д.С. Самойлович стал достаточно известен в своей области (он был членом 15 зарубежных академий наук), в частности, своими исследованиями чумы и попыток разработки вакцины от этой болезни. Среди именитых русских микробиологов XVIII – XIX вв. можно вспомнить и Г.Н. Габричевского, и Н.Ф. Гамалея, и Н.В. Склифосовского, и Л.А.

Тарасевича, и В.А. Хавкина. Многие из ученых были сотрудниками Пастеровского института.

Одной из безусловно крупнейших персоналий в области микробиологии (и не только) был **Илья Ильич Мечников** (см. рисунок 1.7). Он первый смог объяснить, почему человек, который переболел конкретной болезнью, не заболит ей еще раз, т.е. приобретает иммунитет. Он же открыл явление фагоцитоза и показал, что с опасностью борются особые клетки – фагоциты²⁵. И.И. Мечниковым была организована первая в России бактериологическая лаборатория (в Одессе). В 1885 г. в Новороссийском университете (также в Одессе) он вместе с коллегой Я.Ю. Бардахом первыми в России начали преподавать микробиологию. Спустя два года И.И. Мечников был приглашен Л. Пастером в его институт, где он возглавил лабораторию и проработал до конца своих дней. Близким другом и коллегой И.И. Мечникова был **Николай Федорович Гамалея**, медик и микробиолог, который организовал в 1886 г. первую в России станцию для проведения прививок от бешенства (опять же, в Одессе). С именем Н.Ф. Гамалея также связаны крупные исследования по изучению туберкулеза, холеры, тифов, чумы и других заразных заболеваний.

Основоположником *микробиологии почвы* считается **Сергей Николаевич Виноградский** (см. рисунок 1.8), доказавший наличие в окружающей среде бактерий, способных к ассимиляции углекислого газа из воздуха (хемосинтез), открывший явление фиксации атмосферного азота анаэробными бактериями, а также существование бактерий, участвующих в разложении пектиновых веществ. Впоследствии, на основании этих открытий *И.А. Макринов* и *Г.Л. Селибер* разработали теорию и приемы вымачивания волокнистых растений – льня, конопли и проч. Одним из учеников С.Н. Виноградского был **Василий Леонидович Омелянский**, изучавший различные вопросы в области микробиологии. Он стал автором первого российского учебника «Основы микробиологии» (1909), а также Практического руководства по микробиологии, до сих пор не утративших своей научной и практической ценности²⁶.

²⁵ **Фагоциты** (от др.-греч. φαγεῖν «пожирать» + κύτος «клетка») – это клетки иммунной системы, которые защищают организм путем поглощения (фагоцитоза) вредных чужеродных частиц (бактерий, вирусов), а также мертвых или погибающих клеток.

²⁶ См.: *Омелянский В.Л.* Краткий курс общей и почвенной микробиологии. – М.: Издательство Юрайт, 2023. – 173 с.

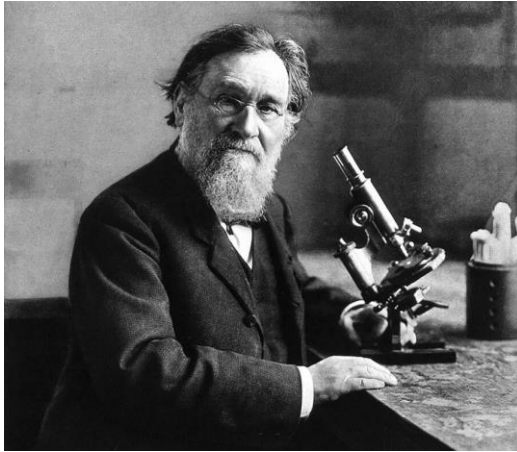


Рисунок 1.7 – И.И. Мечников²⁷



Рисунок 1.8 – С.Н. Виноградский²⁸

Конец XIX в. ознаменовался рождением еще одной науки – *вирусологии*. В 1892 г. на заседании Российской академии наук **Дмитрий Иосифович Ивановский** сообщил об открытии им возбудителя мозаичной болезни табака, названного им фильтрующимся вирусом, т.к. микроорганизм проходил через обычные бактериальные фильтры. Позднее было установлено, что вирусы вызывают заболевания не только растений, но и человека, животных и бактерий. Оказалось, что вирусы распространены не меньше, чем бактерии, только это значительно более маленькие, и только после расшифровки природы гена и генетического кода (**см. подробнее пп. 1.1.1**) они были признаны живыми существами, однако одной оговоркой: это единственные существа на планете, которые могут находиться в живом виде и виде кристаллов. Только в середине XX в. развитие молекулярной генетики и молекулярной биологии открыло новый этап развития микробиологии. В 1994 г. было установлено, что носителем генов является ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), что повлекло за собой множество важных открытий.

Не менее значимую роль в развитии технической микробиологии сыграли работы *С.П. Костычева* и *В.С. Буткевича*, изучавших процесс образования органических кислот плесневыми грибами. На основании результатов их исследований в 1930 г. было организовано первое производство лимонной кислоты, которую продуцирует плесневый гриб *A. niger*. В свою очередь, многолетние исследования *В.Н. Шапошникова* и *А.Я. Мантейфель* молочнокислого брожения позволили им выработать способ произ-

²⁷ Мечников Илья Ильич // Биографии знаменитых людей – URL: <https://rgnp.ru/mecnikov-ila-ilic-podrobnaa-biografia/>
²⁸ Шварц А. Власть земли // Слово (Word). 2010. № 65. – URL: <https://magazines.gorky.media/slovo/2010/65/vlast-zemli.html>

водства молочной кислоты, который также был внедрен в производство. В начале 1930-х гг. началось производство ацетона и бутилового спирта с использованием бактерий.

Особый вклад в развитии науки *санитарной и пищевой микробиологии* был сделан **Яковом Яковлевичем Никитинским-младшим**. Проблема очистки и биологического контроля качества воды стала одной из многих решением которых занимался этот ученый, а его фундаментальные отчеты по биологической очистке воды заложили основы гидробиологии в стране. По результатам исследований был разработан стандарт по воде, нормативы которого являются и по сей день действующими. Я.Я. Никитинский – основатель российской школы микробиологии пищевых продуктов, автор первых учебных пособий. Также он является создателем курса пищевой микробиологии и первым автором руководства для студентов – товароведом продовольственных магазинов по практической микробиологии. Им были использованы классические методы работы для определения присутствия микроорганизмов в воде и пищевых продуктах. Также стоит упомянуть, что в лаборатории микробиологии МИНХ им. Г.В. Плеханова Я.Я. Никитинский проводил изучение процессов, протекающих при хранении скоропортящихся продуктов и использованием углекислого газа и холода, сформулированы принципы хранения пищевых продуктов, используемых и по сей день. Дисциплина «**Санитарная и пищевая микробиология**» впоследствии была включена в программу обучения студентов всех экономических ВУЗов нашей страны.

XX в. также добавил в историю микробиологического знания признанных ученых, видных российских микробиологов, в частности, В.М. Горленко, Н.С. Егоров, Г.А. Заварзин, Д.Г. Звягинцев, Н.А. Красильников, Е.Н. Мишустин, А.И. Нетрусов, И.Ю. Чернов и другие.

1.4. Предмет, задачи и направления исследований в эволюции пищевой микробиологии

Пищевая микробиология (англ. food microbiology) – это наука, изучающая микроорганизмы, определяемые в пищевых продуктах, и вызываемые их жизнедеятельностью процессы, в частности те, которые могут непосредственно или косвенно оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую среду. **Предметом санитарной и пищевой микробиологии** являются микроорганизмы *четырёх групп*: вызы-

вающие порчу пищевых продуктов; патогены (грибы, вирусы, бактерии и проч.), в частности, передающиеся через пищевые продукты, способные вызывать кишечные инфекционные заболевания и отравления; используемые для производства ферментированных продуктов (сыр, йогурт, хлеб, пиво, вино и проч.); иные микроорганизмы, обладающие положительными свойствами (к примеру, пробиотики).

Специфичность и, одновременно с этим, уникальность пищевой микробиологии заключается в *интегральности ее природы как области научного знания*; она опирается на теоретические и методологические положения молекулярной биологии и генетики, биохимии, физиологии и цитологии, а также использует прогрессивные химические и биотехнологии. Особый вклад в пищевую микробиологию внесла и геновая инженерия, расширившая арсенал традиционных веществ микробного синтеза за счет совершенно новых продуктов клонирования генов. Именно в силу своей нестатичности и богатого потенциала к развитию и расширению, в настоящее время пищевая микробиология решает достаточно многообразный спектр **задач**, к которым можно отнести (см. рисунок 1.3):

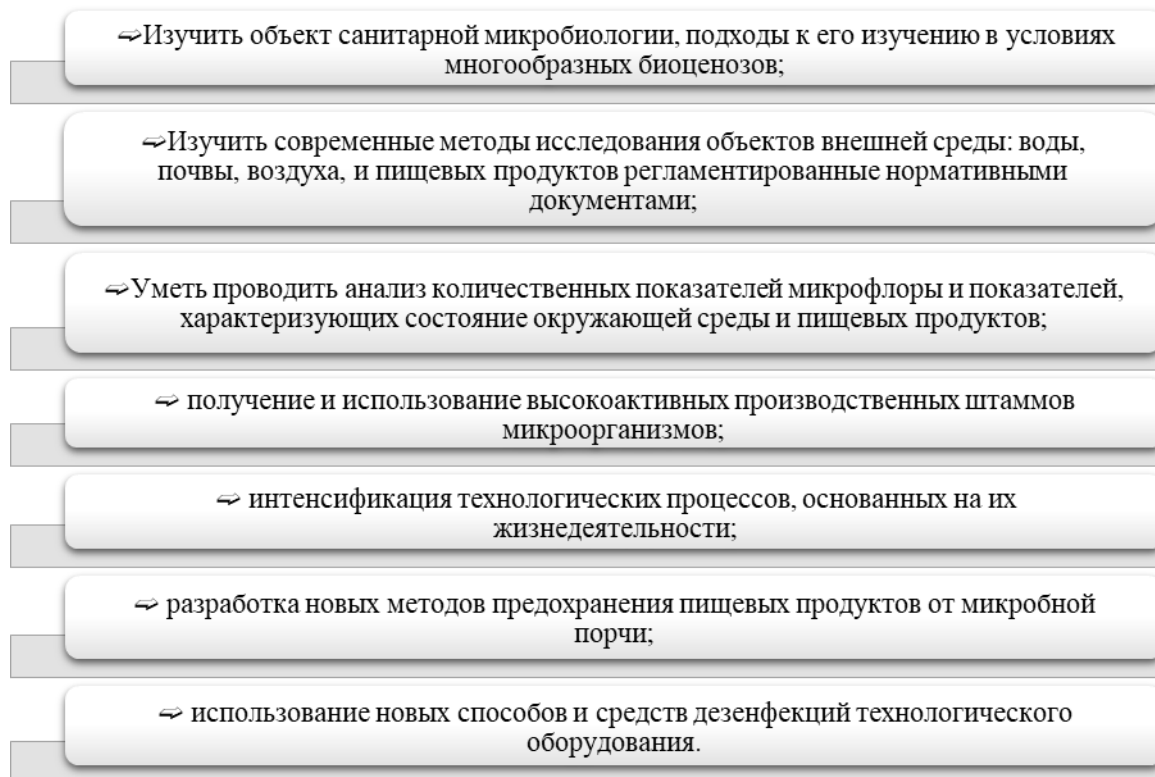


Рисунок 1.3 – Задачи санитарной микробиологии

Санитарная микробиология прошла достаточно длительный путь своего развития в нескольких **направлениях**:

1. *Разработка методов санитарной микробиологии и сохранения сырья и пищевых продуктов.* В донаучный период человечество накопило достаточно богатый опыт защиты некоторых групп продуктов питания от порчи, однако началом использования научных достижений в консервировании стало возможным говорить только в конце XVIII; для этих целей в Швеции впервые стали использовать уксус (1782). В XIX в. консервирование продуктов получило достаточно широкое распространение после открытия эффекта термообработки Франсуа Аппером (1809); позднее были изобретены такие процессы консервирования, как кипячение в воде и в солевом растворе (Л.А. Фастье), автоклавирование (Р. Шевалье-Апперт) (1853), обработка озоном (А. Кракович) (1882), высушивание молока (Д. Гримвельд) (1855), механическая сушка фруктов и овощей (А.Ф. Спаун) (1886). В 1895 г. американским бактериологом Ф.Ф. Расселом было проведено первое бактериологическое исследование консервирования.

В XX в. были обнаружены молочнокислые бактерии (И.И. Мечников) (1907). Бензоат натрия для консервирования некоторых пищевых продуктов был официально разрешен в 1908 г., а в 1917 г. – метод хранения фруктов и овощей при помощи CO₂. С 1928 г. впервые начали использовать хранилища с контролируемой атмосферной средой для хранения яблок в промышленных масштабах. В 1943 г. Б.Е. Проктор первым использовал ионизирующее излучение для сохранения мяса для гамбургеров. С 1955 г. для консервирования пищевых продуктов стало возможным использование сорбиновой кислоты. В 1967 г. в США была создана первая промышленная установка для облучения продуктов питания.

2. *Выяснение и изучение причин порчи сырья и пищевых продуктов и отравлений человека недоброкачественной и токсичной пищей.* В рамках данного направления особый вклад внесли: А. Кирхер (1759, продемонстрировал присутствие бактерий в молоке), К. Шееле (1780, идентифицировал молочную кислоту как основную в прокисшем молоке), Ш. Каньяр-де-Латур (1836, первым научно описал дрожжи), уже известный уважаемому читателю Л. Пастер (1857, показал, что прокисание молока обусловлено размножением в нем микроорганизмов), Дж. Гайон (1873, первым сообщил об исследовании роли микроорганизмов в процессе пор-

чи яиц), Дж. Листер (1873, первым определил *Lactococcus lactis*²⁹ в чистой культуре), Дж. В. Фостер (1887, впервые продемонстрировал возможность роста чистых культур бактерий при нулевой температуре), Е. Ван Гойнс (1895, обнаружил в молоке большое количество бактерий).

Изучению отравлений посвящены работы Ю. Кернера (1820, описал «колбасное отравление», которым, как считается, был ботулизм), В. Тейлора (1857, изучал особенности распространения и передачи тифозной лихорадки через молоко), А. Гертнера (1888, впервые изолировал *Salmonella enteritidis* из мяса, вызвавшего пищевое отравление в 57 случаях), Т. Дениса (1894, впервые связал пищевое отравление со стафилококками), Э. ван Эрменгема (1896, открыл *Clostridium botulinum*), Г. Ландмана (1904, идентифицировал штамм *C. botulinum* типа А), Б.А. Линдена, В.Р. Турнера и Ч. Тома (1906, впервые сообщили о пищевом отравлении, вызванном стрептококками), Д. Макклунга (1945, впервые доказал этиологическую роль *Clostridium perfringens*), Т. Фуджино (1951, показал, что *Vibrio parahaemolyticus* является одним из агентов пищевого отравления человека) и многих других.

3. *Выявление роли условно патогенных, патогенных и токсигенных микроорганизмов в санитарном состоянии сырья и пищевых продуктов.* С. Томпсон (1955) первым из ученых-микробиологов доказал сходство гастроэнтерита, вызываемого *Escherichia coli*, и холеры у детей. Спустя пять лет было опубликовано первое сообщение о продукции афлотоксина *Aspergillus flavus*. К.Л. Дункан и Д.Х. Стронг (1969) впервые исследовали энтеротоксин *Clostridium perfringens*. В 1971 г. регистрируется первая вспышка гастроэнтерита пищевого происхождения, вызванного *E. coli*, в 1976 – вызванного *Yersinia enterocolitica*, в 1981 г. – вспышка листериоза пищевого происхождения. В 1972 г. Л.Р. Копаль и Р.Х. Дайбел опубликовали результаты исследования другого, не менее известного энтеротоксина – *Salmonella*, а в 1983 г. Г. Руис-Паласиос и соавт. – *Campylobacter jejuni*. В 1985 г. были проведены опыты по радиоактивному облучению свиней дозой от 0,3 до 1,0 кГр для контроля *Trichinella spiralis*. Уже в следующем году у крупного рогатого скота (коров) в Великобритании была выявлена губчатая энцефалопатия.

В качестве отдельного направления развития знания о санитарной микробиологии можно выделить *создание нормативно-правовой базы в*

²⁹ *Lactococcus lactis* – это грамположительная бактерия, широко используемая при производстве пахты и сыра, но также стал известен как первый генетически модифицированный организм, который был использован живым для лечения болезней человека.

области биологической, в частности, микробиологической, безопасности сырья и пищевых продуктов. Об этом и о всех перечисленных направлениях мы постараемся емко рассказать уважаемому читателю далее.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите ученых, которые предполагали существование микроорганизмов. Кто открыл микроорганизмы?
2. Каков вклад Луи Пастера в развитие микробиологии?
3. Кто разработал метод выделения чистых культур микроорганизмов из изолированных колоний на плотных средах?
4. Кто является основоположником вирусологии?
5. Чем микроорганизмы отличаются от всех живых существ?
6. Перечислите основные особенности генетической системы микроорганизмов.
7. Каким образом формируется культура микроорганизмов?
8. Дайте определения понятиям «эукариот», «прокариот», «колония», «штамм».
9. Дайте определение понятия «пищевая микробиология».
10. Какие задачи решает пищевая микробиология?

Глава 2. Принципы и методы санитарно-микробиологического исследования

2.1. Понятие и цели санитарно-микробиологического исследования (vs микробиологическая экспертиза)

Согласно положениям Приказа Роспотребнадзора от 19.07.2007 № 224 «О санитарно-эпидемиологических экспертизах, обследованиях, исследованиях, испытаниях и токсикологических, гигиенических и иных видах оценок» (Приложение №1)³⁰, **санитарно-микробиологическое исследование** – это деятельность федеральных государственных учреждений здравоохранения – центров гигиены и эпидемиологии, а также других организаций, аккредитованных в установленном порядке, – по определению свойств исследуемого объекта, его качественных и количественных характеристик, а также по установлению причинно-следственных связей между факторами среды обитания и здоровьем населения с использованием утвержденных методов, методы выполнения измерений и типов средств измерений.

Такие исследования являются составляющей системы, обеспечивающей проведение *санитарно-эпидемиологических экспертиз*³¹, гигиенических обследований различных объектов, и способствующей получению объективной информации о факторах окружающей среды. Это дает возможность контролировать качество и безопасность окружающей среды, выпускаемой продукции, а также оказываемых видов услуг. Собственно, контроль за соблюдением санитарных правил, норм и гигиенических нормативов, а также соответствием продукции международным требованиям безопасности для человека основывается на результатах как микробиологических, так и физико-химических, паразитологических, радиологических и органолептических исследований, получаемых в санитарно-

³⁰ Приказ Роспотребнадзора от 19.07.2007 № 224 (ред. от 16.11.2018) «О санитарно-эпидемиологических экспертизах, обследованиях, исследованиях, испытаниях и токсикологических, гигиенических и иных видах оценок» (вместе с «Порядком организации и проведения санитарно-эпидемиологических экспертиз, обследований, исследований, испытаний и токсикологических, гигиенических и иных видов оценок», «Порядком выдачи санитарно-эпидемиологических заключений», «Положением о реестре санитарно-эпидемиологических заключений о соответствии (несоответствии) государственным санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам видов деятельности (работ, услуг), продукции, проектной документации») (Зарегистрировано в Минюсте России 20.07.2007 N 9866) // СПС Консультант Плюс.

³¹ **Санитарно-эпидемиологические экспертизы** проводятся в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, защиты прав потребителей и устанавливают соответствие (несоответствие) проектной и иной документации, объектов хозяйственной и иной деятельности, продукции, работ, услуг техническим регламентам, государственным санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам.

микробиологических лабораториях с использованием стандартизированных методов и методик выполнения измерений.

Перечень определяемых в рамках санитарно-микробиологических исследований показателей зависит от вида, объекта, цели и задач исследования (экспертизы). Так, **объектами санитарно-микробиологических исследований** выступают:

- вода питьевая централизованных и децентрализованных источников водоснабжения, вода подземных источников; сточные воды после обеззараживания и очистки; дистиллированная вода, в т.ч. используемая для приготовления фармацевтических препаратов на производстве;
- почва зон санитарной охраны источников водоснабжения и рекреационной зоны, промышленных предприятий, населенных мест, сельскохозяйственных и лесных угодий, донные отложения;
- воздух закрытых помещений, атмосферный воздух;
- готовые фармацевтические препараты, вспомогательные вещества и субстанции и для их приготовления;
- объекты окружающей среды в лечебно-профилактических учреждениях и на пищевых предприятиях (производственный контроль);
- пищевые продукты: сырье для пищевого производства, готовые кулинарные изделия на предприятиях общественного питания;
- отходы продовольственных и непродовольственных производств.

В самом общем виде, **целью санитарно-эпидемиологического исследования** (экспертизы) является обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, защита прав потребителей, также, согласно положениям, Приказа Роспотребнадзора № 224, установление соответствия проектной и иной документации, объектов хозяйственной и иной деятельности, продукции, работ, услуг техническим регламентам, государственным санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативами. В более узком смысле, цель санитарно-эпидемиологического исследования зависит от направления **микробиологической экспертизы**, в рамках которой оно проводится (в общем случае, она применяется для оценки безопасности пищевых продуктов, идентификации среды, сопоставления различных объектов и пр.). Это может быть:

- поиск микробиологических объектов в заданной среде и сбор материалов для производства экспертизы;
- анализ микробиологической среды продуктов питания: экспертиза устанавливает наличие полезных микроорганизмов в молочных продуктах, устанавливает соответствие выявленного содержания и данных, указанных на упаковке продукта; кроме того, анализ выявляет наличие в продуктах питания болезнетворных микроорганизмов, идентифицирует их, определяет их концентрацию;
- исследование микроорганизмов, к примеру, в ходе следствия по уголовным делам: эксперты выполняют микробиологический анализ воздуха, жидкостей и тканей для установления связи подозреваемого или потерпевшего с определенным местом или средой;
- анализ микроорганизмов при расследовании дел, связанных с нарушением природоохранных законов, а также при оценке последствий экологических катастроф; и проч.

Задачи, решаемые при осуществлении **санитарно-микробиологического исследования** можно разделить на *три группы* – идентификационные, диагностические и классификационные; в этот перечень также можно включить еще один класс задач, связанных с определением присутствия микробиологических объектов в определенной среде и последующим извлечением этой культуры для проведения исследования. Так, *идентификационные задачи* исследования (экспертизы), как правило, ориентированы на установление характеристик объекта анализа на основе проведения сравнения с имеющимся в наличии образцом. Идентификация объекта проводится путем изучения всей полученной о нем информации; наиболее значимой является, с одной стороны, признаки, характерные для всех представителей конкретного вида или рода микробиологических организмов, с другой – специфические особенности, являющиеся результатов воздействия окружающей среды и каких-либо случайных обстоятельств. Группа *классификационных задач* ориентирована на определение родовой и групповой принадлежности исследуемых микроорганизмов, а *диагностических* – признаков изучаемого объекта, как правило, связанных непосредственно с обстоятельствами расследуемого дела, если, опять же, говорить, о целевой экспертизе.

Микробиологическая экспертиза и, соответственно, санитарно-микробиологическое исследование, проводимое в ее рамках, может применяться в самых разных случаях. Соответственно, для каждого конкрет-

ного исследования составляется индивидуальный перечень вопросов, которых зависит от исследуемого объекта, обстоятельств дела, а также конечной цели такого исследования. Микробиологу как эксперту могут быть адресованы следующие *типы вопросов*:

1. Какие классы микроорганизмов обнаружены в исследуемом материале?
2. Соответствуют ли микроорганизмы, обнаруженные в пробе, представленным образцам?
3. Совпадает ли микробиологическое содержание представленных проб вещества, взятых из двух (нескольких) источников?
4. Соответствует ли содержание лактобактерий в исследуемом кисломолочном продукте информации, опубликованной на упаковке данного товара?
5. Присутствуют ли в исследуемом продукте питания болезнетворные микроорганизмы?
6. Каково их содержание на единицу объема материала?
7. Каков микробиологический пейзаж воздушной среды данного объекта?
8. Что можно сказать об условиях среды, вызвавшей обнаруженные изменения в структуре микроорганизмов?
9. Какие нарушения хранения или транспортировки данных продуктов питания привели к возникновению данных микроорганизмов в установленном количестве?
10. Могут ли данные изменения в строении микроорганизмов быть вызваны повышенным уровнем радиации в среде? И другие.

Результатом производства микробиологической экспертизы является определение взаимоотношения исследуемых объектов и пространства, относительно которого производится исследование. Кроме того, анализ позволяет идентифицировать объекты, а также определить особенности состояния пространственно-временных параметров на основе произошедших с ними характерных изменений.

2.2. Принципы санитарно-микробиологического исследования

Принципы, которыми руководствуются микробиологи при **санитарно-микробиологических исследованиях**, исходят из основной задачи, ими решаемой, а именно: определение возможности присутствия в иссле-

дуемом объекте патогенных микроорганизмов или токсинов, образующихся при их жизнедеятельности, а также обнаружение и оценка степени порчи этого объекта. Данные принципы можно охарактеризовать следующим образом:

1. *Правильное (корректное) взятие проб для санитарно-микробиологических исследований* с соблюдением всех необходимых условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта, а также правил стерильности. Важно понимать, что ошибки, допущенные при взятии проб, приводят к получению неправильных результатов, которые исправить уже не представляется возможным. При упаковке и транспортировке проб необходимо создавать такие условия, чтобы не допустить гибели или размножения исходной микрофлоры в исследуемом объекте. Сохранение материала допускается исключительно в условиях холодильника и не более 6-8 часов. Каждая проба, при этом, должна сопровождаться документом, в котором указывается название исследуемого материала, номер пробы, время и место взятия, характеристика объекта и подпись лица, взявшего пробу.

2. *Проведение серийных анализов*; этот принцип исходит из специфики изучаемых объектов. Как правило, вода, почва, воздух и другие объекты содержат различного рода микроорганизмы, распределение которых неравномерно. Более того, микроорганизмы, находясь в биоценотических отношениях³², подвергаются взаимному влиянию, что ведет к гибели одних и активному размножению других. Собственно, поэтому и берут серию проб из разных участков исследуемого объекта, по возможности большее их количество, что дает возможность получить более достоверную характеристику объекта. Доставленные в лабораторию пробы смешивают, затем точно отмеряют необходимое количество материала – среднее по отношению к исследуемому материалу в целом.

3. *Повторное взятие проб*; такая операция необходима для получения сопоставимых результатов. Это связано прежде всего с тем, что исследуемые объект, как правило, весьма динамичны (вода, воздух и проч.), сменяемость микрофлоры в них во времени пространстве, соответственно, весьма велика. Патогенные микроорганизмы попадают в окружающую среду, как правило, в небольшом количестве и распространяются в ней не-

³² **Биоценоз** (от греч. βίος – «жизнь» и κοινός – «общий») – это исторически сложившаяся совокупность животных, растений, грибов и микроорганизмов, населяющих относительно однородное жизненное пространство (определенный участок суши или акватории), они связаны между собой и со средой.

равномерно. Поэтому повторное взятие проб позволяет более точно определить биологическую контаминацию³³ объектов окружающей среды.

4. *Применение стандартных методов исследования*, утвержденных соответствующими ГОСТами и инструкциями, что позволяет в различных лабораториях получать сравнимые результаты и, соответственно, гарантировать допущение ошибок (см. подробнее пп. 2.3). Методы исследования, как правило, регламентированы для каждого исследуемого объекта соответствующими нормативными документами (ГОСТ, МУК и проч.). В пример можно привести Методические указания МУ 2.3.2.2789-10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов»³⁴. В отдельных случаях также допускается применение альтернативных методов исследований, к примеру, использование петрифильмов, метода отпечатков (контрактные экспресс-тесты, контактные чашки Родека, бактотест), микробиологических анализаторов³⁵.

5. *Использование одновременно комплекса методов (тестов) для получения разносторонней санитарно-микробиологической характеристики*; данный принцип предусматривает применение прямых методов обнаружения патогенных микроорганизмов и комбинированных косвенных. Это позволяет обеспечивать получение разносторонней санитарно-микробиологической характеристики объекта и позволяет выявить отклонение от нормы. К косвенным тестам также относится определение общего микробного числа, количественного и качественного состава санитарно-показательных микроорганизмов (см. подробнее пп. 3.3). Стоит сказать, что применение комплексных косвенных методов оценки потенциальной возможности загрязнения объектов окружающей среды патогенными мик-

³³ **Контаминант** (от лат. contaminant – примесь, также загрязняющий агент) – это нежелательный биологический агент (микроорганизмы, включая и вирусы) либо химическое соединение, смесь соединений, обладающие высокой биологической активностью (аллерген, иммуносупрессор, канцероген, мутаген, тератоген, токсин или в общем случае ксенобиотик) либо радиоактивное вещество (радионуклид), присутствие которых в сырье и пищевых продуктах несвойственно и, несомненно, может оказывать негативное воздействие на организм и, как следствие, нести угрозу для здоровья и жизни человека. Процесс, в результате которого происходит загрязнение пищевых продуктов и сырья контаминантами называется контаминацией. Термин «контаминант» употребляется в основном в микробиологии (*синоним термина обсеменение*), в производстве фармацевтической продукции и в производстве пищевых продуктов. В большинстве случаев загрязнение пищевого продукта контаминантами является причиной алиментарных расстройств ЖКТ у человека (пищевые интоксикации).

³⁴ **См. подробнее:** «Санитарно-эпидемиологическое нормирование»: 2.3.2. Продовольственное сырье и пищевые продукты (Материал подготовлен специалистами Консультант Плюс) // СПС Консультант Плюс. – URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/5eabd1acb4bdf395d3ea476caae41d37b81729f/

³⁵ МР 4.2.0220-20. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды. Методические рекомендации» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.12.2020).

роорганизмами, использование обходного пути для изучения контаминации материалов, является специфической чертой санитарно-микробиологических исследований³⁶.

б. *Проведение оценки исследуемых объектов по совокупности полученных результатов* при использовании санитарно-микробиологических тестов других гигиенических показателей, указанных согласно ГОСТам и нормативам (органолептических³⁷, физических, химических и проч.). Всегда важно учитывать тот факт, что развитие микроорганизмов связано с другими факторами окружающей среды, которые могут оказывать как благоприятное, так и негативное влияние, усиливая или ограничивая возможности размножения патогенных микроорганизмов и накопления их токсинов. При оценке объектов по совокупности показателей необходимо учитывать:

– во-первых, что резкое отклонение микробиологических показателей от нормы даже при благоприятном уровне всех остальных характеристик должно считаться достаточным основанием для неблагоприятной оценки объекта;

– во-вторых, что в определенных случаях благоприятные санитарно-микробиологические показатели не гарантируют безопасности объекта, т.к., повторимся, микроорганизмы воздействуют на организм в комплексе с другими факторами.

Именно по этой причине большинство стандартов включает микробиологические нормы как *один из элементов*, характеризующих рассматриваемые объекты. Оценка объектов проводят в соответствии с установленными ГОСТами, отраслевыми стандартами (далее – ОСТ), гигиеническими нормативами (далее – ГН), СанПиНами, санитарными правилами (далее – СП), специальными технологическими регламентами.

Следует не забывать и о том, что практически любой объект исследования имеет собственную микрофлору, которая вызывает специфические биохимические процессы, и те изменения в объектах, которые обусловлены посторонними микроорганизмами. Микробиолог, будучи грамотным

³⁶ Каменская Е.П. Основы санитарной микробиологии: методические рекомендации к лабораторным работам по курсам «Общая биология и микробиология», «Основы микробиологии», «Общая микробиология», «Пищевая микробиология», «Микробиология однородных групп товаров, санитария и гигиена» для студентов направлений подготовки 19.03.01, 19.03.02, 38.03.07 всех форм обучения / Е.П. Каменская; Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2016. – 45 с. – С. 11.

³⁷ **Органолептический метод, органолептический анализ, органолептика** (от др.-греч. ὄργανον – орудие, инструмент + ληπτικός – вбирающий, втягивающий) – метод определения показателей качества продукции на основе анализа восприятий органов чувств: зрения, обоняния, слуха, осязания, вкуса.

специалистом, должен хорошо знать ход микробиологических процессов, происходящих в норме в исследуемом объекте (вода, почва), технологию производства (пищевые продукты), уметь определять характер вредоносного воздействия попавших микробов, возможные последствия такого воздействия и рекомендовать конкретные эффективные меры по их предупреждению.

7. *Ответственность специалистов за точность обоснования выводов и заключений о состоянии исследуемых объектов.* При санитарно-микробиологическом исследовании, к примеру, пищевых продуктов, выявляется степень их порчи, пригодность их к употреблению, возможная опасность для здоровья населения (например, при помощи стресс-тестов срока годности продукта³⁸). Если пищевые продукты подлежат дальнейшей реализации, микробиолог должен дать обоснованную рекомендацию о наиболее рациональном способе их обработки и употребления. Важно, при этом, помнить следующее: ст. 307 УК РФ сообщает об ответственности, которая возлагается на микробиолога как эксперта, составляющего свое профессиональное заключение. Внесение в данный документ информации, которая заведомо является не соответствующей действительности, представляет собой уголовно наказуемое преступление. Исключение составляют случаи, в которых микробиолог как эксперт составил ложное заключение не преднамеренно, а вследствие профессиональной некомпетентности³⁹.

Для предотвращения попадания и развития патогенных микроорганизмов, в т.ч. провоцирующих порчу продуктов питания, на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности, общественного питания и проч. и проводится санитарно-микробиологический контроль всех объектов, контактирующих, собственно, с пищевой продукцией – воздуха, воды, оборудования, тары, упаковочных материалов, рук, одежды обслуживающего персонала, а также непосредственных источников контаминации производимой продукции – сырья, вспомогательных материалов и так далее.

³⁸ См. подробнее: Гурьева К.Б. Метод ускоренного тестирования срока годности гречневой крупы / К.Б. Гурьева, Ю.О. Сумелиди, С.Л. Белецкий, Ю.И. Сидоренко // *Хлебопродукты*. № 2. 2015. С. 58-63; Матвеева Н.А., Хасанов А.Р. Прогнозирование срока годности методом ускоренного тестирования в технологии напитков функционального назначения // *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*. 2016. №4. С. 75-82; Севостьянова Е.М., Данилян А.В. Обзор методов «ускоренного старения» для обоснования сроков годности продуктов безалкогольной отрасли // *Пиво и напитки*. 2018. №3. С. 56-59.

³⁹ Уголовный кодекс Российской Федерации от 13.06.1996 N 63-ФЗ (ред. от 24.09.2022) // *Собрание законодательства Российской Федерации*, № 25, 17.06.1996, ст. 2954.

2.3. Методы санитарно-микробиологического исследования

Современная санитарно-пищевая микробиология при индикации и идентификации санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов, а также при определении общей контаминации объектов окружающей среды стремится использовать все **методы**, используемые в диагностических микробиологических лабораториях, в частности:

- *микроскопический* – при индикации и прямом подсчете микроорганизмов в исследуемом объекте;
- *бактериологический* – выделение микроорганизмов и их идентификация;
- *биологический* – заражение чувствительных животных и ускоренные методы исследований (иммунофлюоресцентный⁴⁰ и проч.).

Для получения полноценной и разносторонней санитарно-микробиологической характеристики объектов окружающей среды, по общему правилу используется комплекс методов (тестов). Это, прежде всего, определение общей микробиотной обсемененности, называемое **определением количества МАФАНМ** (мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) (в консервах перед стерилизацией, на поверхности оборудования, для проверки качества мойки сырья, вспомогательных материалов, для выявления очагов микробного загрязнения путем обследования микробиальной обсемененности оборудования, тары, воды, сырья, полуфабрикатов по всему ходу технологического процесса и проч.), а также количественный учет санитарно-показательных микроорганизмов. Данные методы относятся к **группе косвенных** и позволяет судить о возможности загрязнения изучаемого объекта патогенными микроорганизмами (см. рисунок 2.1). Такие методы бывают *качественными и количественными*; первые устанавливают лишь факт наличия или присутствия микроорганизмов в исследуемом объекте, тогда как вторые – дают возможность определить, собственно, степень микробного загрязнения объектов окружающей среды, а значит и их потенциальную опасность для здоровья человека.

⁴⁰ **Иммунофлюоресцентный метод** (РИФ, реакция иммунофлюоресценции, реакция Кунса) является методом экспресс-диагностики для выявления специфических антигенов с помощью антител конъюгированных с флюорохромом. Обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Применяется для экспресс-диагностики инфекционных заболеваний (идентификация возбудителя в исследуемом материале), а также для определения АТ и поверхностных рецепторов и маркеров лейкоцитов (иммунофенотипирование) и др. клеток. Обнаружение бактериальных и вирусных антигенов в инфекционных материалах, тканях животных и культурах клеток при помощи флюоресцирующих антител (сывороток) получило широкое применение в диагностической практике.



Рисунок 2.1 – Методы санитарно-микробиологических исследований

Стоит сказать, что в санитарно-микробиологических исследованиях применяются, по преимуществу, именно косвенные методы, т.к. применение **прямых методов**, используемых для непосредственного обнаружения патогенных микроорганизмов в окружающей среде, часто сопряжено с некоторыми трудностями, связанных, как правило, с низкой концентрацией таких микроорганизмов, которые обычно не могут размножаться в воздухе, почве или воде. Поэтому прямая индикация микроорганизмов используется только в тех случаях, когда имеют место классические методы обнаружения малых количеств патогенных микроорганизмов и их токсинов, к примеру, при индикации возбудителей чумы (*Pasteurella pestis*), холеры (*Vibrio cholerae*), при обнаружении токсинов ботулизма и проч. В таких случаях сперва проводят концентрирование патогенов или их токсинов из исследуемого материала путем посевов на элективные питательные среды, а при необходимости и возможности проводят заражение животных. При получении чистой культуры проводится ее идентификация по соответствующей схеме.

2.3.1. Определение общего микробного числа (ОМЧ)

Общее микробное число (далее – ОМЧ) – это количество микроорганизмов в единице объема исследуемого объекта (выражается в кл/мл, кл/г, кл/м³ или КОЕ⁶/мл, КОЕ/г, КОЕ/м³). При его определении исходят из предположения, что, чем оно больше, тем выше вероятность попадания в объект патогенных микроорганизмов. Безусловно, этот процесс проходит с

соблюдением всех необходимых правил: пробы, взятые асептично из разных участков исследуемого объекта, или средние пробы должны транспортироваться в лабораторию в условиях, исключающих добавочное загрязнение, а также размножение или отмирание микроорганизмов. В лаборатории пробы гомогенизируют (от греч. ὁμογενής – однородный; т.е. смешивают), затем отмеряют определенные весовые или объемные количества материала и, собственно, исследуют.

Существует два **метода определения ОМЧ**: метод прямого подсчета и метод количественного посева различных разведений образцов и проб исследуемого материала на питательные среды. *Прямой подсчет* проводят под микроскопом, используя специальные счетные камеры Петрова-Гаузера или Гельбера – для крупных объектов, т.е. дрожжей, конидий грибов, некоторых относительно крупных бактерий. Также допустимо использовать гематологические счетные камеры; для облегчения процесса счета часто применяют красители (к примеру, эритрозин) или флюорохромы (акрединовый оранжевый и др.). Автоматизировать этот процесс сегодня позволяют фотоэлектрические или электронные счетчики. Кроме того, возможным вариантом является метод Разумова, заключающийся в осаждении микроорганизмов из определенного объема на мембранные фильтры и дальнейшем подсчете под микроскопом в падающем свете осевших клеток. Другие методы, например, основанные на определении числа частиц в струе газа или жидкости, позволяют существенно повысить продуктивность исследование⁴¹.

Однако, даже учитывая современные достижения в области автоматизации, метод прямого подсчета можно рассматривать только в качестве исключительной альтернативы. В основном, причина заключается в том, что часто микроорганизмы образуют более или менее крупные скопления, поэтому не всегда удается добиться полной гомогенизации исследуемых объектов, что, естественно, осложняет подсчет примеси (особенно, растительные остатки). Кроме того, оказывается невозможным подсчитать количество вирусных единиц и так далее. Поэтому, как правило, методы

⁴¹ **Прим.:** хорошо известны импакторы, осаждающие частицы определенных размеров на улавливающие пластинки, которые затем исследуют микроскопически или фотометрически. При помощи проточных цитофлуориметров анализируют клетки в суспензии в свободной струе жидкости, пересекающей луч света (измеряются интенсивность флуоресценции, а также рассеяние света под различными углами). Использование при этом ДНК-специфичных красителей, избирательно окрашивающих живые клетки и клетки с поврежденной мембраной (4,6-диамидино-2-фенилиндола или флуоресцин диацетат и пропидий йодид соответственно), делает возможным не только прямой количественный подсчет клеток микроорганизмов, но и определение процентного содержания жизнеспособных клеток, что особенно важно при санитарных исследованиях. Разработаны и другие автоматизированные методы подсчета клеток (электростатические, фотоэлектрические и другие счетчики).

прямого подсчета используют в экстренных случаях при необходимости срочного ответа о количестве микроорганизмов, например, при авариях в системах водоснабжения и проч.

Другим широко используемым методом является *количественный высеив на питательные среды*. Уточним, что здесь под общим микробным числом понимается количество колоний, вырастающих на МПА⁴² в чашках Петри после определенного срока инкубации при той или иной температуре из 1 мл (для твердых субстратов – 1 г) исследуемого материала. Таким образом, чаще всего учитываются МАФАНМ, способные расти на МПА. Безусловно, получаемые при использовании этого метода цифры, как правило, значительно уступают величинам, устанавливаемым при помощи прямого метода. В этом случае не учитываются мертвые, а также потерявшие способность к размножению микроорганизмы. Кроме того, не всегда оказывается возможным проведение полной десорбции микроорганизмов с частиц субстрата.

Если проба недостаточно гомогенизирована, то ряд колоний может образовываться не из отдельных клеток, а из их скоплений. Безусловно, не будем забывать, что не существует какой-либо универсальной питательной среды и режима инкубации, которые были бы пригодны для всех микроорганизмов. Оценивается общая обсемененность только количественным методом без качественного состава микроорганизмов. Малая обсемененность, при этом, не гарантирует безопасность в отношении, к примеру, золотистого стафилококка. Однако, несмотря на существующие ограничения, не возникает никаких сомнений в целесообразности и необходимости использования метода для сравнительных целей. Поэтому он широко используется для санитарной оценки воды, почвы, даже несмотря на то, что значительное количество почвенных и водных микроорганизмов не учитывается (из учета выпадают анаэробы, грибы, серные, азотфиксирующие, нитрифицирующие и другие бактерии). Для их учета, если есть такая необходимость, используются соответствующие питательные среды.

Также несколько слов необходимо сказать о т.н. *титрационном методе определения ОМЧ*; он применяется довольно редко (используются жидкие питательные среды). После инкубации учитывается появление ро-

⁴² **Мясопептонный агар (МПА)** – среда полусинтетическая, плотная, общего назначения. Представляет собой плотную студнеобразную массу. Эта питательная среда широко применяется в лабораторной практике для выращивания хемоорганотрофных микроорганизмов. Для ее приготовления используют сухой мясной экстракт, пептон, хлорид натрия, дигидрофосфат натрия агар-агар (по-малайски агар-агар – желе) – полисахарид с низким содержанием азотистых веществ и не представляющий питательной ценности для микроорганизмов.

ста и определяется предельное разведение, содержащее жизнеспособные микроорганизмы, а отсюда и количество последних в исследуемом материале. Помимо прочего, этому методу свойственны те же недостатки, что и классическому количественному посему. Однако, справедливости стоит сказать, что он также имеет и определенные преимущества, но только в отношении исследований объектов, микрофлора которых достаточно однородна; тогда используют среды наиболее пригодные для развития преобладающих видов микроорганизмов.

Безусловно, в последнее время акцент в санитарно-микробиологических исследованиях делается на *автоматизированные системы*, которые дают возможность получать быструю количественную оценку степени микробного загрязнения объектов окружающей среды. Наиболее широко используются измерительные системы для полностью автоматизированного обнаружения микробной контаминации (например, BACTERIA TRACER). Их действие основано на принципе регистрации относительного изменения электрического сопротивления питательной среды, происходящего под действием процессов роста и жизнедеятельности микроорганизмов. Рост последних приводит к изменению концентрации ионов в питательной среде и на измерительных электродах и, тем самым, к изменению электрического сопротивления в заданном интервале времени. Собственно, благодаря непрерывной регистрации и полной автоматизации степень микробного загрязнения можно определить уже в течение нескольких часов.

Обращаем внимание уважаемого читателя на то, что для характеристики объектов, имеющих *специфическую микрофлору*, размножение которой связано с технологией производства, определение общего микробного числа (ОМЧ) не применяется.

2.3.2. Количественный учет санитарно-показательных микроорганизмов

Так как подробно о санитарно-показательных микроорганизмах мы будем говорить в следующей главе, с вопросом о количественном их учете мы ознакомимся кратко.

Итак, **количественный учет санитарно-показательных микроорганизмов** во внешней среде дает возможность установить степень ее загрязнения, что в свою очередь определяет степень эпидемиологической опасности исследуемых объектов: чем больше в них обнаруживается сани-

тарно-показательных микроорганизмов, тем выше вероятность наличия здесь патогенных микроорганизмов, выделяющихся теми же путями. Количественный учет того или иного санитарно-показательного микроорганизма, равно как и ОМЧ, проводят по стандартным для каждого объекта **методикам**, регламентированным соответствующими ГОСТами, МУКами и т.п., среди которых:

1. *Определение титра.* **Титр** – это наименьшее количество исследуемого материала (в миллилитрах – для жидких субстратов или в граммах – для твердых), в котором обнаружена как минимум одна жизнеспособная клетка искомого микроорганизма. Например, «коли-титр» – это наименьшее количество исследуемого материала, в котором обнаружена как минимум одна клетка бактерий группы кишечных палочек; «перфрингенс-титр» – это наименьшее количество исследуемого материала, в котором обнаружена как минимум одна жизнеспособная клетка бактерий, относящихся к виду *Clostridium perfringens*; *бродильный титр* – это наименьший объем воды, при посеве которого в глюкозную среду обнаруживается газообразование. Он может соответствовать коли-титру в том случае, если сбраживание глюкозы вызывает *E. coli*, а не другие микроорганизмы.

2. *Определение индекса.* **Индекс** – это количество клеток искомого микроорганизма, содержащееся в определенном объеме (массе) исследуемого объекта: для воды и жидких продуктов – в 1 000 мл, для почвы и твердых пищевых продуктов – в 1 г. Например, «коли-индекс» – это число бактерий группы кишечной палочки в 1 000 мл воды, 1 г почвы или 1 г твердого пищевого продукта. Важно запомнить, что *индекс – это величина, обратная титру*, поэтому пересчет титра в индекс и обратно можно произвести по следующим формулам:

для воды и жидких продуктов:

$$\text{титр} = \frac{1000}{\text{индекс}}; \text{индекс} = \frac{1000}{\text{титр}}$$

для почвы и твердых пищевых продуктов:

$$\text{титр} = \frac{1}{\text{индекс}}; \text{индекс} = \frac{1}{\text{титр}}$$

Так, например, согласно СанПиН 2.1.4.1116-02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества», коли-индекс питьевой воды должен быть не более 3. Это означает, что в питьевой воде количество клеток бактерий группы кишечных палочек не должно превышать 3 кл в 1 л. Соответственно, коли-титр питьевой воды должен быть не менее 333 (300), т.е. по правилам допускается присутствие 1 клетки бактерий кишечных палочек не менее чем в 333 (300) мл. воды.

Как дополнительный показатель часто используется **наиболее вероятное значение микробного индекса** (англ. most probable number — MPN, или наиболее вероятное число, НВЧ). Определение этого показателя осуществляют с использованием жидких сред. Подсчет НВЧ производят при помощи специальных таблиц Хоскенса-Муре, разработанных для «симметричного» (применяется одинаковое число пробирок для каждого разведения, которые обычно кратны 10) и «асимметричного» (используют разное количество пробирок в отдельных разведениях) способов посева. Полученные значения имеют доверительные границы, в пределах которых истинное количество искомого микроорганизма может колебаться с вероятностью 95%. Соответственно, указывают НВЧ и диапазон его возможных колебаний (нижний и верхний пределы).

3. *Количественный учет микроорганизмов в различных объектах (массах) исследуемых объектов*, которые определены санитарно-гигиеническими нормативами. Так, например, согласно тому же СанПиН 2.1.4.1116-02, в питьевой воде количество общих колиформных бактерий⁴³ (ОКБ) и термотолерантных колиформных бактерий⁴⁴ (ТКБ) определяют в 300 мл, тогда как споры сульфитредуцирующих клостридий⁴⁵ – в 20 мл.

⁴³ **Общие колиформные бактерии** являются своеобразным индикатором качества, в особенности при определении эффективности работы очистных систем от фекальных бактерий. Это связано с легкостью их обнаружения и дальнейшего количественного подсчета. Являясь грамтрицательными палочками, они не образуют спор и активно развиваются в условиях лактозной среды – это учитывается лаборантами при проведении исследований. Анализ воды на ОКБ производится чаще всего из проб колодцев, скважин и родников. В группу входят преимущественно бактерии семейства Enterobacteriaceae, которые в ряде случаев указывают на стабильную микрофлору желудка. Однако, превышение показателей ОКБ может означать вероятность фекального загрязнения. При этом в группу могут входить и свободнодвижущие микробы, не представляющие какой-либо опасности для человека. Наличие тех или иных микроорганизмов подтверждается или опровергается в ходе лабораторных исследований.

⁴⁴ **Термотолерантные колиформные бактерии** – это одна из разновидностей колиформов, которая является более точным индикатором загрязнения, так как указывает на недавнее фекальное загрязнение. При этом данные микроорганизмы выделяются простотой обнаружения, за счет чего высоко оцениваются специалистами. Чаще всего при определении ТКБ выявляется кишечная палочка, относящаяся к роду *Escherichia coli*.

⁴⁵ **Споры сульфитредуцирующих клостридий** – это дополнительный показатель, которые могут быть в кишечнике, не нанося при этом вреда. Однако их большая концентрация в организме рискует привести к пищевым отравлениям и даже смертельным заболеваниям. Если сравнить с ОКБ и ТКБ, которые относительно неустойчивы с точки зрения времени проявления, споры могут сохраняться на протяжении длительного временного отрезка. По этой при-

Еще раз повторим, что количественный учет конкретного санитарно-показательного микроорганизма, равно как и ОМЧ, проводят по стандартным для каждого объекта методикам, регламентированным соответствующими ГОСТами, МУКами и проч.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение понятию «санитарно-микробиологическое исследование».
2. Для каких целей проводятся санитарно-эпидемиологические экспертизы?
3. Какие задачи решаются при осуществлении санитарно-микробиологического исследования?
4. Перечислите основные принципы санитарно-микробиологического исследования.
5. Какие методы санитарно-микробиологического исследования Вам известны?
6. Что представляет собой общее микробное число?
7. Назовите методы определения общего микробного числа.
8. Дайте определение понятию «санитарно-показательные микроорганизмы».
9. Для каких целей проводится количественный учет санитарно-показательных микроорганизмов?
10. Дайте определения понятиям «тир» и «индекс».

чине, как и колифаги, они указывают на давнее загрязнение. С учетом устойчивости спор к средствам очистки, они могут использоваться в виде определителя эффективности проведения мероприятий по обеззараживанию воды. Выявление данного показателя необходимо в случае обнаружения посторонних запахов и появления черного налета на трубах.

Глава 3. Санитарно-показательные микроорганизмы: понятие, группы, виды

3.1. Понятие, требования и признаки санитарно-показательного микроорганизма

Основными источниками распространения возбудителей большинства инфекционных болезней, поражающих человечество, являются люди и теплокровные животные, а наиболее массивное выделение ими микроорганизмов в окружающую среду происходит воздушно-капельным и фекальным путями. Собственно, санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды дает возможность подтвердить наличие или же отсутствие в них таких микроорганизмов.

Однако, считается, что такие исследования сопряжены с определенными трудностями, например, патогенные микроорганизмы находятся в окружающей среде непосредственно – их можно с легкостью обнаружить в периоды пандемии, однако, сложно – в межэпидемиологические. Так как основная деятельность микробиологов ориентирована на предупреждение возникновения массового распространения тех или иных инфекции, вся работа ведется именно в такие периоды. Кроме того, количество патогенных микроорганизмов, попавших в окружающую среду, значительно уступает непатогенным и распространение их в загрязненных объектах неравномерно. Сложности возникают и при выделении патогенов при посевах на питательные среды, даже ингибиторные, т.к. неизбежно страдают от конкуренции сапрофитные флоры. Именно поэтому получаемые отрицательные результаты определения патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды отнюдь не является гарантом их действительного отсутствия. В связи с этим, как правило, объекты оцениваются непрямым путем, устанавливая факт загрязнения их выделениями человека и теплокровных животных. И чем обильнее загрязнение, так более вероятно попадание в объект патогенов.

На самом же деле, для многих видов микроорганизмов, живущих в теле здорового человека, полость рта и кишечник являются **биотопом** (от др.-греч. βίος «жизнь» + τόπος «место»), единственной природной средой их обитания (хотя при некоторых условиях они все же могут определенное время сохранять свою жизнеспособность вне организма, например, в пищевых продуктах, а иногда и размножаться). С экскретами организма оби-

татели респираторного тракта и (или) кишечника попадают во внешнюю среду, поэтому их обнаружение вне организма говорит, во-первых, о загрязнении различных объектов соответствующими выделениями человека и животных, во-вторых, пусть косвенно, но указывает на возможное присутствие патогенных микроорганизмов, выделяющихся из организма теми же путями.

Так, например, обнаружение нормальных обитателей кишечника говорит о наличии фекального загрязнения и возможной опасности присутствия возбудителей брюшного тифа, дизентерии и других кишечных инфекций, тогда как представители нормальной микрофлоры респираторного тракта во внешней среде указывает на ее воздушно-капельное загрязнение и возможность присутствия возбудителей дифтерии, скарлатины, туберкулеза и проч. В таких случаях представители нормальной микрофлоры служат показателем санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов, собственно, поэтому они и получили название *санитарно-показательных*.

Итак, **санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ)** – это представители нормальной (облигатной) микрофлоры (микробиоты), которые выделяются из организма человека и теплокровных животных (кишечника и респираторного тракта, как сообщающихся с внешним миром его полостей) со всеми экскретами. Такие микроорганизмы являются индикаторами биологического загрязнения окружающей среды, в частности, производственных помещений, объектов животноводства, поверхности овощных и плодовых культуры, тары и так далее. Необходимо указать, что отнюдь не все микроорганизмы являются санитарно-показательными, а лишь те, которые соответствуют следующим **требованиям**:

- микроорганизм должен постоянно обитать в естественных полостях человека и животного и постоянно выделяться во внешнюю среду;
- микроорганизм не должен размножаться во внешней среде (исключая пищевые продукты) или размножаться незначительно и короткое время;
- длительность выживания микроорганизма во внешней среде должна быть не меньше, а несколько больше, чем сроки выживания патогенных микроорганизмов, выводимых из организма теми же путями;
- у микроорганизма не должно быть во внешней среде «двойников» или аналогов, с которыми их можно перепутать;

- микроорганизм не должен сколько-нибудь значительно изменять свои биологические свойства в окружающей среде;
- рост санитарно-показательных микроорганизмов на питательных средах не должен зависеть от влияния других присутствующих микроорганизмов;
- в объекте внешней среды санитарно-показательные микроорганизмы должны быть по возможности распределены равномерно (равномерность распределения при исследовании плотных объектов достигается искусственно при помощи гомогенизации);
- методы обнаружения, идентификации и количественного учета должны быть современными, простыми и легко доступными.

Считается, что чем больше объект загрязнен выделениями человека и животных, тем больше будет обнаружено СПМ и тем вероятнее присутствие патогенных микроорганизмов. Безусловно, перечисленные требования, предъявляемые к СПМ, маловероятно будут полностью реализованы для одного микроорганизма, однако, *чем большему их числу соответствует тот или иной вид, тем выше его ценность в качестве санитарно-показательного микроорганизма.* Именно по этой причине более надежным является параллельное определение присутствия в исследуемом материале нескольких видов СПМ. Такой подход дает возможность компенсировать недостатки одного микробиологического показателя за счет сопоставления с другим. Для более точной оценки в число СПМ включают и некоторые сапрофитные бактерии, которые в естественных условиях обитают вне организма человека и животных (аммонифицирующие и нитрифицирующие бактерии, некоторые спорообразующие бактерии, актиномицеты, цианобактерии, целлюлозолитические бактерии, бделловибрионы, грибы и проч.). Выявление таких микроорганизмов может служить показателем процессов самоочищения.

К санитарно-показательным микроорганизмам относятся представители разных систематических групп бактерий (см. подробнее пп. 3.2). Однако, родоначальником этих показателей по праву считается кишечная палочка. Так, в 1883 г. французский исследователь, врач Э. Массе впервые указал на возможность использования микроорганизма в качестве показателя фекального загрязнения воды. В 1895 г. Л.Г. Смит и К.Н. Фройденрайх разработали бродильный метод обнаружения кишечной палочки, что позволило воплотить идею на практике. И сегодня наиболее важными сре-

ди СПМ во все мире являются *бактерии группы кишечной палочки* (далее – БГКП). Этим термином, как правило, объединяют бактерии семейства *Enterobacteriaceae* родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*.

К бактериям данной группы относят аэробные и факультативно-анаэробные грамотрицательные не образующие спор и не обладающие оксидазной активностью палочки, сбразивающие лактозу и глюкозу до кислоты и газа при 37 °С в течение 24 ч. Кроме того, среди БГКП также выделяют колиформные бактерии, которые сбразивают только лактозу при 37 °С с образованием кислоты и газа (ОКБ), и фекальные кишечные палочки (ТКБ), сбразивающие лактозу с образованием кислоты и газа при 43-44,5 °С. Из последних к *E. coli* относятся только бактерии, не способные расти на среде, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии цитрат. Они являются показателями свежего фекального загрязнения. При массивном загрязнении продуктов питания *E. coli* могут вызвать у человека пищевую токсикоинфекцию, причиной чему чаще всего бывают холодные закуски (салаты и пр.) и продукты, не подвергавшиеся перед употреблением повторной термической обработке⁴⁶.

3.2. Группы санитарно-показательных микроорганизмов

Как уже отмечало ранее, к санитарно-показательным микроорганизмам относятся представители разных **систематических групп бактерий**. Таких групп три (см. **рисунок 3.1**): первая – это индикаторы фекального загрязнений – представители, собственно, микрофлоры кишечника человека и животных; вторая – индикаторы воздушно-капельного загрязнения – комменсалы верхних дыхательных путей; третья – индикаторы процессов самоочищения.

⁴⁶ **Прим.:** в конце 80-х гг. XX в. были зафиксированы необычные желудочно-кишечные заболевания, характеризующиеся сильной спазматической болью, небольшим повышением температуры, серьезной диареей с выделением большого количества крови, иногда заканчивающиеся летальным исходом. В разных странах вспышки заболевания возникали при употреблении следующих пищевых продуктов: гамбургеров с недожаренной говядиной, рубленых бифштексов, вяленой оленины (США); пирогов с мясом, козьего сыра (Шотландия); полусухой ферментированной колбасы (Южная Австралия); побегов редьки дайкон (Япония) или контаминированной питьевой воды (Канада). Возбудителем заболевания явился штамм *Escherichia coli* 0157, обладающий геном, ответственным за продуцирование веротоксина. Этот токсин известен также как шигатоксин из-за своего сходства с токсином, продуцируемым бактериями рода *Shigella* – возбудителями дизентерии. Главными факторами патогенности штамма *E. coli* 0157 являются способность прикрепляться к стенке кишечника человека и продуцировать сильнодействующие веротоксины. Как показали исследования, носителями и распространителями штамма *E. coli* 0157 признаны овцы, крупный рогатый скот, свиньи.

**САНИТАРНО-
ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ
МИКРООРГАНИЗМЫ**

Группа А: включает обитателей кишечника человека и животных. Они являются индикаторами фекального загрязнения. В нее входят бактерии группы кишечной палочки (БГКП), энтерококки, протей, сальмонеллы, клостридии, термофилы, бактериофаги и др.;

Группа В: включает обитателей верхних дыхательных путей и носоглотки. Они являются индикаторами орального загрязнения. В нее входят стафилококки, а также зеленящие и гемолитические стрептококки, постоянно обитающие на слизистой оболочке верхних дыхательных путей и выделяющиеся в воздушную среду при разговоре, кашле, чиханье;

Группа С: включает микроорганизмы-сапрофиты, обитающие во внешней среде. Они являются индикаторами процессов самоочищения. В нее входят амонифицирующие, нитрифицирующие бактерии, некоторые спорообразующие бактерии, грибы, актиномицеты, сине-зеленые водоросли и проч.

Рисунок 3.1 – Группы санитарно-показательных микроорганизмов

Итак, *первая группа* представлена микроорганизмами – нормальной микрофлоры кишечника человека и теплокровных животных, поэтому они выступают индикаторами фекального загрязнения объектов окружающей среды и свидетельствуют, тем самым, о возможном присутствии в этих объектах возбудителей кишечных инфекций и токсикоинфекций. В данную группу, как правило, включаются: БГКП, энтерококки, протей, сульфитредуцирующие клостридии, термофилы, кишечные бактериофаги (вирусы бактериальных клеток), сальмонеллы, бактериоиды, бифидо- и лактобактерии, синегнойная палочка, грибы рода *Candida* и ацинетобактер.

Во *вторую группу* отнесены представители нормальной микрофлоры верхних путей отделов дыхательных путей, поэтому они являются показателями биологической контаминации воздуха и других объектов окружающей среды обитателями респираторного тракта человека и теплокровных животных. В этом случае говорят, соответственно, о воздушно-капельном загрязнении. Санитарно-показательные микроорганизмы этой группы как правило индицируют о наличии в объектах внешней среды возбудителей инфекций, передающихся воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем. В частности, речь идет о стафилококках, зеленящих (α -стрептококках) и гемолитических (β -стрептококках).

Третья группа представлена микроорганизмами, обитающими в естественных условиях вне организма человека или животного, среди которых

протеолиты, аммонификаторы и нитрификаторы, аэромонасы и бделловибрионы, споровые микроорганизмы, грибы и актиномицеты, целлюлозо-бактерии. Это обусловлено все более возрастающим загрязнением окружающей среды различными органическими веществами и необходимостью контроля процессов естественного самоочищения от органического загрязнения.

3.3. Санитарно-показательные микроорганизмы, определяемые в объектах окружающей среды

В зависимости от исследуемого объекта (вода, почва, пищевые продукты, воздух, предметы обихода и проч.) чаще всего определяют следующие санитарно-показательные микроорганизмы (см. таблицу 3.1). Рассмотрим наиболее распространенные из них⁴⁷.

3.3.1. Бактерии рода *Enterococcus*

Так, на втором месте после бактерий группы кишечной палочки (БГКП) находятся бактерии рода *Enterococcus*. В качестве показателя фекального загрязнения энтерококк (как еще одного постоянного обитателя кишечника человека) предложил использовать профессор Хьюстон в 1910 г. Значительный вклад в изучении систематического положения и в развитие методов идентификации этих микроорганизмов внесли российские исследователи А.П. и Г.П. Калина. На сегодня известно 36 видов⁴⁸; основными его представителями, поражающими человека, являются *E. faecalis*, *E. faecium* и *E. durans*⁴⁹. В соответствии с Определителем Берджи⁵⁰ их относят к группе 17 «Грамположительные кокки», р. *Enterococcus*.

⁴⁷ См. подробнее: Красникова Л.В., Гунькова П.И. Микробиологическая безопасность пищевого сырья и готовой продукции: Учеб.-метод. пособие. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2014. – 91 с.

⁴⁸ Vyappanahalli M.N., Nevers M.B., Korajkic A., Staley Z.R., Harwood V.J. Enterococci in the environment // Microbiol Mol Biol Rev. 2012. Dec. Vol. 76(4). pp.685-706.

⁴⁹ Прим.: энтерококки выделяются в окружающую среду в довольно значительных количествах ($10^8 - 10^9$ кл/г фекалий). По морфологии они представляют собой диплококки ланцетовидной, овальной или круглой формы, иногда располагающиеся цепочками, грамположительны, спор не образуют. Энтерококки принято считать показателями свежего фекального загрязнения, т.к. они быстро отмирают в окружающей среде (быстрее, чем *E. coli*) и не способны в ней размножаться. Однако, для выделения энтерококков из окружающей среды требуется больше времени, чем при индикации БГКП, и более сложные в приготовлении питательные среды, что препятствует широкому их использованию как показателей фекального загрязнения.

⁵⁰ *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (рус. Справочник Берджи по бактериологической систематике) – основной источник для определения видов бактерий, включающий все имеющиеся классификационные признаки. Опубликован также справочник *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, предназначенный для классификации неизвестных бактерий. Впервые опубликован в 1923 г. Дэвидом Берджи с целью систематизации структурных и функциональных особенностей бактерий с целью их классификации, однако в последующие годы классификация бактерий носила больше эмпирический характер.

Таблица 3.1 – Санитарно-показательные микроорганизмы окружающей среды и пищевых продуктов⁵¹

Объект	Характер загрязнения	Санитарно-показательные микроорганизмы
Вода	фекальное	- бактерии группы кишечных палочек: <i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , энтерококки (<i>Enterococcus faecalis</i>) и др.;
Почва	фекальное	- также бактерии и клостридии (<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Cl. sporogenes</i> и др.);
	промышленно-бытовое (разлагающиеся отбросы)	- термофильные бактерии (<i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> и др.), <i>Proteus vulgaris</i> ;
Пищевые продукты	фекальное	- бактерии группы кишечных палочек, <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>P. Vulgaris</i> ;
	орально-капельное	<i>Staphylococcus aureus</i>
Воздух	орально-капельное	- <i>S. aureus</i> , гемолитические стрептококки, <i>S. Pyogenes</i> ;
Вода, почва, воздух	промышленное	- производственные штаммы микроорганизмов;
Предметы обихода, медицинский инвентарь	фекальное	- бактерии группы кишечных палочек, энтерококки (<i>Enterococcus faecalis</i>);
	орально-капельное	- <i>S. aureus</i> .

Стоит сказать, что отмирание энтерококков во внешней среде может идти разными темпами, что зависит от химического состава объектов, их физического состояния и характера внешних воздействий. При этом, они весьма устойчивы ко многим воздействиям неблагоприятным (нагревание, высокие концентрации хлорида натрия, желчи, некоторые ПАВ, значительные колебания рН), что, как представляется, делает их удобным показателем при исследовании некоторых специфических объектов. Однако, в некоторых государствах (Россия, США, Англия, Франция и др.) количественное определение энтерококков используется как дополнительный показатель фекального загрязнения. В нашей стране, их выявление регламентируется при исследовании воды открытых водоемов, плавательных бассейнов (с пресной и морской водой), а также ряда пищевых продуктов. По

⁵¹ См. подробнее: Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Мед. информ. агентство, 2016. – 792 с.

преимуществу, причиной заболеваний, вызванных этими микроорганизмами, часто являются молоко и молочные продукты, изделия из измельченного мяса. Стоит также сказать, что некоторые штаммы энтерококков используются при производстве таких продуктов, как сыры, кисломолочная продукция и проч.; в этом случае энтерококки не имеют санитарно-показательного значения.

3.3.2. Бактерий рода *Proteus*

Благодаря экологическим исследованиям *К. Канту, Е. Левина, Н.И. Гамовой-Каюковой, Т.М. Федоровой*, посвященных изучению распространенности **бактерий рода *Proteus*** в природе, а также санитарно-микробиологическим исследованиям *М. Стурдза* и его коллег, позволили использовать их в качестве санитарно-показательных микроорганизмов⁵². В соответствии с Определителем Берджи это семейство входит в группу 5 «Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки»⁵³.

Микроорганизмы *p. Proteus* относят к факультативным обитателям толстого кишечника человека, однако, обнаруживаются только у 5-10% здоровых людей, поэтому самостоятельного значения как показателя фекального загрязнения не имеют. Интересно, при этом, что бактерии группы протея широко распространены в природе, они обитают в субстратах, в которых протекают анаэробные процессы гниения. Род включает в себя четыре вида, однако, основными объектами санитарно-пищевой микробиологии являются *P. vulgaris* и *P. mirabilis*. Впервые *Proteus vulgaris* был выделен из гниющего мяса в 1885 г. В настоящее время представители этого рода признаны многими исследователями как возбудители пищевых токсикоинфекций.

Стоит сказать, что благодаря работам *Г.П. Калины* было установлено, что между этими видами существуют выраженные экологические различия. Так, первые чаще всего содержатся в сточных водах пищевой промышленности, богатых органическими веществами, тогда как вторые – в

⁵² См. подробнее: *Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Золотухин С.Н.* Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus* // Вестник Ульяновской ГСХА. 2017. №2 (38). С. 70-75.

⁵³ Прим.: морфологически бактерии группы протея – это мелкие палочки размером (0,4–0,8) (1–3) мкм, грамотрицательные, подвижные (перитрихи), спор и капсул не образуют. По культурально-физиологическим признакам, для большинства штаммов характерен феномен «роения», приводящий к распространению в виде однородной пленки по влажной поверхности питательной среды. Протеи – факультативные анаэробы, обладают дыхательным и бродильным типами метаболизма. Не сбраживают лактозу, большинство штаммов ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа. Выделение палочек протея чаще всего проводят по методу Шукевича посевом 0,1 см³ из разведений исследуемого продукта (от 10⁻¹ до 10⁻⁶) в конденсационную влагу свежескошенного агара в пробирке. После 18-24 ч инкубации при 37 °С на поверхности агара наблюдается характерный вуалевидный сплошной рост палочки протея.

хозяйственно-бытовых сточных водах. Это дает возможность рассматривать *P. mirabilis* в качестве дополнительного показателя фекального загрязнения, а *P. vulgaris* – показателя загрязнения разлагающимися пищевыми органическими субстратами. Обнаружение большого количества последних в объектах внешней среды говорит, таким образом, о развитии в них гнилостных процессов.

Анализ на присутствие *P. vulgaris* проводят при санитарно-микробиологическом исследовании пищевых продуктов для выявления их порчи, воды – для оценки санитарного состояния водоемов в местах сброса сточных вод пищевой промышленности, санитарного состояния почв при загрязнении их органическими отходами, а также при санитарно-микробиологическом исследовании предметов обихода (особенно столовых приборов). Чаще всего выявление и учет бактерий группы протей проводят по эпидемическим показаниям, при этом видовое определение не проводят.

3.3.3. Сульфитредуцирующие клостридии

Clostridium perfringens, также как и энтерококки и кишечные палочки является постоянным и нормальным обитателем кишечного тракта. В качестве санитарно-показательного микроорганизма клостридии были предложены В.Р. Кляйном в 1895 г. Разработанный им энтеритный тест (посев на молоко с последующим его бурным сбраживанием) и классические работы Е.Дж. Вильсона и Е.М. Блера (1924-1925), предложивших железосульфитную среду, позволили легко идентифицировать *C. perfringens*. В соответствии с Определителем Берджи их относят к группе 18 «Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры», роду *Clostridium*⁵⁴. Санитарно-показательное значение имеют, по преимуществу, *C. perfringens* и *C. sporogenes*. Ввиду способности редуцировать (восстанав-

⁵⁴ Прим.: клостридии выделяются в окружающую среду в количестве от 10⁶ до 10⁹ кл/ г фекалий. По морфологии – это крупная палочка размером (5–8) (1–2) мкм, грамположительная, неподвижная, образует эндоспоры. Расположение спор субтерминальное или центральное. В организме человека и животных палочка перфрингенс способна образовывать капсулы. По культурально-физиологическим признакам, глубокие колонии палочки перфрингенс на мясопептонном агаре имеют вид дисков или плотных комочков ваты. На поверхности кровяного агара палочка образует влажные, серовато-зеленого цвета колонии с четкой зоной гемолиза. Обладает свойством восстанавливать сульфиты (сульфитредуцирующая) и обнаруживается на среде Вильсона–Блера в виде черных колоний за счет превращения хлорида железа в сульфат железа. Возбудитель ферментирует почти все сахара с образованием газа. Рост микроорганизма в молоке сопровождается образованием губчатого сгустка, «подбрасываемого» к ватной пробке пробирки за счет газообразования. *C. perfringens* – анаэроб, но может расти в присутствии небольшого количества кислорода. Оптимальная температура роста 37–39 °С. В пищевых продуктах размножается при температуре не ниже 15–20 °С.

ливать) сульфит при росте в сульфитных средах, они получили название – сульфитредуцирующие.

Обнаружение этого микроорганизма свидетельствует как о некогда имевшем место фекальном загрязнении (т.к. эти бактерии образуют споры, что позволяет им длительно сохраняться в окружающей среде), так и о свежем (при единовременном наличии ТКБ). Этот показатель особенно важен при исследовании питьевой воды, воды открытых водоемов, почвы, лечебных грязей, а также пищевых продуктов, т.к. он косвенно указывает на возможно присутствие патогенных клостридий (таких как *C. botulinum* – возбудитель ботулизма, *C. tetani* – возбудитель столбняка).

Кроме того, выявление спор *C. perfringens* рекомендовано при оценке эффективности технологических процессов очистки воды (т.к. споры весьма устойчивы к обеззараживанию хлором и неблагоприятным факторам). Для этой же цели проверяется на наличие спор сульфитредуцирующих клостридий вода при выборе нового источника водоснабжения, а также вода на предприятиях консервной промышленности. Накопление *C. perfringens* в почве опасно как потенциальный источник раневой анаэробной инфекции (газовой гангрены). В свою очередь, пищевые токсикоинфекции, вызванные *C. perfringens* в большинстве случаев связаны с употреблением мясных продуктов (вторые мясные блюда, птица и т. и.), описаны отравления рыбой и молоком⁵⁵.

Стоит сказать, что клостридии, как санитарно-показательные микроорганизмы, обладают одним большим преимуществом, особенно, перед кишечными палочками, – быстрая и технически несложная индикация их в окружающей среде.

3.3.4. Термофилы

Термофилы (от др.-греч. θερμη – тепло и φιλέω – люблю) – достаточно разнородная группа преимущественно спорообразующих бактерий и актиномицетов (грамположительные кокки, бациллы, спириллы и др.), способных активно размножаться при высоких температурах (от 50-60 °С). Они делятся на *облигатных* и *факультативных*: первые (также известные как крайние термофилы) постоянно требуют таких высоких температур

⁵⁵ См. подробнее: Angelotti R., Hall H.E., Foter M.J., Lewis K.H. Quantitation of Clostridium perfringens in foods // Appl Microbiol. 1962 May. Vol. 10(3). pp. 193-199.

для роста, тогда как вторые (умеренные термофилы) – могут расти как при высоких температурах, так и при низких (ниже 50 °С).

Термофильные микроорганизмы выделяются, как правило, из объектов внешней среды (почвы, воды, воздуха, пищевых продуктов и пр.), реже из кишечника человека и животных (при этом их количество в фекалиях обычно бывает небольшим – 10^1 – 10^3 кл/г). В природе термофильные микроорганизмы активно размножаются в подвергающихся самонагреванию скоплениях органических субстратов и в термальных источниках. Соответственно, основным источником заражения исследуемых объектов термофилами являются навоз, разложившиеся фекалии и всевозможные компосты (в т.ч. разлагающийся мусор). Попадая в разнообразные субстраты окружающей среды, имеющие низкую температуру, термофилы пребывают в них практически в латентном состоянии, что позволяет использовать такие микроорганизмы в качестве показателя специфического загрязнения окружающей среды *разлагающимися органическими субстратами*.

На практике, чаще всего этот показатель используют при исследовании почвы. Так, в незагрязненной почве, в целинных почвах термофилы не обнаруживаются или количество их ничтожно, а давнее загрязнение характеризуется высокой численностью термофилов, а также нитрификаторов⁵⁶ и незначительным количеством или полным отсутствием БГКП (ОКБ) и энтерококков. Обнаружение термофилов также проводят при исследовании консервов (показатель эффективности автоклавирования).

3.3.5. Стафилококки

Стафилококки (лат. *Staphylococcus*, от др.-греч. σταφυλή «виноградная гроздь» и κόκκος «зерно, ягода») – это род бактерий семейства *Staphylococcaceae*; в соответствии с Определителем Берджи их относят к группе 17 «Грамположительные кокки»⁵⁷. Стафилококки – это факультативные

⁵⁶ **Прим.:** нитрифицирующие бактерии участвуют в минерализации азотсодержащих органических соединений в водоемах, в почве. Они окисляют аммиак, образующийся при разложении органических соединений аммонифицирующими микроорганизмами, до нитритов (первая стадия нитрификации) и нитратов (вторая стадия). Усиление нитрификационной деятельности происходит обычно во второй фазе самоочищения природных сред, когда накопившиеся к этому времени продукты распада (в основном аммиак) делают возможным усиленное размножение нитрификаторов. Поэтому наличие больших количеств нитрифицирующих бактерий в воде, почве указывает на относительно давнее загрязнение азотсодержащими органическими веществами и интенсивные процессы их распада. В практике санитарно-микробиологических исследований обычно определяют титр нитрификаторов. В сочетании с другими показателями он дает представление о ходе отдельных этапов процесса самоочищения природных сред от азотсодержащих органических веществ

⁵⁷ **Прим.:** по морфологии клетки стафилококков имеют сферическую форму диаметром 0,6–1,2 мкм. В результате деления клеток в трех плоскостях образуются неправильные скопления, напоминающие виноградные гроздья. Они неподвижны, грамположительны, спор и капсул не образуют. По культурально-физиологическим признакам, на мясопептонном агаре стафилококки образуют довольно крупные выпуклые колонии диаметром от 1 до 4 мм, с ровны-

тивны, однако, очень часто обнаруживаемые обитатели организма человека и некоторых теплокровных животных, – по преимуществу, слизистых оболочек верхних дыхательных путей и кожных покровов. В окружающую среду – воздух, на предметы обихода, – стафилококки попадают со слюной и мокротой при разговоре, кашле, чихании, а также с кожи, из мест воспалений и раневых поверхностей. При высыхании выделений из носоглотки находившиеся в них стафилококки могут распространяться воздушно-пылевым путем. Загрязнение воды водоемов стафилококками происходит, соответственно, при купании людей.

В организме человека доминируют *два вида*: коагулазоположительный (он образует фермент коагулазу, вызывающую свертывание плазмы крови) (*S. aureus*) и коагулазонегативные (*S. epidermidis* и *S. saprophyticus*). Наибольшую роль в патологии человека играет *Staphylococcus aureus* – золотистый стафилококк, он же является санитарно-показательным. Впервые он был обнаружен в 1880 г. в городе Абердине (Шотландия) *А. Огстоном* в гное из хирургических абсцессов, а описан – четыре года спустя *О. Розенбахом*. Как возбудители пищевых интоксикаций стафилококки были описаны *Дж. Денисом* в 1894 г.; в 1929 г. результаты его исследований были подтверждены *В.Е. Керн*⁵⁸.

Во внешней среде *S. aureus* не размножается (за исключением пищевых продуктов), однако обладает большой устойчивостью к различным химическим и физическим факторам. Сроки выживания стафилококков во внешней среде могут достигать до 2-3 месяцев в зависимости от температуры, влажности, воздействия солнечного света и др. (см. подробнее пп. 5.3). Поэтому обнаружение в окружающей среде коагулазоположительных стафилококков оптимально расценивать как показатель воздушно-капельного загрязнения. Они применяются в качестве санитарно-показательных микроорганизмов для воздуха закрытых помещений, особенно хирургических, детских стационаров, в отделениях реанимации, родильных отделениях. Увеличение количества санитарно-показательных

ми краями, гладкие, блестящие, реже – шероховатые. При температуре 20-25 °С, доступе кислорода и рассеянном свете стафилококки вырабатывают пигмент золотистого (*S. aureus*), лимонно-желтого (*S. saprophyticus*) или белого (*S. epidermidis*) цвета. По отношению к кислороду воздуха стафилококки являются аэробными или факультативно-анаэробными микроорганизмами. Стафилококки хорошо размножаются на обычных питательных средах с рН 7,2–7,4; оптимальная температура роста 25–37 °С; диапазон температур – от 10 до 45 °С. Гибель микроорганизмов наступает при 80 °С через 20–30 мин. Рост стафилококков задерживается при высоких концентрациях хлорида натрия (> 12 %), сахара (> 60 %) и активной кислотности среды (рН < 4,5).

⁵⁸ См. подробнее: *Hennekinne J.A., De Buyser M-L., Dragacci S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation // FEMS Microbiology Reviews. Vol. 36. Iss. 4. July 2012. pp. 815-836.*

стафилококков в воздухе, на предметах обихода в таких учреждениях свидетельствует о санитарном неблагополучии, а в некоторых случаях – и об эпидемиологической опасности (внутрибольничные инфекции). Стафилококки также являются важным показателем загрязненности воды в зонах рекреации водоемов, плавательных бассейнов.

Относительно пищевых продуктов, то причиной стафилококковых интоксикаций могут служить практически любые из них вследствие того, что этот микроорганизм нетребователен к условиям для размножения и накопления токсинов. Поскольку наличие определенного количества *S. aureus* в пищевых продуктах может привести к тяжелым пищевым интоксикациям, содержание этих микроорганизмов строго нормируется. При этом, преимущество стафилококков как санитарно-показательных микроорганизмов по сравнению, например, со стрептококками заключается в более простой и быстрой индикации первых в окружающей среде, их неприхотливости к питательным средам, высокой резистентности.

3.3.6. Стрептококки

Стрептококки (лат. Streptococcus; от греч. στρεπτός – «цепочка» и греч. κόκκος – «зерно») – это род шаровидных или овоидных аспорогенных (не образуют споры) грамположительных хемоорганотрофных факультативно-анаэробных бактерий из семейства Streptococcaceae; в соответствии с Определителем Берджи их относят к группе 17 «Грамположительные кокки»⁵⁹. Стрептококки являются представителями нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей человека и теплокровных животных. Они постоянно и в большом количестве (до 10^7 кл/мл слюны) присутствуют в полости рта, носу и носоглотке как больных, так и здоровых людей, и поэтому обильно выделяются в окружающую среду при разговоре, кашле, чихании и т.п. Впервые стрептококки были описаны в 1879 г. гениальным французским химиком и микробиологом, о котором мы уже писали выше – *Л. Пастером*. Он выделил эти микроорганизмы в виде «цепочек-бус», из крови больных пuerперальным сепсисом. Примерно в то же самое время *P.*

⁵⁹ **Прим.:** морфологически стрептококки представляют собой сферические или овальные кокки размером 0,6–2,0 мкм, расположенные попарно или короткими цепочками, грамположительные, неподвижные, не образуют эндоспор и капсул. Особенностью энтерококков является их высокая устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды. Они выдерживают нагревание при 65 °С в течение 30 мин, устойчивы к высоким концентрациям хлорида натрия – 6,5–17 % и желчи – до 40 %, остаются жизнеспособными в диапазоне pH 3–12. Эти особенности позволяют дифференцировать роды Enterococcus от Streptococcus и Lactococcus

Кох в Германии наблюдал такие микроорганизмы в гное при раневых инфекциях.

В зависимости от способности разрушать эритроциты стрептококков делят на *три группы*:

– α (альфа)-стрептококки (α -гемолитические, зеленыящие), – не полностью разрушают эритроциты, образуют зеленоватые зоны вокруг колоний при росте на кровяном агаре). На самом деле, это не гемолиз, а трансформация гемоглобина в метгемоглобин. К этой группе относятся, например, стрептококки ротовой полости *S. mutans* (главный возбудитель кариеса), *S. sanguis* и др.⁶⁰;

– β (бета)-стрептококки (β -гемолитические), – вызывают лизис эритроцитов и образуют зону гемолиза вокруг колоний на кровяном агаре). Наибольшее значение в патологии человека имеет *S. pyogenes*.;

– γ (гамма)-стрептококки (негемолитические) – не изменяют кровяной агар. Это сапротрофы, они широко распространены в окружающей среде, например, *S. lactis*, *S. cremoris* и др. В настоящее время в соответствии с Определителем Берджи они отнесены к роду *Lactococcus*.

Альфа-стрептококки присутствуют в слюне и слизи из верхних дыхательных путей почти у 100% здоровых людей и обильно выделяются во внешнюю среду при разговоре, кашле, чихании, загрязняя воздух и другие объекты окружающей среды. Бета-стрептококки, в свою очередь, не относятся к облигатным обитателям дыхательных путей, выделяются только у 25-76% здоровых людей и всегда воспринимаются как потенциальная угроза для своего хозяина и его окружения. Собственно, по этой причине, санитарно-показательными считают суммарно α - и β -гемолитические стрептококки, определение которых говорит о воздушно-капельном загрязнении окружающей среды. Негемолитические γ -стрептококки, не играющие роли в патологии человека и не включены в число санитарно-показательных.

Стрептококки менее устойчивы в окружающей среде, чем стафилококки. Наименее устойчивы α -гемолитические стрептококки, поэтому их считают показателем свежего загрязнения. Однако, индикация и идентификация стрептококков более сложна и трудоемка по сравнению со стафи-

⁶⁰ См. подробнее: Белов Б. С. А стрептококковая инфекция на рубеже веков // Научно-практическая ревматология. 2002. №1. С. 29-34.

лококками, что обуславливает преимущество последних как санитарно-показательных микроорганизмов.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите требования, согласно которым микроорганизмы можно отнести к группе санитарно-показательных.
2. В какую систематическую группу бактерий входят микроорганизмы-сапрофиты, обитающие во внешней среде?
3. Дайте краткую характеристику бактериям рода *Enterococcus*.
4. Какие санитарно-показательные микроорганизмы развиваются в воде?
5. Каков способ загрязнения пищевых продуктов санитарно-показательными микроорганизмами?
6. Дайте краткую характеристику бактериям рода *Proteus*.
7. Кто предложил сульфитредуцирующие клостридии в качестве санитарно-показательного микроорганизма?
8. Дайте краткую характеристику термофилам.
9. Какие виды стафилококков являются доминирующими в организме человека?
10. На какие группы в зависимости от способности разрушать эритроциты делятся стрептококки?

Глава 4. Источники и пути контаминации пищевой продукции патогенными микроорганизмами

4.1. Понятие и классификация контаминации пищевой продукции

Как известно, пищевые продукты представляют собой сложные многокомпонентные системы, включающие сотни химических элементов. Пищевая продукция состоит из природных компонентов, характерные как для растительного, так и животного сырья, из которого она изготовлена, пищевых добавок, специально вносимых в продукты для достижения определенных потребительских свойств. Кроме того, в ней могут присутствовать различного рода *контаминанты*, попадающие в продукцию из окружающей среды. Согласно Кодексу Алиментариус⁶¹, **контаминант** (от лат. contaminant – примесь, также загрязняющий агент) – это загрязнитель, нежелательный биологический агент (микроорганизмы), радиоактивное вещество (радионуклид) или химическое соединение или смесь соединений, обладающих высокой биологической активностью (иммунодепрессант, канцероген, мутаген, тератоген, токсин, ксенобиотик), присутствие которых в сырье и пищевых продуктах может оказывать негативное воздействие на здоровье человека⁶².

Обращаем внимание уважаемого читателя на то, что к контаминантам относятся только те загрязнители, которые попадают в организм *алиментарным путем*, т.е. с пищей. В этом смысле их следует отличать от других ксенобиотиков⁶³ и экотоксикантов⁶⁴, негативно действующих на человека воздушным путем и через кожу.

⁶¹ **Кодекс Алиментариус** (лат. Codex Alimentarius – Пищевой Кодекс) – это свод пищевых международных стандартов, принятых Международной комиссией ФАО/ВОЗ по внедрению кодекса стандартов и правил по пищевым продуктам. Стандарты Кодекса охватывают основные продукты питания – как обработанные и полуфабрикаты, так и необработанные. Кроме стандартов на отдельные виды продукции, кодекс содержит общие стандарты, регламентирующие вопросы маркировки продукции, пищевой гигиены, пищевых добавок, содержания пестицидов, и процедуры исследования безопасности пищевых продуктов и биотехнологий.

⁶² Кодекс Алиментариус. Пищевые добавки и контаминанты. – М.: Весь Мир. 2007. – 532 с.; **См. подробнее:** *Жириева Е., Хайландт Т.* Применение стандартов Codex Alimentarius в Российской Федерации // Пищевая промышленность. 2006. №12. С. 6-9; *Апалькова Г.Д., Ботвинникова В.В.* Мониторинг качества пищевой продукции: обзор состояния вопроса. Часть первая // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2020. №1. С. 5-11.

⁶³ **Ксенобиотики** (от греч. ξένος – чуждый и βίος – жизнь) – условная категория для обозначения чужеродных для живых организмов химических веществ, естественно не входящих в биотический круговорот. Как правило, повышение концентрации ксенобиотиков в окружающей среде прямо или косвенно связано с хозяйственной деятельностью человека. К ним в ряде случаев относят: пестициды, некоторые моющие средства (детергенты), радионуклиды, синтетические красители, полиароматические углеводороды и другие. Попадая в окружающую природную среду, они могут вызвать повышение частоты аллергических реакций, гибель организмов, изменить наследственные признаки, снизить иммунитет, нарушить обмен веществ, нарушить ход процессов в естественных экосистемах вплоть до уровня биосферы в целом.

⁶⁴ **Экотоксикант** (от греч. οἶκος – жилище, местопребывание и τοξικόν – яд) – устойчивые в природных условиях экологически опасные химические вещества, загрязняющие окружающую среду и в концентрациях, которые превы-

Принимая во внимание определение понятия «контаминант», формулируем трактовку термина «контаминация». Так, под **контаминацией** будем понимать непреднамеренное или случайное попадание биологического агента (микроорганизмов, включая вирусы), химического соединения, смеси соединений, обладающих высокой биологической активностью (аллерген, иммуносупрессор, канцероген, мутаген, тератоген, токсин или в общем случае ксенобиотик), радиоактивного вещества (радионуклид), на неживые объекты окружающей среды (продукты питания, предметы обихода, медицинский инструментарий, лекарственные препараты и др.). Учитывая тот факт, что их присутствие в пищевых продуктах и других объектах окружающей среды – неестественно, контаминанты различной природы могут оказывать негативное влияние на организм и, как следствие, нести угрозу здоровью и жизни человека.

Основными путями контаминации пищевых продуктов являются⁶⁵:

- применение пищевых добавок в повышенных дозах или неразрешенных пищевых добавок (красителей, консервантов, антиокислителей);
- использование новых технологий производства пищевых продуктов, в т.ч., при помощи химического или микробного синтеза;
- контаминация (обсеменение) сельскохозяйственных культур и продуктов животноводства пестицидами как средствами борьбы с вредителями растений и профилактики заболеваний животных;
- нарушение гигиенических правил использования в растениеводстве удобрений и оросительных вод, твердых и жидких отходов промышленности и животноводства, сточных вод, осадков очистительных сооружений;
- использование в животноводстве и птицеводстве неразрешенных кормовых добавок, консервантов, стимуляторов роста, медикаментов или применение разрешенных препаратов в повышенных дозах;
- миграция в продукты питания токсических веществ из пищевого оборудования, посуды, инвентаря, тары, упаковок вследствие использования неразрешенных полимерных, резиновых и металлических материалов;

шают естественный уровень, отравляющие находящиеся в ней организмы. Присутствие таких веществ в окружающей среде вызывает гибель населяющих ее организмов, снижение иммунитета, аллергические реакции, изменение наследственности, нарушение естественного хода природных процессов.

⁶⁵ *Полиевский С.А.* Питание спортсменов. Безопасность пищевых продуктов: учебное пособие для вузов / С. А. Полиевский, Г. А. Ямалетдинова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2022. – 122 с. – С. 17.

- образование в пищевых продуктах эндогенных токсинов в процессе термической обработки – копчения, жарения, сушки;
- несоблюдение санитарных правил в технологии производства и хранения пищевых продуктов, что приводит к загрязнению сырья интестинальным содержимым, образованию бактериальных экзотоксинов⁶⁶ (микотоксинов, ботулотоксинов и проч.) и эндотоксинов⁶⁷;
- поступление в продукты питания токсических веществ и радионуклидов из окружающей среды – воздуха, воды, почвы.

В целом, очевидно, что к контаминации пищевых продуктов могут привести различные причины и процессы. Учитывая названные пути заражения пищевых продуктов, их контаминацию можно **классифицировать в зависимости от типа источника** – *антропогенный, природный или смешанный* (см. таблицы 4.1 и 4.2).

Таблица 4.1 – Источники и характер контаминации продуктов питания⁶⁸

Вид сырья	Характер контаминации	Контаминанты
<i>антропогенный источник загрязнения</i>		
растительное сырье	- прямое осаждение на листьях, плодах и других открытых частях растений;	- пестициды, инсектициды, фунгициды, гербициды и проч.;
растительное и животное сырье	- аккумуляция в тканях животных и растений препаратов, используемых для стимуляции роста и лечения;	- гормоны, гормоноподобные вещества, антибиотики, ветеринарные препараты и проч.;
растительное и животное сырье	- образование или накопление в процессе технологической или кулинарной обработки, упаковки, транспортировки;	- полиароматические углеводороды (ПАУ), Н-нитрозамины, фенолы, олово, свинец и проч.

⁶⁶ **Экзотоксины** – вещества, вырабатываемые грамположительными и грамотрицательными бактериями и выделяемые ими в окружающую среду; белки с молекулярной массой 10-900 кДа. Оказывают токсическое воздействие на организм человека, нарушают процессы в клетке, а именно: повышают проницаемость мембран, блокируют синтез белка, нарушают взаимодействия между клетками. Обычно экзотоксины являются неустойчивыми, быстро теряют свою активность под действием тепла, света и химических веществ, но сохраняют иммуногенное свойство. Именно действием экзотоксина обусловлена клиника многих инфекционных заболеваний. Экзотоксины вырабатываются, например, бактериями-возбудителями ботулизма, дифтерии, газовой гангрены, столбняка и другими микроорганизмами грамположительной микрофлоры.

⁶⁷ **Эндотоксины** – бактериальные токсические вещества, которые представляют собой структурные компоненты определенных бактерий и высвобождаются только при лизисе (распаде) бактериальной клетки. Это отличает эндотоксины от экзотоксинов, растворимых соединений, секретируемых живой бактериальной клеткой. Основным примером эндотоксинов является липополисахарид или липоолигосахарид. Липополисахарид грамотрицательных бактерий настолько глубоко исследован и настолько широко применяется как эндотоксин, что часто термины эндотоксин и липополисахарид используются как синонимы.

⁶⁸ Рудков А.Б., Рудакова Л.В. Хромотография в контроле контаминантов в пищевой продукции // Переработка молока. 2017. №9(215). С. 44-49. С. 45.

Вид сырья	Характер контаминации	Контаминанты
растительное и животное сырье	- специальное внесение в конечный пищевой продукт в целях улучшения его потребительских свойств, удлинения сроков хранения и проч.	- пищевые добавки, красители, консерванты, антиокислители, эмульгаторы, ароматизаторы и проч.;
<i>природные источник загрязнения</i>		
растительное и животное сырье	- бактериальная обсемененность и размножение бактерий в благоприятных условиях, как с образованием токсинов, так и без них;	- <i>B. cereus</i> , токсины, <i>Cl. botulinum</i> , сальмонеллы, стафилококковые энтеротоксины и др.
растительное и животное сырье	- поражение паразитами;	- паразиты и продукты их жизнедеятельности;
<i>природный vs антропогенный источник заражения</i>		
растительное сырье	- всасывание через корневую систему из загрязнений почвы;	- соли кадмия, свинца, цинка, компоненты минеральных удобрений, нитраты, нитриты и проч.;
морепродукты	- аккумуляция в тканях моллюсков и рыб загрязнений из сточных вод промышленных предприятий;	- органические соединения ртути, хлорорганические соединения, фикотоксины и проч.;
животное сырье, молоко и продукты его переработки	- аккумуляция в тканях и молоке при употреблении контаминированных кормов;	- микотоксины: афлатоксины, охратоксины; и проч.
вода	- загрязнение источников питьевой воды, при транспортировке и в технических процессах;	- тяжелые металлы, организацией вещества, ПАВ и проч.

Таблица 4.2 – Пути попадания контаминантов в пищевую продукцию⁶⁹

Стадии жизненного цикла продукции	Субъекты воздействия	Контаминант
стадия получения пищевого сырья	- объекты окружающей среды;	- пестициды, ветпрепараты и метаболиты, природные токсины, токсичные и следовые элементы, аллергены;

⁶⁹ Рудков А.Б., Рудакова Л.В. Указ. соч. С. 46.

Стадии жизненного цикла продукции	Субъекты воздействия	Контаминант
стадия переработки пищевого сырья	- технологическое оборудование, обоснованные компоненты рецептуры и добавки;	- токсичные элементы, фальсифицирующие добавки, наночастицы;
стадия упаковки готового продукта или полуфабриката	- упаковочные материалы, компоненты из тары;	- тяжелые металлы, бисфенол А, мономеры, пластификаторы, наночастицы, соединения с эстрогенной активностью;
стадия хранения	- микроорганизмы;	- микотоксины и проч.

Природные (биологические) контаминанты – это нежелательные организмы (патогенные и условно-патогенные бактерии, микроскопические грибы и проч.), а также продукты метаболизма (микотоксины, вырабатываемые некоторыми видами микроскопических плесневых грибов, токсины бактерий, фито- и фикотоксины). К **антропогенным (химическим) контаминантам**, как правило, относят разнообразные неорганические и органические химические соединения или их смеси, обладающие высокой биологической активностью, присутствие которых в пищевых продуктах может серьезно ухудшить здоровье или даже привести к летальному исходу (тяжелые металлы, диоксины, радионуклиды и проч.). В качестве примеров таких веществ можно привести *соединения мышьяка, тяжелых металлов* (медь, олово, ртуть, свинец и проч.), *поверхностно-активные вещества* (моющие средства или детергенты), *пестициды, удобрения и регуляторы роста растений и животных* (нитраты, нитриты, N-нитрозосоединения, антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны, гормональные препараты, транквилизаторы, антиоксиданты и проч.), *нефтепродукты* (топливо, смазочные масла, бензол и его производные), искусственные непищевые красители, лаки и краски, продукты сгорания, полициклические ароматические амины и проч.⁷⁰.

4.2. Источники контаминации пищевой продукции

Несмотря на многообразие и разнообразие видов микроорганизмов, широко распространенных, в т.ч. во внешней среде, пищевые продукты в

⁷⁰ См. подробнее: Роева Н.Н. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания: учебное пособие. – СПб.: Троицкий мост, 2011. – 256 с.; Донченко Л.В. Безопасность пищевой продукции. В 2 ч. Часть 1: учебник для вузов / Л. В. Донченко, В. Д. Надькта. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2022. – 264 с.

нормальных условиях содержат небольшое количество микробных групп, своеобразие и количество которых определяется свойствами сырья и специфическими особенностями продукта, формируя своего рода экологическую нишу для развития наиболее приспособленных к этим условиям популяций. Этот природный микробиоценоз пополняется и видоизменяется за счет внешних источников контаминации, характерных для определенных групп. Рассмотрим их подробнее.

4.2.1. Молоко и молочные продукты

Сырье молоко здоровых животных содержит, по преимуществу, сапрофильную микрофлору родов *Micrococcus*, *Streptococcus* и *Corynebacterium*. В случае заболевания животных маститом, вне зависимости от этиологии, в молоке наиболее часто присутствуют микроорганизмы *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas spp.*

В процессе доения, дальнейшей обработки, сбора и хранения может происходить загрязнений сырого молока энтеробактериями и микроорганизмами родов *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*. В зависимости от условий получения молока в нем могут превалировать колиформы, в частности, *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Cl. Perfringens*, что будет свидетельствовать о неудовлетворительном санитарном состоянии на фермах и фекальном загрязнении сырья.

Дополнительным источником контаминации сырого молока бактериями родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, может стать доильное оборудование, инвентарь и вспомогательные материалы. Среди таких микроорганизмов будут преобладать психротрофные виды, которые развиваются при хранении сырого охлажденного молока (до пастеризации). Важно заметить, что, при этом, они также могут продуцировать *термостабильные ферменты* – протеиназы и липазы, отрицательно влияющие на качество сырья и готовых продуктов. В ряде случаев, при контаминации внешней среды возбудителями зоонозов в молоко могут попадать эмерджентные патогенные микроорганизмы, в частности, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*. Психротрофные патогены *L. monocytogenes* и *Yersinia enterocolitica* могут размножаться при хранении сырого охлажденного молока, и иногда их количество может достигать уровней, опасных в смысле контаминации объектов, контактирующих с сырьем в процессе переработки.

В свою очередь, в пастеризованном молоке также могут обнаруживаться микроорганизмы, выдержавшие температурные режимы тепловой обработки, а именно *Enterococcus faecalis*, термофильные стрептококки, термоустойчивые молочнокислые палочки, споры *Clostridium* и проч. Кроме того, микроорганизмы попадают из внешних источников внешней среды, в частности, с оборудования. По преимуществу, это бактерии других грамотрицательных микроорганизмов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* (см. подробнее пп. 12.1).

4.2.2. Мясо и мясные продукты

Так, состав и количественный уровень микрофлоры сырого мяса определяется условиями забоя и способами разделки туш, однако, приоритетная роль все же отводится степени загрязнения кожных покровов убойных животных, шкур, меха и проч., санитарному состоянию оборудования и инструментов, соблюдению правил личной гигиены работниками цехов. Поверхностное микробное загрязнение мяса животных и птиц, как правило, колеблется в значительных пределах, достигая 10^3 - 10^5 КОЕ/см². В состав микробных контаминантов могут входить *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *S. aureus*. Тушки птиц, по преимуществу, контаминированы бактериями родов *Salmonella* и *Campylobacter*, которые попадают туда из содержимого кишечника, причем частота обнаружения сальмонелл в мясе птицы выше, чем в мясе убойных животных. Кампилобактеры обнаруживаются в 40-60% проб сырых птицепродуктов⁷¹.

Стоит сказать, что для большинства зоонозных инфекций, в частности, сальмонеллы и кампилобактериоза, первостепенное значение имеет загрязнение сырья именно интестинальным (intestinalis, от лат. *intestinum* – кишка) содержимым в процессе его производственной разделки и обработки. При этом, доказательно, что уровень вторичной контаминации находится в прямой зависимости от интенсивности заражения и степени бактерионосительства птиц и животных. Так, например, по данным Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (англ. Food and Drug Administration, FDA), частота выделения сальмонелл в

⁷¹ См. подробнее: *Humphrey T., O'Brien S., Madsen M.* Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective // *Int. J. Food Microbiol.* 2007. Vol. 117. №3. pp. 237-257; *Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Стеценко В.В. и др.* Изучение характера контаминации и уровней содержания бактерий рода *Campylobacter* в отдельных видах пищевой продукции // *Вопросы питания.* 2016. Т. 85. № 5. С. 52-59.

2000 г. в США в среднем составляла 5% от общего количества (более 4 тыс.) исследованных проб пищевого сырья⁷².

Исследования доказывают, что одним из основных пищевых источников бактерий рода *Salmonella* все-таки выступает контаминированное куриное мясо. Так, в Ирландии при исследовании более 200 цыплят-бройлеров на птицефабрике сальмонеллы были выделены в 23% случаев; анализы проводили путем прямого посева инфицированного материала или с поверхности тушек. При изучении загрязненности куриного мяса-сырья в ЮАР было обнаружено, что более 19% тушек бройлеров обсеменено бактериями рода *Salmonella*, 32% проб – *S. jejuni*, и около 20% – *L. monocytogenes*. В свою очередь, при исследованиях говядины-сырья от 4 до 16% образцов были контаминированы шигатоксинпродуцирующими *E. coli*. При использовании в переработку сырой говядины возбудителей O157:H7 выделяли из гамбургеров и других мясопродуктов на основе говяжьего фарша. В США и Канаде в отдельные годы говяжий фарш являлся фактором передачи VTEC-инфекций⁷³ в 20% и более случаев⁷⁴.

Важно понимать, что загрязнение интестинальным содержимым приводит не только к микробному обсеменению поверхности тушек птиц, но и служит основной причиной попадания возбудителей в скорлупу куриных яиц, т.е. при общем уровне бактериальной контаминации, как правило, достигающем 10^7 КОЕ/см², вероятность присутствия патогенов на ее поверхности крайне велика. Это, в первую очередь, относится к заражению яиц и, соответственно, яичных продуктов сальмонеллами эпидемических серотипов⁷⁵, наряду с которыми могут обнаруживаться бактерии и других групп, в частности, *Proteus*, *Citrobacter*, *E. coli*, *Enterobacter*, *Enterococcus*. Кроме того, через поры в скорлупе могут проникать и некоторые подвижные грамотрицательные бактерии – с загрязненной поверхности в содержимое

⁷² Shao-hua Zhao, Atin R. Datta, Sherry Ayers et al. Antimicrobial-resistant Salmonella serovars isolated from imported foods // Intern. J. of Food Microbiol. 2003. Vol.84. Iss. 1. pp.87-92.

⁷³ **Энтерогеморрагические E. coli**, выделяющие шига-токсин (синоним веротоксин), обозначаются STEC (VTEC) – это патогенные штаммы бактерий, относящиеся к виду *Escherichia coli*, являющиеся возбудителями эпидемических вспышек геморрагических колитов у взрослых.

⁷⁴ Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А., Нутяга И.М., Станкевич А.А., Романенко О.С. Наиболее значимые виды микроорганизмов в отдельных группах пищевых продуктов // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2019. №4(32). С. 417-427. С. 417.

⁷⁵ **Серовар** (серовариант, серологический вариант), также **серотип** – это группа микроорганизмов одного вида, объединяемых общей антигенной структурой, определяемой серологическими методами диагностики. Серовар не является таксономической категорией и позволяет систематизировать патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, что необходимо в эпидемиологических исследованиях. Их систематизация ведется на основе вирулентности, липополисахаридов (ЛПС), грамотрицательности, присутствия экзотоксинов, генетических особенностей или других факторов, позволяющих различить двух особей одного вида

Относительно готовых мясопродуктов, сосисок, колбас и проч., вырабатываемые с использованием низкотемпературного нагрева (70°C), могут выживать некоторые термотолерантные бактерии и споровые аэробы или анаэробы, количество которых, как правило, не превышает 10² КОЕ/г. В зависимости от способа производства и, соответственно, хранения, эти продукты в дальнейшем могут контаминироваться различными видами бактерий, например, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Serratia*, *Clostridium* и другими мезофильными микроорганизмами, а также психрофилами (криофилами), преобладающими при низких температурах хранения продуктов (см. подробнее пп. 13.1).

4.2.3. Растительные продукты

Овощи и фрукты являются традиционно преобладающим компонентом рациона населения, вне зависимости от возраста, социального и экономического статуса; потребление растительных продуктов возрастает с каждым годом, в частности ввиду широкого внедрения основ современной диетологии и трендов развития органического сельского хозяйства. Особое внимание, при этом, уделяется использованию овощной и фруктовой продукции в свежем или минимально обработанном виде, что, соответственно, повышает степень риска возникновения заболеваний, вызванных, в частности, микробными контаминантами.

Известно, что растительные продукты – это невероятно богатые углеводами субстраты, пригодные и для развития различного рода микроорганизмов, в т.ч. болезнетворных эмерджентных патогенов. Так, по некоторым данным⁷⁸, в последние годы регистрируется большое количество вспышек пищевых инфекций, связанных с употреблением салатов, пророщенных семян злаковых и бобовых культур, фруктовых соков и овощных блюд, инфицированных в процессе сбора урожая, приготовления и хранения готовой продукции. Как правило, микроорганизмы попадают в овощи и фрукты из почвы, воды, воздуха, от диких и домашних животных, птиц, а также с поверхностей используемого оборудования. Листовые овощи чаще всего загрязняются воздушным путем, а корнеплоды, соответственно,

⁷⁸ См. напр.: Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Батищева С.Ю., Минаева Л.П., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Шилов Г.Ю., Шевелева С.А. Изучение особенностей микробной контаминации свежих овощей и листовых салатов промышленного изготовления // Вопросы питания. 2014. №5. С. 33-42; Bintsis T. Foodborne pathogens // AIMS Microbiol. 2017 Jun 29. Vol. 3(3). pp.529-563; Alegbeleye O., Odeyemi O.A., Strateva M., Stratev D. Microbial spoilage of vegetables, fruits and cereals // Applied Food Research. 2022. Vol. 2. Iss. 1. pp. 100-122.

через почву, особенно при неправильном использовании органических удобрений.

Уровни микробной контаминации, при этом, различаются; конечно, многое зависит от природных условий, способов выращивания и сбора урожая (10^3 - 10^5 микроорганизмов на 1 см^2 или 10^4 - $10^7/\text{г}$). Относительно качественного состава микрофлоры, то она представлена различными споровыми аэробами и анаэробами, лактобактериями, микроорганизмами родов *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*. Особое место в растительной экосистеме занимают конечно же плесневые грибы родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*. Однако, наиболее опасными микроорганизмами, присутствующими в растительном сырье, являются энтомопатогенные бактерии, попадающие в почву и растения из поливных вод, навоза и других отходов жизнедеятельности человека и животных. Особую значимость, при этом, имеют зоонозные и зооантропонозные возбудители эмерджентных пищевых инфекций, к примеру, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*, патогенные *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*. В поврежденных фруктах и овощах доминируют фитопатогенные виды *Erwinia spp.* (*Pantoea spp.*).

Важно понимать, что значительная часть растительной микрофлоры вызывает порчу продуктов в процессе переработки и хранения, тогда как некоторые виды бактерий служат причиной возникновения вспышек пищевых инфекций (листериоз, ботулизм и проч., см. подробнее пп. 11.1-11.2). Существенную роль в естественной ферментации овощей (например, квашению капусты и проч.) играют молочнокислые бактерии.

Касательно фруктов, в особенности тех, которые содержат большое количество легкодоступных углеводов с низким значением pH, представляют собой благоприятную среду для роста различных плесеней, дрожжей и лактобактерий (10^3 - 10^6 микроорганизмов на 1 г). При нарушении технологии сбора и хранения происходит значительное накопление микробных популяций или пищевые заболевания. Естественная поверхностная микрофлора фруктовых плодов и ягод принимает участие в процессах спиртового брожения и используется в производстве различных алкогольных напитков.

Растения – продуценты сахаристых веществ (сахарный тростник, сахарная свекла), как правило, загрязнены термофильными спорами *Bacillus stearothermophilus*, *B. coagulans*, а также мезофильными бактериями

Lactobacillus, *Leuconostoc*, дрожжами и плесневыми грибами. Эти микроорганизмы способны выживать в процессе производства сахара и попадать в кондитерские или другие пищевые продукты и напитки, вызывая их порчу. Посторонние микроорганизмы родов *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, плесневые грибы и дрожжи в количестве, суммарно превышающем 10^6 - 10^7 клеток в 1 г также могут обнаруживаться и в группе **растительных специй и пряностей** (см. подробнее пп. 15.5). По преимуществу, это связано с отсутствием эффективных способов деконтаминации, не влияющих на органолептические показатели вкусовых добавок. Хотя, некоторые виды приправ обладают антимикробными свойствами (чеснок, хрен, аджика и проч.).

Несколько слов также следует сказать о **зерновых культурах**; их микрофлора представлена широким бактериальным спектром контаминантов и большим числом видов плесневых грибов, в числе которых встречаются токсигенные кадры – продуценты микотоксинов. Среди бактериальных видов особенно стоит отметить споровые аэробы *Bacillus cereus*, которые способны продуцировать ряд экстрацеллюлярных токсинов, в первую очередь эметический токсин цереулид. К факторам, способствующим накоплению токсина, можно отнести некоторые технологические параметры производства и хранения продукции, которые создают благоприятные условия для прорастания спор *B. Cereus*, в особенности при отсутствии конкурирующей вегетативной микрофлоры (т.е. пастеризация при щадящих температурных режимах, хранение при нерегулируемой температуре, высокая влажность и проч.) В свою очередь, присутствие в зерновых продуктах спорообразующих аэробных микроорганизмов *Bacillus mesentericus* приводит к повышенному риску накопления в них штаммов – возбудителей «картофельной болезни» хлеба⁷⁹ в случаях заражения муки большим количеством этих контаминантов.

⁷⁹ **Картофельная болезнь** – это бактериальная порча хлебобулочных изделий, проявляющаяся первоначально в виде неприятного специфического запаха, далее сопровождающаяся потемнением и разрушением мякиша хлеба ферментами бактерий. См. подробнее: Юдина М.А., Мустафин А.Х., Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Меркулов А.В., Бахаровская Е.О. Диагностика картофельной болезни хлеба, вызываемой бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* // Вестник Ульяновской ГСХА. 2011. №3 (15). С. 61-67; Медведев П. В., Федотов В. А. Факторы обсеменности зерна спорами *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* // Вестник ОГУ. 2011. №12 (131). С. 341-343; Икрами М.Б., Шарипова М.Б. Влияние гороховой закваски на развитие картофельной болезни хлеба // МНИЖ. 2020. №2-1 (92). С. 94-97.

4.2.4. Рыба и морепродукты

Микробиотные популяции, присутствующие в морской или пресноводной рыбе, крабах, моллюсках, креветках, кальмарах и других объектах – представителях **водных биологических ресурсов**, в значительной мере определяются составом и свойствами акваторий, а также температурой окружающей среды и сезонными колебаниями климатических факторов. Контаминанты, при этом, представлены не только большим разнообразием групп бактерий, но и вирусами, паразитами и простейшими. Интересно будет заметить, что мышечная ткань рыбы и ракообразных в норме стерильна, однако чешуя, жабры и кишечник обильно заселены микроорганизмами, численность которых может достигать 10^3 - 10^8 бактериальных клеток в 1 г. В процессе питания моллюски фильтруют большие объемы воды, концентрируя, таким образом, в тканях бактерии и вирусы. В целом же, морепродукты загрязнены галофильными вибрионами, в частности, патогенными *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio vulnificus*; также в них присутствуют *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* и колиформы.

Рыба и морепродукты из водоемов, в которые попадают сточные воды, могут быть заражены патогенами родов *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, а также вирусами гепатита А и норовирусами. Кроме того, они могут содержать возбудителей оппортунистических инфекций *Aeromonas hydrophila* и *Plesiomonas shigelloides*. Безусловно, учитывая то, что большинство названных контаминантов являются психротрофными бактериями, они могут активно размножаться при хранении готовых рыбных и морепродуктов в условиях низких температур и длительное время оставаться жизнеспособными (см. подробнее пп. 15.1).

4.2.5. Соки и напитки

Говоря о микрофлоре **безалкогольных напитков**, фруктовых, ягодных и овощных **соках**, стоит сказать, что присутствие органических кислот (рН в пределах 2,5-4,5), а также моно- и дисахаридов способствует развитию в них кислотоустойчивых и осмоотолерантных микроорганизмов⁸⁰, в частности, дрожжей, плесневых грибов, молочнокислых и уксусных бактерий (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*); в газирован-

⁸⁰ **Осмоотолерантные микробы** – микроорганизмы, в т.ч. бактерии, способные развиваться в средах с достаточно широким диапазоном осмотического давления. Осмоотолерантность организмов обусловлена тем, что осмотическое давление внутри клеток таких микробов всегда выше осмотического давления раствора внешней среды.

ных напитках могут расти микроаэрофильные бактерии (грибы, которым для дыхания необходимо малое количество кислорода). Говоря непосредственно о фруктовых соках, то чаще всего в них офранцузиваются плесневые грибы, дрожжи, молочнокислые палочки *Lac. fermentum*, *Lac. plantarum*, *Leu. mesenteroides* и уксуснокислые бактерии. Порча напитка, как правило, обусловлена также кислостойчивыми спорообразующими видами *Alicyclobacillus spp.* Стоит сказать, что некоторые штаммы патогенов, например, кислототолерантные сальмонеллы и *E. coli* O157:H7, могут оставаться жизнеспособными в апельсиновом и яблочном сидре в течение длительного времени (более 30 суток). Овощные соки могут быть загрязнены плесневыми грибами, дрожжами, молочнокислыми бактериями в ассоциациях с *Bac. coagulans*, *Cl. butyricum*, *Cl. pasteurianum* (см. подробнее пп. 15.4).

Бутилированная вода, произведенная в нормальных санитарных условиях, не должна содержать выше 10-100 бактерий на 100 мл при отсутствии в таком объеме колиформ и патогенных микроорганизмов. Индигенная (т.е. постоянная) микрофлора питьевой воды, как правило, включает в себя бактерии родов *Flavobacterium*, *Alcaligenes* и *Micrococcus*. Обнаружение *Pseudomonas* будет говорить о загрязнении извне и, соответственно, о неудовлетворительном санитарно-гигиеническом качестве воды.

4.3. Индикаторы бактериальных патогенов: санитарно-показательные микроорганизмы

В целом, как мог заметить уважаемый читатель, разнообразие и специфические особенности микробных популяций пищевых продуктов определяются, по преимуществу, источниками попадания контаминантов, а также физико-химическими параметрами и питательными свойствами пищевых субстратов и, конечно же, санитарными условиями производства и хранения готовой продукции. Большинство из них – возбудителей пищевых инфекционных заболеваний и отравлений – считаются кишечными патогенами (исключение составляют *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Cl. perfringens* и микотоксигенные грибы), т.е. они могут выживать и (или) размножаться в желудочно-кишечном тракте человека, сельскохозяйственных животных и птиц. Загрязненная (прямо или косвенно) фекальными материалами пища, теоретически может содержать

один и более таких патогенов, а следовательно, становится потенциально опасной для человека.

Для того, чтобы с определенной долей уверенности говорить о безопасности пищевых продуктов конкретной группы, в первую очередь, необходимо достоверно знать об отсутствии в них таких возбудителей как *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli O157:H7*, *Yersinia enterocolitica* и др. Важно понимать, что способы выделения и количественного учета кишечных патогенных микроорганизмов длительны, трудоемки и многоэтапны, ввиду чего для экспресс-диагностики требуется наличие адекватных маркеров – индикаторов фекального загрязнения и возможного присутствия патогенов в различных группах пищевых продуктов. Мы говорим о СПМ, которые, как правило, представляют собой группы бактерий кишечного происхождения (т.е. первой группы), количество которых и способность выживать во внешней среде косвенно указывает на вероятность загрязнения исследуемых объектов патогенами.

К критериям, согласно которым подбираются **индикаторные санитарно-показательные группы микроорганизмов** относятся следующие (см. рисунок 4.1). Учитывая данные критерии, в санитарно-пищевой микробиологии в качестве индикаторов определяются следующие группы бактерий: колиформы, фекальные колиформы, *E. coli*, бактерии семейства *Enterobacteriaceae* и энтерококки. В зависимости от специфики микробной контаминации исследуемого продукта используют один или несколько показателей, к примеру, масса продукта, в которой не допускаются колиформы или *E. coli*, количество энтерококков в 1 г продукта и др.

Методы, рекомендованные для детекции колиформ, фекальных колиформ и *E. coli*, основываются на их способности ферментировать лактозу с образованием газа и кислоты. Однако, ввиду того, что у многих представителей семейства *Enterobacteriaceae* данный признак как таковой отсутствует, равно как и у большинства кишечных патогенов, в т.ч. у основных серотипов сальмонелл, в санитарно-пищевой микробиологии европейских стран принята концепция использования в качестве индикативных СПМ практически всех бактерий этой группы (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Serratia*, *Morganella*, *Rahnella* и др.), главным дифференцирующим признаком которых является способность ферментировать глюкозу.

⇒ наличие общих биохимических или иных характеристик, позволяющих дифференцировать их от других групп сопутствующей микрофлоры даже при массивных дозах контаминации пищи бактериями нецелевых групп;

⇒ индикатор должен быть кишечного происхождения и иметь тот же резервуар, что и патогенные бактерии;

⇒ индикатор не должен быть патогенным и не требовать специальных мер защиты при лабораторных испытаниях;

⇒ индикатор должен присутствовать в фекальных материалах в значительно большем количестве, нежели патогены, и его обнаружение не должно сопровождаться большими затратами времени и вызывать каких-либо затруднений;

⇒ наличие одного или нескольких альтернативных методов ускоренной диагностики, в том числе с использованием молекулярных тестов;

⇒ скорость роста и условия размножения бактерий индикаторных групп в пищевых продуктах должны соответствовать таковым у кишечных патогенов, чувствительность к сублетальным стрессам так же должна быть практически одинаковой;

⇒ наличие достаточной тесной корреляционной зависимости между присутствием (или отсутствием) индикаторов и патогенов в пище, что обуславливает возможность нормировать допустимые уровни СПМ для конкретных групп продуктов.

Рисунок 4.1 – Индикаторные санитарно-показательные группы микроорганизмов

Конечно, такой подход неоднократно подвергался критике, т.к. отнюдь не все представители рода *Enterobacteriaceae* имеют фекальное происхождение, выступая естественными обитателями внешней среды, почвы, воды, растений и проч., а значит их присутствие не всегда адекватно возможности обнаружения возбудителей кишечных инфекций. Однако, с полной уверенностью можно говорить о том, что результаты комплексного изучения свойств и распространенности микроорганизмов, их роли в возникновении заболеваний с пищевым путем передачи позволяют выявить степень микробиологического риска, связанного с употреблением пищевых продуктов различных групп, определить ключевые принципы и схемы контроля безопасности производственных процессов и готовой продукции.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение понятию «контаминант».
2. Каковы основные пути контаминации пищевых продуктов?
3. Назовите три типа источников контаминации пищевых продуктов.
4. Перечислите основные пути попадания контаминантов на пищевые продукты.
5. Что из себя представляют природные и антропогенные контаминанты?
6. Каковы основные источники контаминации молока?
7. Каковы основные источники контаминации овощей и фруктов?
8. В каких пищевых продуктах наиболее часто встречаются сальмонеллы?
9. Какие микроорганизмы наиболее распространены в бутилированной воде?
10. Какие индикаторные санитарно-показательные группы микроорганизмов Вы знаете?

РАЗДЕЛ 2. КРИТЕРИИ РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ. МЕТОДЫ ПРЕДОХРАНЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ОТ МИКРОБИОТНОЙ ПОРЧИ

Глава 5. Свойства пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов

5.1. Классификация микроорганизмов пищевых продуктов

Наука о разнообразии организмов и их взаимодействии называется **систематикой**⁸¹. Ее основными задачами является описание, определение видов и их классификация, а также восстановление путей эволюции развития организмов. Сами системы⁸² подразделяются на *искусственные, естественные и филогенетические*. В первых объединение видов строится на основе одного или нескольких общих морфологических признаков. Однако, стоит сказать, что такие системы не всегда отражали генетические связи между группами организмов. Своего рода апогеем искусственных систем стала система органического мира, созданная шведским естествоиспытателем *Карлом Линнеем* еще в XVIII в. В ней бактерии и другие организмы были отнесены к XXIV классу, получившему название «хаос». Естественные системы основаны на сходстве большого количества признаков, т.е. не только морфологических. На основе данных систем, в свою очередь, создаются филогенетические, в которых отражаются эволюционные связи между организмами.

В настоящее время для **классификации микроорганизмов**⁸³, собственно, как и других живых существ, применяются различного рода методики, хотя наиболее объективным считается **метод анализа ДНК** (см. **подробнее пп. 1.1**). Стоит сказать, что процентное содержание суммы гуанина и цитозина ($G + C$) в ДНК использовалось в бактериальной таксономии⁸⁴ довольно долгий период времени, а возможность ее использования в комбинации с анализом последовательностей 16S- и 5S-рРНК делает этот метод еще более ценным и значимым. В самом общем виде, при использовании анализа 16S-рРНК грамположительные зубактерии (простые неспо-

⁸¹ См. подробнее: *Леванова Л.А., Захарова Ю.В.* Систематика, таксономия и классификация бактерий // *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2017. №1. С. 91-101.

⁸² **Систематика** (греч. *systema* – целое, составленное из частей; *systematicos* – упорядоченный) – биологическая наука, которая занимается всесторонним описанием микроорганизмов, выяснением степени родства между ними и распределением на соподчиненные группы. Цель систематики – создать классификацию.

⁸³ **Классификация** (лат. *classis* – разряд, группа) – это процесс разделения множества организмов на основании общих признаков на определенные таксономические группы.

⁸⁴ **Таксономия** (греч. *taxis* – расположение по порядку, закон) – это раздел систематики, изучающий принципы и методы распределения (классификации) организмов в иерархическом порядке.

рообразующие и спорообразующие бактерии, актиномицеты) делятся на уровне типа: одна группа с $G + C > 55$ мол. %, другая с $G + C < 55$ мол. %. Первая группа включает в себя роды *Streptomyces*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* и др., вторая – роды *Clostridium*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Erysipelothrix* и др. В случае, если количество $G + C$ у двух организмов различаются более чем на 10%, они не имеют ничего общего в последовательностях нуклеотидных оснований.

Полная последовательность ДНК организма, как полагают ученые, рано или поздно будет признана эталонной системой для бактериальной таксономии. На конкретный момент времени известно, что бактериальные виды могут быть разделены в филогенетическом отношении⁸⁵ при помощи результатов **ДНК-ДНК-гибридизации**⁸⁶, где вид определяется как группа штаммов, уровень ДНК-ДНК-гомологии которых – 70% и более, а точка плавления поднимается на 5°C и ниже. При использовании данного метода важно учитывать фенотипические характеристики, за исключением некоторых случаев. Род, как предполагают, труднее определить филогенетически, минимальным уровнем ДНК-ДНК-гомологии для него является 20%. Если отсутствует в определенной мере удовлетворительное филогенетическое определение бактериального рода, длительное применение методов анализа нуклеиновых кислот, наряду с другими используемыми методами должно в результате привести к филогенетически обоснованной системе бактерий. Можно ожидать, что будут происходить изменения в существующих таксонах⁸⁷.

В рамках настоящего параграфа мы познакомим уважаемого читателя с **тремя группами микробиоты пищевых продуктов** – это протеобактерии, плесневые грибы и дрожжи⁸⁸.

⁸⁵ **Филогенетическая таксономия** – принцип учета исторического развития мира и эволюционных преобразований. Филогенетическими маркерами служат рРНК, в первую очередь – 16S-рРНК, а взаимоотношения организмов наглядно изображают графически в виде филогенетических деревьев

⁸⁶ **Гибридизация ДНК, гибридизация нуклеиновых кислот** – это соединение *in vitro* комплементарных одноцепочечных нуклеиновых кислот в одну молекулу. При полной комплементарности объединение происходит легко и быстро, а в случае частичной некомплементарности слияние цепочек замедляется, что позволяет оценить степень комплементарности. Возможна гибридизация ДНК-ДНК и ДНК-рРНК.

⁸⁷ **Таксон** – группа микроорганизмов, объединенных по определенным свойствам в рамках той или иной таксономической категории.

⁸⁸ **См. также:** *Емцев В.Т.* Микробиология: учебник для СПО / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. – 8-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2022. – 428 с. – С. 52-76.

5.1.1. Бактерии, встречающиеся в пищевых продуктах

В пищевых продуктах наиболее широко распространены грамотрицательные бактерии (1534 вида, что составляет треть из всех известных видов бактерий), принадлежащие к классу *Proteobacteria*, выделенный благодаря колоссальному количеству исследований нуклеотидных последовательностей рДНК многочисленных родов грамотрицательных бактерий⁸⁹. Это чрезвычайно разнообразная в морфологическом, физиологическом и биохимическом смысле группа бактерий, для представителей которых характерны все типы энергетического метаболизма и питания. Клетки большинства видов протеобактерий характеризуются, во-первых, палочковидной, сферической или вибриоидной формой; во-вторых, размножением путем бинарного деления (для некоторых видов – почкование и образование плодовых тел в сложном клеточном цикле).

На основании различий в нуклеотидных последовательностях 16S-рРНК класс протеобактерий разделяется на **пять подклассов**: α , β , γ , δ и ϵ . Результатом исследований уникальных участков нуклеотидных последовательностей (инсерционных вставок и делеций) генов различных белков и были выявлены эволюционные отношения *Proteobacteria*. Считается, что самые первые прокариоты возникли 3,5-3,8 млрд. лет назад. К родам протеобактерий, чаще всего встречающимся в пищевых продуктах (некоторые из них желательны в определенных продуктах, а некоторые – вызывают порчу или являются возбудителями болезней) относятся представители подкласса гамма-протеобактерий (γ -подкласс)⁹⁰:

– **α -подкласс**: в этот класс включено большое количество фототрофов, а также симбионтов эукариот (*Rhizobium*), облигатных внутриклеточных паразитов (риккетсии, вольбахии), уксуснокислых бактерий (*Acetobacter*, *Gluconacetobacter*), бактерий, способных к спиртовому брожению (*Zymomonas mobilis*), метилотрофов (*Methylobacteriaceae*). Наиболее яркими представителями альфа-протеобактерий являются: *Acetobacter*, *Asaia*, *Brevundimonas*, *Devosia*, *Gluconobacter*, *Paracoccus*, *Pseudoaminobacter*, *Sphingomonas*, *Xanthobacter*, *Zymomonas*;

⁸⁹ **Прим.:** грамотрицательные бактерии, согласно филогенетической классификации, представлены не только крупной группой Proteobacteria, но и 20 группами других бактерий с данным типом клеточной стенки. Кроме протеобактерий, к грамотрицательным относятся и другие группы эубактерий: водородные термофилы, зеленые серные бактерии, зеленые нитчатые бактерии, цианобактерии, цитофаги, спирохеты, бактериоиды, хламидии, дейнококки, хлорофлексусы, планктомицеты, фузобактерии, термодесульфобактерии, фибробактерии.

⁹⁰ **См. подробнее:** Кисленко В. Н. Пищевая микробиология: микробиологическая безопасность сырья и продуктов животного и растительного происхождения: учебник / В.Н. Кисленко, Т.И. Дячук. – М.: ИНФРА-М, 2023. – 257 с.

– **β-подкласс:** в этот класс входят аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, также хемоорганогетеротрофы, и хемолитоавтотрофы (например, нитрификаторы I стадии *Nitrosomonadaceae*, тионовые бактерии *Thiobacillus*), фототрофные роды (*Rhodocyclus* и *Rubrivivax*). Также в эту группу включены возбудители инфекций: *Burkholderia mallei* (возбудитель сапа) и *Burkholderia pseudomallei* (возбудитель мелиоидоза), *Bordetella pertussis* (возбудитель коклюша) и род *Neisseria* (возбудители менингита и гонореи). Наиболее яркими представителями бета-протеобактерий являются: *Acidovorax*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Comamonas*, *Delftia*, *Hydrogenophaga*, *Janthinobacterium*, *Pandoraea*, *Pseudomonas* (патогены растений), *Ralstonia*, *Telluria*, *Variovorax*, *Vogesella*, *Wautersia*, *Xylophilus*;

– **γ-подкласс:** данная группа протеобактерий также включает в себя фототрофные бактерии (например, *Chromatium* — пурпурные серные аноксигенные бактерии), метанотрофы (например, *Methylococcus capsulatus*), так и бактерии, важные с клинической и научной точки зрения — семейства *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Francisellaceae*, *Legionellaceae* и *Pasteurellaceae*. Наиболее яркими представителями альфа-протеобактерий являются: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Azomonas*, *Bacteriodes*, *Carnimonas*, *Enterobacteriaceae* (включает *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Raoultella*, *Klebsiella*, *Edwardsiella* и т.д.), *Flavobacterium*, *Halomonas*, *Moraxella*, *Plesiomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Photobacterium*, *Shewanella*, *Stenotrophomonas*, *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Xylella*. Кроме того, в эту группу входят такие возбудители особо опасных инфекций: *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila* и *Vibrio cholerae*, а также такой важный с научной точки зрения модельный организм, как *Escherichia coli*;

– **δ-подкласс:** группа дельта-протеобактерий (хемолитотрофы) включает такие известные бактерии, как способные к скользящему движению и образующие многоклеточные плодовые тела миксобактерии, так и известные сульфатредуцирующие бактерии (*Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*) и серобактерии (*Desulfuromonas*). В данную группу, как правило, также включаются анаэробные железобактерии (*Geobacter*); известные бактерии-хищники рода *Bdellovibrio*, облигатные внутриклеточные бактерии рода *Lawsonia*, хемолитотрофы рода *Hirpea*,

способные использовать серу и водород в качестве источника энергии. Стоит сказать, что в подкласс входят как аэробные, так и анаэробные бактерии, факультативные анаэробы – не известны, однако, все представители играют важную роль в круговороте элементов в природе;

– **ε-подкласс:** группа эpsilon-протеобактерий (хемолитоавтотрофы) включает в себя порядок *Campylobacterales* с семействами *Campylobacteraceae* и *Helicobacteraceae*, в т.ч. важный с геохимической точки зрения род *Sulfurospirillum*, возбудитель язвы человека *Helicobacter pylori*. Также сюда входят симбионты пищеварительного тракта жвачных животных *Wolinella*.

–

5.1.2. Плесневые грибы, встречающиеся в пищевых продуктах

Плесневые грибы – это различные грибы (по преимуществу, зиго- и аскомицеты), образующие ветвящиеся мицелии без крупных, легко заметных невооруженным взглядом плодовых тел. Наиболее значимые изменения в систематике грибов, растущих в пищевых продуктах, произошли в конце XX в., когда были открыты половые (совершенные) формы спороношения у некоторых хорошо известных родов и видов. Так, аскомицеты имеют половое спороношение, называемое *телеоморфным*. Именно в этой связи, по мнению современных микологов, виды, относящиеся к телеоморфным, имеют приоритет перед *анаморфными* (несовершенными или конидиальными) грибами. *Голоморфные* грибы, в свою очередь, имеют обе формы спороношения, однако, их также принято называть телеоморфными.

К наиболее часто встречающимся в пищевых продуктах плесневым грибам можно отнести следующие⁹¹:

– род *Altemaria* – представлен грибами, являющиеся сапрофитами и факультативными паразитами растений. Они имеют септированный (клеточный) мицелий⁹² с конидиеносцем⁹³ и многоклеточными темно-

⁹¹ См. подробнее: Справочник «Пестициды.ру». – URL: <https://www.pesticidy.ru/>

⁹² **Септа** – вторичная перегородка, образующаяся за счет вставания клеточных покровов (клеточной стенки и мембраны) от периферии к центру. По наличию или отсутствию септ мицелии разделяют на два типа: *несептированный* (ценоцитный, неклеточный) мицелий – представлен гифами, не разделенными какими-либо перегородками. Цитоплазма и ядра в таком мицелии свободно циркулируют без каких-либо препятствий, но любое повреждение или инфицирование создает угрозу для всего организма; *септированный (клеточный) мицелий* – представлен гифами, разделенными септами.

⁹³ **Конидии** (от др.-греч. κονία – пыль и εἶδος – вид, образ), или конидиоспоры – неподвижные споры бесполого размножения у грибов. Также известны как митоспоры, поскольку образуются в результате митоза. Они являются гаплоидными клетками, генетически идентичными гаплоидным родительским. При благоприятных условиях развива-

окрашенными конидиями разнообразной формы с поперечными и продольными перегородками. Представители данного рода вызывают заболевания многих важных сельскохозяйственных культур, (капуста, картофель, хлопчатник, пшеница, рис и проч.). Виды *Alternaria*, как правило, поражают все органы: на листьях образуются различные пятнистости, вызывает черную гниль косточковых плодов, яблок и инжира, корней и черную гниль цитрусовых;

– *Aspergillus* – род высших аэробных плесневых грибов, включающий в себя несколько сотен видов, распространенных по всему миру в различных климатических условиях. Аспергиллы хорошо растут на самых разных субстратах, образуя плоские пушистые колонии, изначально белого цвета, а затем, в зависимости от вида, принимают разную окраску, связанную с метаболитами гриба и спороношением. Мицелий гриба очень сильный, с характерными для высших грибов перегородками. Если в продуктах питания обнаруживаются клейстотеции⁹⁴ с аскоспорами⁹⁵, то скорее всего будут найдены *Emericella*, *Eurotium* или *Neosartorya*. Аспергиллы на большинстве пищевых продуктов имеют желто-зеленый или черный цвет. Черная гниль персиков, цитрусовых и инжира – одно из вызываемых ими состояний порчи фруктов. Кроме того, аспергиллы также обнаруживаются на окороках и беконе домашнего производства. Некоторые виды вызывают порчу масел – пальмового, арахисового и кукурузного. *A. oryzae* и *A. soyae* используют при производстве коджи. *A. glaucus* участвует в приготовлении кацуобуси (сушеных палочек из мяса пелаמידы) – ферментируемого рыбного продукта. *A. glaucus* – *A. restrictus* – группа, которая содержит грибы, развивающиеся на семенах, сое и других бобовых при их хранении. Несколько видов образуют афлатоксины, другие – охратоксин А и стеригматоцистин;

– род *Aureobasidium* (*Pullularia*) – сборная таксономическая группа черных дрожжевых грибов. В этом таксоне объединяются виды темнопигментированных микомицетов, в развитии которых наблюдается присутствие одноклеточной стадии развития в форме дрожжеподобных клеток. Процесс контаминации грибами прост: *Aureobasidium* формируют

ются в новый организм и способствуют распространению, то есть служат как для размножения, так и для расселения.

⁹⁴ **Клейстотеций** (лат. cleistothecium – от др.-греч. κλειστός, «запертый» и др.-греч. θεκίον, «коробочка») – закрытый тип аскомы (плодового тела), характерный для плектомицетов, эуроциевых и мучнисторосяных.

⁹⁵ **Аскоспора** – спора, содержащаяся или образующаяся в аске (сумке). Этот тип спор характерен для грибов отдела аскомицетов.

колонии, а затем разрастаются и образуют черные пятна плесени. *A. pullulans* (*Pullularia pullulans*) весьма распространен в пищевых продуктах: креветках, говядине, на фруктах и овощах. Виды данного рода играют важную роль в биогеоценозах и являются патогенными агентами растений, животных и человека. Среди растительных патогенов наиболее экономически значимо побурение или ломкость стеблей льна, возбудитель *Aureobasidium pullulans*;

– род *Botryti* – один из важнейших родов семейства *Moniliaceae*, представлен сапрофитами и паразитами растений. Микомицеты, паразитирующие на растениях, вызывают серую гниль различных частей, образуя обильный серый налет, ослабляя растения и значительно снижая количественные и качественные показатели урожайности (по преимуществу, поражает виноград, горох, гречиха, земляника, зонтичные культуры, капуста, лен, фасоль и проч.). Наиболее распространенный и вредоносный вид *Botrytis cinerea*; он паразитирует на различных видах растений, относящихся с 45 семействам;

– род *Cladosporium* представлен грибами, являющиеся сапрофитами на различных субстратах животного и растительного происхождения; характеризуется септированными грифами с темными, разветвленными цепочками конидий, наподобие ветвей дерева. Рост культуры – бархатный, цвет может меняться от оливкового до черного, некоторые конидии – лимоннообразные. Следует отметить, что род *Cladosporium* включает в себя паразитические виды – опасные патогены различных растений. Так, *C. fulvum* и *C. graminum*. Являются возбудителями бурой пятнистости томата и оливковой плесени овса. *C. herbarum* образует темные пятна порчи на говядине и замороженной баранине, также портит масло и маргарин. Некоторые представители разрушают косточковые плоды и являются причиной черной гнили винограда, иногда растут на зернах пшеницы и ячменя. *C. herbarum* и *C. cladosporioides* – два наиболее распространенных вида, обнаруживаемых на фруктах и овощах;

– род *Colletotrichum* – группа фитопатогенных микомицетов, являются возбудителями антракноза и корневых гнилей различных культур. Представители данной группы образует конидии, соединенные в ацервулы (спороносящие структуры), имеющие форму диска или подушечки, являются воскообразными, в основном бывают темного цвета. Конидиеносец и гиалиновые одноклеточные конидии имеют яйцевидную или продолгова-

тую форму. *C. gloeosporioides* образует антракнозы (коричневые или черные пятна порчи) на некоторых овощах (огурец, томат, тыквенные, баклажан и проч.), фруктах, особенно тропических, таких как манго и папайя;

– род *Fusarium* представлен в природе достаточно широкой биологически неоднородной группой грибов (по преимуществу – фитотрофов), в числе которых паразиты, полупаразиты и сапрофиты растений. *Fusarium* имеет септированный мицелий белого с оттенками розового, красного, фиолетового или коричневого цветов. Конидии – веретеновидные, серповидные (макроконидии). Грибы, как правило, вызывают коричневую гниль цитрусовых и ананасов и мягкую гниль инжира. Есть также виды, которые растут на зернах злаков, а некоторые образуют микотоксины фумонизины⁹⁶, трихотецены⁹⁷, зеараленон⁹⁸. Болезни растений, вызываемые грибами этого рода, называют фузариозами. Кроме того, известны виды, паразитирующие на насекомых, вызывающие токсикозы и микозы теплокровных животных и человека;

– род *Penicillium* – группа многоклеточных грибов, характеризующаяся экологической пластичностью и большой устойчивостью к воздействию неблагоприятных условий окружающей среды. *Penicillium* формирует конидиеносцы с конидиями (споры). Патоген *P. dangeardii* вызывает порчу концентратов фруктовых соков; этот вид образует термоустойчивые споры. Цвет пенициллов, растущих на продуктах питания, — от голубого до сине-зеленого. Зелено-голубая плесень цитрусовых и голубая плесень яблок, винограда, груш и косточковых плодов вызвана некоторыми видами пенициллов. *P. exraqusum* – вызывает мягкую коричневую гниль яблок, является причиной аллергических заболеваний. Интересно будет заметить, при этом, что многие виды данного рода используются для производства пищевых продуктов и лекарств;

– род *Rhizopus* – группа сапрофитных патогенов, включающая 11 видов. Его представители обладают высокой ферментативной активностью

⁹⁶ **Фумонизины** – органические соединения, микотоксины, вторичные метаболиты, продуцируемые некоторыми видами микроскопических плесневых грибов (микромикетами) рода *Fusarium*, *Lesiola*. Характерной особенностью этих микотоксинов является необычайное структурное сходство со сфинголипидами. Поэтому они легко встраиваются в биологические мембраны, повреждая их. Проявляют канцерогенное действие. Загрязняют пищевые продукты (контаминанты), корма для животных, а также сырье.

⁹⁷ **Трихотеценовые микотоксины или просто трихотецены** (сокр. ТТМТ) – органические соединения из так называемого семейства сесквитерпеноидов, их отличительной чертой служит трихотеценовое кольцо (трихотецан), которое содержит двойную связь С-9 и эпоксидную группу в области С-12,13. В настоящее время идентифицировано более 100 трихотеценов, большинство из них являются слаботоксичными, лишь немногие – смертельно опасны.

⁹⁸ **Зеараленон**, также известный как микотоксин RAL и F-2, является мощным эстрогенным метаболитом, продуцируемым некоторыми видами грибов *Fusarium* и *Gibberella*.

или способны образовывать органические кислоты, что находит широкое практическое применение. В быту грибы рода *Rhizopus* известны под названием «головчатая плесень»; они поражают различные культурные и дикорастущие растения. *R. stolonifer* часто встречается в пищевых продуктах. Иногда его называют «хлебной плесенью», он образует мокрую (мягкую) гниль яблок, груш, косточковых плодов, винограда, инжира и др. Некоторые виды вызывают «черную пятнистость» говядины и замороженной баранины. Они могут быть найдены на беконе или на другом готовом мясном продукте. Отдельные виды образуют пектиназы, к примеру, *R. Oligosporus*, который используется в производстве ферментированных продуктов.

Также к встречающимся в пищевых продуктах плесневым грибам можно отнести представителей родов *Byssochlamys*, *Geotrichum* (ранее *Oidium lactis* и *Oospora lactis*), *Trichothecium* и другие.

5.1.3. Основные роды дрожжей, встречающихся в пищевых продуктах

Дрожжи – это внетаксономическая группа одноклеточных грибов, утративших мицелиальное строение в связи с переходом к обитанию в жидких и полужидких, богаты органическими веществами субстратах. От бактерий их отличает больший размер их клеток и овальной, вытянутой, эллиптической или сферической формой. Стоит сказать, что границы группы до сих пор очерчены недостаточно четко: многие грибы, способные размножаться вегетативно в одноклеточной форме и идентифицируемые поэтому как дрожжи, на других стадиях жизненного цикла образуют развитый мицелий, а в ряде случаев и макроскопические плодовые тела. До появления методов молекулярного анализа такие грибы выделяли в особую группу дрожжеподобных, но сейчас их, как правило, рассматривают вместе с дрожжами.

Исследования 18S-рРНК показали близкое родство с типичными дрожжами видов, способных к росту только в виде мицелия. Однако, в настоящее время для таксономии дрожжей также используются новые методы идентификации, в частности, анализ нуклеотидных последовательностей 5S-рРНК, состава гетероциклических оснований ДНК и профилей кофермента Q. Ввиду большего размера генома дрожжей анализ последовательности 5S-рРНК используется, как правило, чаще, чем анализ больших фракций РНК.

К основным родам дрожжей, встречающихся в пищевых продуктах, можно отнести следующие:

– *Brettanomyces* – род грибов семейства *Pichiaceae*. Их клеточная морфология варьирует от овальной до продолговатой. Дрожжи данной группы являются ацидогенными и при росте в среде с высоким содержанием глюкозы образуют большое количество уксусной кислоты. Одним из наиболее распространенных представителей является *B. intermedius*; он растет при значениях рН до 1,8. Интересно будет заметить, что *Brettanomyces* являются важными в пивоварении и виноделии благодаря синтезируемым ими ароматическим соединениям (дрожжи вовлечены в дображивание некоторых сортов пива и эля, придающее им уникальный аромат), одновременно с этим, тот же *B. intermedius* является причиной порчи пива⁹⁹, вина, безалкогольных напитков и рассолов;

– *Candida* – род дрожжей, как правило, рассматривается как гетерогенный таксон, который может быть разделен на 40 сегментов, включающих три главные группы, базируемые, по преимуществу, на составе жирных кислот и электрофоретическом каротипировании. Клетки не содержат никаких каротиноидных пигментов. К роду *Candida* относятся аскомицетные несовершенные виды, включая прежний род *Torulopsis*: *Candida fumata* (*Torulopsis candida*; *T. amata*), *Candida kefir* (*Candida pseudotropicalis*, *T. kefir*; *Tonda cremoris*), *Candida stellata* (*Torulopsis stellata*), *Candida holmii* (*Torulopsis holmii*). Виды этого рода чаще всего обнаруживают на свежей говядине и домашней птице, а *C. tropicalis* является самым распространенным видом, поселяющимся на пищевых продуктах вообще. Некоторые виды участвуют в брожении какао-бобов как компонент кефирных зерен и многих других продуктов, включая пиво, эль и фруктовые соки;

– *Cryptococcus* – род, представленный аспорогенными дрожжами. Они размножаются многосторонним почкованием и не ферментируют сахара. Цвет клеток – гиалиновый красный или оранжевый. Могут формировать артроспоры. Наиболее известным и важным с точки зрения меди-

⁹⁹ Прим.: в большинстве видов пива *Brettanomyces*, как правило, рассматривается как загрязнение, а характеристики, придаваемые пиву этими дрожжами, – как нежелательные. Однако, в некоторых типах пива, таких как традиционные бельгийские эли, они рассматриваются как привлекательные. Ламбик, Гез, а также фландрийский коричневый эль и фландрийский красный эль обязаны своими уникальными ароматами именно этим дрожжам. То же относится к бельгийскому пиву домашнего приготовления. Некоторые американские производители пива намеренно используют *Brettanomyces* в своих пивоварнях. Дрожжи либо непосредственно добавляются в ферментеры, либо пиво зреет в бочках, предварительно инокулированных ими.

цины видом этого рода является *C. neoformans*: он вызывает тяжелую форму менингита у больных СПИДом. В целом же, микологи включают в род *Cryptococcus* 37 видов, однако сегодня таксономия пересматривается с учетом современных подходов. Большинство видов этого рода обитают в почве и не представляют опасности для человека. Наиболее распространенные виды – *C. laurentii* и *C. albidus*. Клетки этих грибов покрыты тонкой желатиноподобной капсулой, которая обладает различными биологическими функциями, в т.ч. помогает всасыванию питательных веществ из почвы. В отношении пищевых продуктов, то *Cryptococcus* обнаруживается на растениях, в почве, на землянике и в других фруктах, морской рыбе, креветках и свежей говядине;

– Род *Debaryomyces* – один из двух самых распространенных родов дрожжей, развивающихся в молочных продуктах. Они образуют псевдомицелий и размножаются многосторонним почкованием. *D. Hansenii* – вид, наиболее распространенный на продуктах питания, может расти в присутствии 24% NaCl и при низкой активности воды $a^w = 0,65$. Образует слизь на сосисках и сардельках, растет в рассолах и на сырах и вызывает порчу концентрата апельсинового сока и йогурта.

–

5.2. Внутренние параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов

Ввиду того, что продукты питания имеют растительное или животное происхождение, важно учитывать *параметры*, соответственно, растительных и животных тканей, влияющих на рост микроорганизмов¹⁰⁰. Механизмы защиты растений и животных от проникновения и развития в них микроорганизмов изучены достаточно полно, поэтому их можно эффективно использовать для предотвращения или замедления роста патогенных и гнилостных микроорганизмов в продуктах растительного и животного происхождения. В укрупненном виде **параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов** делятся на *внутренние* и *внешние*. К первым относятся: рН, содержание влаги, окислительно-восстановительный потенциал, содержание питательных веществ, антимикробные компоненты и биологические структуры.

¹⁰⁰ См. подробнее: Бурак Л.Ч. Существующие способы обработки пищевых продуктов и их влияние на пищевую ценность и химический состав // ТППП АПК. 2021. №3. С. 59-73.

Так, известно, что большинство микроорганизмов хорошо расцветает при рН (от лат. pondus hydrogenii – вес водорода) около 7,0 (6,6-7,5), а небольшое их количество – при рН < 4,0. Уровень данного показателя, необходимый для роста отдельных групп, родов или видов микроорганизмов, составляет: для плесеней – 1,0-2,0; дрожжей – 2,5-3,5; *Salmonella* – 4,0-6,5; *Shigella* – 5,5-6,5; *Escherichia coli* – 5,8-7,5; *Clostridium perfringens* – 6,0–8,5; *Campylobacter spp.* – 6,0-8,5. У одних продуктов своя, природная кислотность, другие же обязаны ей деятельности определенных микроорганизмов. Последний тип относят к биологической кислотности и представлен такими продуктами, как ферментированные молочные продукты, квашенные овощи и маринады. В свою очередь, например, у некоторых фруктов, безалкогольных напитков, уксуса и вина уровень кислотности ниже отметки, при которой, как правило растут и развиваются бактерии.

От уровня рН будет зависеть качество хранения продуктов питания. К примеру, те же фрукты портятся под действием плесеней и дрожжей, что связано со способностью их организмов расти при значениях рН < 3,5. Это значение намного ниже минимального для большинства гнилостных бактерий и для всех бактерий, вызывающих пищевые отравления. Таким образом, природная кислотность пищевых продуктов, в особенности фруктов, может рассматриваться как способ защиты их тканей от деструктивного воздействия микроорганизмов. В свою очередь, например, большинство мясных продуктов и морепродуктов имеют конечный минимальный рН ≈ 5,6 и выше, что делает их более восприимчивыми к порче, вызываемой как бактериями, так и плесенями дрожжами¹⁰¹.

Микроорганизмы проявляют переменную чувствительность к **окислительно-восстановительному (ОВ) потенциалу** (O/R , Eh) среды обитания, который обозначается символом «e»¹⁰². Как правило, ОВ-потенциал субстрата определяется с точки зрения легкости, с которой он теряет или приобретает электроны. Когда элемент (вещество) теряет электроны, он

¹⁰¹ **Прим.:** после убоя гликоген мяса превращается в молочную кислоту, что приводит к понижению уровня рН от 7,4 до ~ 5,6 – в зависимости от вида животного. Для говядины самое низкое значение рН составляет 5,1, а самое высокое (после созревания) – 6,2. Обычное значение рН для говядины ~ 5,6-6,4. Самое низкое и самое высокое значения рН для баранины и свинины составляют 5,4 и 6,7 и 5,3 и 6,9 соответственно. Конечное значение рН свинины может быть <5,0. Влияние таких значений рН на микроорганизмы очевидно. У большинства рыб конечные значения рН находятся в диапазоне от 6,6 до 6,8. Приблизительное значение рН некоторых пищевых продуктов: масло – 6,1-6,4; пахта – 6,2-6,5; молоко – 5,5; сливки – 4,9-5,9; сыр – 5,9; говядина – 5,1-6,2; ветчина – 5,9-6,1; курица – 6,1-6,4; рыба – 6,6-6,8.

¹⁰² **Прим.:** ОВ-потенциал пищевых продуктов определяется *следующими параметрами*: специфическим ОВ-потенциалом сырья; буферной емкостью – сопротивляемостью изменению потенциала пищевых продуктов; давлением кислорода атмосферы вокруг пищевого продукта; доступом атмосферы к продукту.

окисляется, тогда как субстрат, который приобретает электроны, становится восстановительным. Таким образом, вещество, которое легко отдает электроны – хороший восстановитель, а то, что легко принимает их – хороший окислитель. Когда электроны переносятся от одного вещества к другому, между этими веществами создается разница потенциалов, которая может быть измерена при использовании подходящего оборудования и выражена в милливольтках (мВ). Чем больше вещество окислено, тем более положительным будет его электрический потенциал. Когда концентрация окислителей и восстановителей равны, электрический потенциал равен нулю.

Максимальные положительные и отрицательные значения ОВ-потенциала могут быть летальными для некоторых групп микроорганизмов. Одновременно с этим, некоторым бактериям для начала роста необходимы восстановленные условия ($E_h \approx -200$ мВ), тогда как другим необходим положительный E_h . К первой категории относятся анаэробные бактерии (род *Clostridium*); ко второй принадлежат аэробные бактерии (виды рода *Bacillus*). Некоторые анаэробы – *микроэрофилы* (лактобациллы, кампилобактеры) – растут лучше при слегка восстановленных условиях, другие – *факультативные анаэробы* – способны расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Большинство плесеней и дрожжей, выделяемых с поверхности и изнутри продуктов, – аэробы, хотя их незначительное количество имеет черты факультативных.

ОВ-потенциал растительных пищевых продуктов, например, растительного сока, имеет значение E_h от +300 до +400 мВ, поэтому неудивительно, что аэробные бактерии и плесени чаще всего вызывают порчу продуктов именно этого типа. Сыры различных типов имеют ОВ-потенциал на отрицательном уровне – от -20 до -200 мВ. В свою очередь, цельные мясные продукты имеют значение $E_h \approx -200$ мВ, а в фарше он, как правило, равен +200 мВ.

Интересно заметить, что анаэробы, в отличие от аэробов, способны снижать ОВ-потенциал окружающей среды; при росте первых количество O_2 в среде уменьшается, что приводит к снижению уровня E_h , а рост замедляется по мере расходования организмами O_2 -доминирующих или водород-акцептирующих веществ среды. Наличие или отсутствие подходящего количества окислительно-восстановительных агентов в среде имеет очевидную важность для роста и активности микроорганизмов. Суще-

ствуют и некоторые парадоксы; так, исключение кислорода может быть необходимо для таких анаэробов, как *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis* и *Peptococcus magnus*.

Для роста и функционирования микроорганизмам также необходимы такие важные компоненты среды (**питательные вещества**), как вода, источник энергии, источники углерода и азота, витамины и другие факторы роста, минералы. Так, известно, что старейшим методом консервирования пищевых продуктов является высушивание или обезвоживание. Такое консервирование – прямой результат удаления или связывания влаги, без которой микроорганизмы, соответственно, не растут. Их потребность в воде обозначается показателем *активности воды* (a^w)¹⁰³ в окружающей среде. **Активность воды** – это отношение давления паров воды над материалом к давлению паров над чистой водой при одной и той же температуре.

В настоящее время изучены и определены пороговые значения данного показателя для большинства микроорганизмов, за пределами которых замедляются или прекращаются процессы их роста. Так, практически для всех бактерий предельное значение a^w , обеспечивающее их нормальное развитие, должно быть не ниже 0,90-0,99. Дрожжи и многие плесневые грибы хорошо развиваются даже при a^w равном 0,85-0,65. При 0,7 выживают осмофильные дрожжи, распространенные в молочноконсервном производстве; они являются причиной возникновения брака сгущенных молочных консервов с сахаром. Для сравнения: продукты питания, в зависимости от величины активности воды, подразделяются на три группы – с высокой влажностью ($a^w = 1,0 - 0,9$), с промежуточной влажностью ($a^w = 0,9 - 0,6$) и с низкой влажностью ($a^w = 0,6 - 0,0$). Активность воды в большинстве свежих пищевых продуктов составляет примерно 0,99.

Источником энергии для них служат сахара, спирты, жиры и аминокислоты. Часть микроорганизмов способна утилизировать сложные углеводы (целлюлозу и крахмал) и использовать в качестве источника энергии, разлагая перед этим до простых сахаров. Помимо аминокислот в качестве

¹⁰³ Термин «**активность воды**» (от англ. water activity – a^w) впервые был введен австралийским микробиологом Вильямом Джеймсом Скоттом, который в 1952 г. доказал, что существует зависимость между состоянием воды в продукте и ростом микроорганизмов в нем. $a^w = P/P_0$, где P – давление водяных паров над поверхностью продукта; P_0 – давление водяных паров чистого растворителя (воды). Известно, что между водой, химическими соединениями и биологической структурой пищевых продуктов происходят взаимодействия различного характера, так как вода является дисперсной средой для ряда химических реакций и метаболизма микроорганизмов в продуктах питания. Величина a^w хорошо коррелирует со многими из них. Так, понижение a^w с 1 до 0,2 приводит к значительному замедлению химических и ферментативных реакций (кроме процесса окисления липидов и реакции Майяра).

источника азота, некоторые микробы способны утилизировать нуклеотиды, тогда как другие нуждаются в пептидах и протеинах. Вообще же простые компоненты, такие как аминокислоты, утилизируются почти всеми организмами прежде всего преобразуясь до более сложных соединений, таких как высокомолекулярные белки. Аналогичная ситуация и в отношении полисахаридов и жиров. Определенные микроорганизмы могут испытывать потребность также в витаминах, макро- и микроэлементах.

Значимым параметром пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов, являются **антимикробные компоненты**. Так, известно, что в продуктах питания содержатся природные вещества с антимикробной активностью, обуславливающей их устойчивость, таким образом, к воздействию микроорганизмов. Растения содержат эфирные масла, обладающие противомикробной активностью: эвгенол – в гвоздике, аллицин – в чесноке, коричный альдегид и эвгенол – в корице, аллилизотиоцианат – в горчице, эвгенол и тимол – в шалфее. Красноцветы, например, кочанная и брюссельская капуста, брокколи, репа и проч. содержат *глюкозинолаты*, которые распадаются до изотиоцианатов, обладающих как противогрибковой, так и противомикробной активностью.

Коровье молоко содержит лизоцим, лактоферрин¹⁰⁴, конглоутинин¹⁰⁵, лактопероксидазную систему¹⁰⁶, ингибитор ротавируса. Молочный казеин, как и свободные жирные кислоты, при определенных условиях, обладают антимикробным действием. Лизоцим, овотрансферрин и кональбумин содержится в яйцах и обеспечивают их достаточно эффективной антимикробной защитой. Во фруктах, овощах, чае, мелассе (черной патоке) и других растительных продуктах обнаружены производные гидроксиминонной кислоты (β -кумаровая, феруловая, кофеиновая и хлорогеновая). Они проявляют антибактериальную, а некоторые из них и противогрибковую активность. Отдельные антимикробные компоненты пищевых продуктов не

¹⁰⁴ **Лактоферрин** – железосодержащий гликопротеин, ингибирующий рост бактерий. Его используют в качестве микробного блокирующего агента для говяжьих туш.

¹⁰⁵ **Конглоутинины** – это елки сыворотки крупного рогатого скота и лошадей, вызывающие гемагглютинацию в присутствии антител и комплемента

¹⁰⁶ **Лактопероксидазная система** присутствует в коровьем молоке и состоит из *трех компонентов*: лактопероксидазы, тиоцианата и H_2O_2 . Компоненты обладают антимикробным эффектом: грамотрицательные психрофилы, такие как псевдомонады, достаточно чувствительны к ней. Необходимое количество лактопероксидазы составляет 0,5-1,0 ppm, а коровье молоко обычно содержит 30 ppm. Для ингибиторной системы требуется около 100 ед/мл H_2O_2 , но в молоке обычно содержится только 1-2 ед/мл. Эффективное количество тиоцианата составляет примерно 0,25 мМ, тогда как в молоке его количество варьирует от 0,02 до 0,25 мМ. При активации лактопероксидазной системы в сыром молоке путем добавления тиоцианата в количестве 0,25 мМ и эквивалентного количества H_2O_2 срок хранения продукта увеличился до 5 сут по сравнению с 48 ч, взятыми для контроля. Мишенью системы является цитоплазматическая мембрана. Эффективность лактопероксидазной системы против *P. fluorescens* и *E. coli* показана ее добавлением в козье молоко.

только ингибируют рост микробиоты порчи, но и подавляют рост патогенных бактерий, в т.ч. *Salmonella enteritidis*.

Относительно **биологических структур** – здесь все просто. Уважаемому читателю, вероятно, известно, что естественные оболочки некоторых продуктов обеспечивают защиту от проникновения гнилостных организмов и последующего разрушения пищи под их действием. К таким структурам относят кожуру семян, внешнюю оболочку фруктов, скорлупу орехов, шкуру животных и скорлупу яиц. Оболочка орехов защищает от проникновения любых микроорганизмов; если оболочка треснула, то ядро подвергается порче под действием плесеней. Внешняя скорлупа и мембраны яиц, если они не повреждены, предотвращают проникновение в них практически всех микроорганизмов, конечно, если продукт хранится при необходимых температуре и влажности. Фрукты и овощи с поврежденной оболочкой, как правило, портятся быстрее, чем неповрежденные. Покровы тел рыб и поверхность кожи мясных отрубов, таких как свинина, предотвращают контаминацию и порчу этих пищевых продуктов, частично потому, что они имеют тенденцию высыхать быстрее, чем свежесрезанные поверхности.

5.3. Внешние параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов

К **внешним параметрам пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов** относятся: температура хранения, относительная влажность окружающей среды, действие света и проч.

Следует начать с того, что **температурный диапазон** роста микроорганизмов, важных для пищевых продуктов, невероятно широк, поэтому будем исходить из того, какая температура хранения для того или иного продукта является оптимальной. Так, известно, что минимальная температура роста микроорганизмов – 34°C; максимальная – >100°C. Наиболее часто встречающимися психрофильными (т.е. микроорганизмами, способными развиваться при минимальных значениях положительных температур окружающей среды) видами штаммами являются представители таких родов, как *Alcaligenes*, *Shewanella*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium*, *Brochothrix*, *Micrococcus*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Enterococcus* и др. В пищевых продуктах, как правило, преобладают *Pseudomonas* и *Enterococcus*.

При стандартном температурном режиме холодильника – 5-7°C рост таких организмов довольно быстрый, что вызывает порчу таких продуктов, как мясо, птица, рыба и проч. Общая их контаминация традиционно выше, если колонии инкубируются при °C в течение примерно 7 суток, чем когда хранения происходит при 30°C и выше. Кроме того, в пищевых продуктах, хранящихся при температуре холодильника, также обнаруживаются мезофильные виды и штаммы. Причем, они растут только при температурах внутри мезофильного диапазона и если остальные условия будут благоприятными. Есть и такие организмы, например, *Enterococcus faecalis*, которые будут развиваться за пределами от 0 до >40°C.

Значительная часть термофильных бактерий, участвующих в порче продуктов питания, по преимуществу, относятся к бациллам, палочковидным бактериям, клостридиям, геобациллам и алициклобациллам. Плесени способны расти как при температурах холодильника, так и за пределами широкого диапазона температур. Дрожжи, в свою очередь, обладают предельной психрофильностью, мезофильностью, хотя и активно проявляют себя в термофильном диапазоне.

Таким образом, пищевые продукты оптимальнее хранить при отрицательных температурах, однако, к примеру бананы будут лучше храниться при 13-17°C, овощи – при 10°C. Однако, важно понимать, что их сохранность будет также зависеть и от **относительной влажности окружающей среды и содержания газов (CO₂ и O₃)**. Так, если активность воды продукта низкая, то и хранить его необходимо при низкой относительной влажности среды, что предотвратит поглощение воды этим продуктом. Таким образом, соответствующие условия необходимы и для того, чтобы предотвратить увеличение влажности поверхности продукта и активности воды его внутренних слоев до уровня, при котором могут размножаться микроорганизмы. Если пищевые продукты с высоким уровнем активности воды находятся в окружающей среде с низкой относительной влажностью, то они, соответственно, будут терять влагу.

Очевидно, что между относительной влажностью и температурой хранения продукта существует прямая зависимость, о чем следует помнить при выборе условий хранения продуктов. Чем выше температура хранения, тем ниже относительная влажность окружающей среды, и наоборот. При хранении продуктов в условиях высокой относительной влажности они подвергаются порче разными микроорганизмами (бактериями, плесе-

нями, дрожжами). Данный процесс можно нивелировать, изменив химический состав среды обитания.

Углекислый газ (CO₂) – один самых распространенных естественных газов, используемых в пищевой микробиологии. **Озон (O₃)** – другой атмосферный газ, обладающий антимикробными свойствами. Он отличается высокой окислительной способностью, поэтому его не используют при хранении пищевых продуктов с высоким содержанием липидов, т.к. озон вызывает их окисление и прогоркание. Многочисленные исследования подтвердили бактерицидное действие озона на множество микроорганизмов, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также на формы спор и вегетативные клетки. Однако, считается, что озонирование в сочетании с другим повреждающим фактором усиливает инактивацию спор бактерий.

Так, проведенные исследования Naitoh подтвердили, что обработка озоном (5-50 частей на миллион; 1-6 часов) в сочетании с добавлением аскорбиновой кислоты, изоаскорбиновой кислоты или металлозеолитов значительно снижает количество спор *B. subtilis*. В рамках данных исследований было также оценено влияние пищевых компонентов (жиров, белков, углеводов) на способность бактерицидных клеток противостоять озону. Так, оценивалась эффективность озона для снижения количества спор *Bacillus stearothermophilus*, вегетативных клеток *E. coli* и клеток *Staphylococcus aureus* с использованием стерильного буфера класса С, взбитых сливок и 1% растворов камеди рожкового дерева, растворимого крахмала и казеината натрия. Результаты показали, что использование крахмала и дозы озона 4 ppm в течение 10 минут не имело защитного эффекта на вегетативные клетки по сравнению с буферным контролем, в то время как камедь плодов рожкового дерева обладал таким же уровнем защиты. В свою очередь, казеинат и взбитые сливки обеспечивали максимальный уровень защиты популяции бактерий от озона¹⁰⁷.

Действие **света** на развитие микроорганизмов, по преимуществу, имеет губительный эффект. Так, установлено, что некоторые виды излучений оказывают на них стерилизующее действие, а именно: солнечный свет, ультрафиолетовые лучи, лучи Рентгена, радиоактивное излучение, ультракороткие радиоволны. Эффективность воздействия различных форм лучи-

¹⁰⁷ Бурак Л.Ч., Сапач А.Н. Озоновая технология как способ сохранения пищевых продуктов // Вопросы развития современной науки и техники. 2021. №5. С. 42-77. С. 52-57.

стой энергии зависит от дозы облучения. Кроме того, существенную роль играет, при этом, длина волны, проникаемость среды, интенсивность и продолжительность облучения. Малые дозы облучения могут даже активировать отдельные жизненные функции микробных клеток (к примеру, рост клетки, обмен веществ). Высокие же дозы облучения, как правило, действуют летально¹⁰⁸.

Такой эффект объясняется или непосредственным действием лучей на цитоплазму клетки, или действием на их питательную среду. Прямое воздействие связано с непосредственным поглощением нуклеиновыми кислотами энергии излучения и последующих их повреждением. Вследствие высокого содержания воды в теле микробов происходит ионизация клеточного вещества, образуются высокореактивные группы типа гидроксильных, которые, взаимодействуя с белками клетки, вызывают энергичный процесс окисления и разрушают живое существо. Косвенно воздействие можно связать с метаморфозами, происходящими в питательной среде. Считается, что облучению в питательном субстрате возбуждаются химические реакции, подобные тем, которые наблюдаются в живой цитоплазме. При этом, образуются вредные для микроорганизмов вещества, питательный субстрат становится токсичным и, соответственно, непригодным для развития микробов.

Стоит сказать, также упомянуть, что в пищевой промышленности также применяются микроорганизмы, растущие в продуктах и вырабатывающие вещества, тормозящие развитие других организмов или действующие на них бактерицидно. К ним относятся антибиотики, бактериоцины, перекись водорода и органические кислоты. Исследованиями доказывается ингибирующее действие некоторых видов микробиоты питательных продуктов на другие микроорганизмы.

¹⁰⁸ **См. подробнее:** Рыкова Л.И. Основы микробиологического контроля консервного производства / Л. И. Рыкова, М. И. Черняева. – М.: Пищевая пром-сть, 1967. – 404 с.; Ихлов Б.Л., Мельниченко А.В., Ощепков А.Ю. Действие сверхвысокочастотного электромагнитного поля на микроорганизмы // ВНМТ. 2017. №2. С. 141-146; Кисленко В.Н. Общая и ветеринарная экология: учебник / В.Н. Кисленко, Н.А. Калининко. – М.: ИНФРА-М, 2020. – 344 с.

Вопросы для самоконтроля

1. Как называется наука о разнообразии организмов и их взаимодействии?
2. Назовите основные группы микробиоты пищевых продуктов.
3. Назовите подклассы подразделяются протеобактерии?
4. К какому подклассу протеобактерий относится группа эпсилон-протеобактерий?
5. Дайте определение понятия «плесневые грибы».
6. Какие плесневые грибы, встречающиеся в пищевых продуктах, Вы знаете?
7. Дайте определение понятию «дрожжи».
8. Перечислите основные роды дрожжей, встречающихся в пищевых продуктах.
9. Назовите внутренние параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов
10. Назовите внешние параметры пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов.

Глава 6. Способы производства и хранения пищевых продуктов, влияющих на развитие в них микроорганизмов

6.1. Понятие, причины и особенности микробиологической порчи пищевых продуктов

Проблема сохранности качества продуктов питания – одна из важнейших экономических и производственных проблем, с которыми сталкивается человечество в современном мире. Пищевые продукты, как мы уже неоднократно говорили выше, являются богатой средой для развития микроорганизмов, при размножении которых в этой среде может произойти накопление вредных для человеческого организма веществ – метаболитов микробных клеток. Это явление называется **микробиологической порчей пищевых продуктов**, которая в большинстве случаев является необратимым процессом, приводящим к невозможности использования по назначению испорченных продуктов питания. По некоторым данным, из-за деятельности микроорганизмов теряется четверть всей мировой пищевой продукции, в частности, 10% произведенных зерновых и бобовых культур и порядка 50% овощей и фруктов¹⁰⁹.

Важно понимать, что спектр микроорганизмов, которые могут стать причиной порчи продуктов питания, невероятно широк. Дрожжевые и плесневые грибы, несмотря на то, что их рост происходит медленнее, чем рост бактерий, также могут стать причиной микробиологической порчи, – благодаря их способности утилизировать самые разные субстраты и выживать в гораздо более жестких условия, чем вегетативные формы бактерий. К продуктам, чаще всего связываемым с возникновением вспышек пищевых отравлений, относятся говядина и домашняя птица, яйца и яичные продукты, смешанные продукты, рыба и рыбная продукция (см. далее). В свою очередь популяризация здорового образа жизни привела к увеличению потребления сырых фруктов и овощей и, как следствие, числу вспышек пищевых инфекций, связанных с их потреблением.

¹⁰⁹ Ванькова А.А., Авилова С.В., Корниенко В.Н., Грызунов А.А. Применение микробиологических методов с целью совершенствования технологий хранения и транспортирования зеленой продукции // Известия ТСХА. 2019. №5. С. 149-157. С. 149.

6.1.1. Молоко и молочные продукты

Молоко является прекрасной средой для размножения микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов и простейших), как условно полезных для человека, так и патогенных, способных вызвать его порчу. Как правило, источником контаминации сырья являются экскременты животных на ферме; на степень загрязнения, по преимуществу, влияют качество кормов животных и санитарно-гигиенические условия при дойке коров (см. подробнее пп. 4.2 и пп. 12.2). Согласно нормативам, в сыром молоке допускается присутствие культивируемых бактерий-мезофилов (аэробов и факультативных анаэробов) не более 1×10^5 КОЕ/мл. Микрофлора продукта, как правило, представлена, и мезофильными организмами (*Lactococcus lactis* и другими молочнокислыми бактериями), и психрофильными бактериями семейств *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, а также дрожжами. Кроме того, из сырого молока и молочных продуктов, прошедших пастеризацию, могут быть выделены термотолерантные спорообразующие организмы: бактерии родов *Microbacterium*, *Bacillus*, *Corynebacterium* и *Clostridium*, а также вида *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*.

Микробиологическая порча молока обуславливается ферментативной активностью бактерий, продуцирующих протеазы и липазы, разлагающие белки, жиры и фосфолипиды молока – к примеру, псевдомонады видов *P. fluorescens*, *P. lundensis* и *P. frag*. Во время холодильного хранения пастеризованного молока и молочных продуктов также возможна микробиологическая порча; она может быть вызвана психрофильными бактериями родов *Bacillus*, *Brachy bacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Paenibacillus* и *Macrococcus*, которые также вырабатывают ферменты протеазы и пептидазы. Исследования также доказывают возможность порчи молочных продуктов, вызванной дрожжами родов *Candida*, *Kluveromyces fragilis*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Debaryomyces* и *Sporobolomyces*. Ответственными за прогоркание сливочного масла являются, как правило, психрофильными бактериями из рода псевдомонад (*P. fragi* и *P. putrefaciens*), а также бактериями родов *Micrococcus* и *Alcaligenes*¹¹⁰.

¹¹⁰ См. напр.: Ribeiro Júnior J.C., Tamanini R., de Oliveira A.L.M., Alfieri A.A., Beloti V. Genetic diversity of thermophilic spoilage microorganisms of milk from Brazilian dairy farms // J Dairy Sci. 2018. pii: S0022-0302(18)30494-6; Geronikou A.,

Для здоровья людей особую опасность представляет контаминация молочных продуктов патогенами, вызывающими пищевые отравления, в частности, обнаруживаемыми в молочных емкостях на фермах – это *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* серотипа O157:H7, шига-токсин продуцирующие *Escherichia coli* (STEC) не-O157:H7 серотипа и проч. Кроме того, в таких емкостях могут присутствовать бактерии – возбудители мастита коров *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные *Staphylococcus spp.* и *Streptococci*, в т.ч. *Streptococcus agalactiae*. Причиной тяжелых массовых отравлений часто являются бактерии рода *Clostridium* – *Clostridium perfringens* и *Clostridium botulinum*, способные выживать в вакуумной упаковке, т.к. стандартная процедура пастеризации молока не уничтожает их споры. Другие споровые бактерии – представители родов *Bacillus* и *Paenibacillus* – вызывают пищевые отравления в более легкой форме.

Хранение молока и молочных продуктов на холоде, с одной стороны, продлевает срок сохранности их качества и безопасности, однако, с другой – при наличии контаминации психрофильными бактериями – способствует накоплению в них термостабильных ферментов, вызывающих порчу продукта. Для предотвращения их размножения используется их хранение в газовой среде *азота*; он ингибирует бактериальный рост, в частности, психрофильных псевдомонад.

6.1.2. Яйца и яйцапродукты

Содержимое **свежих яиц**, полученных от здоровых птиц, в идеале являются стерильными, благодаря присутствию в яичном белке многих функционально важных мажорных белков: овальбумина (54%), овотрансферрина (12%), овомукоида (11%), овоглобулинов (G2 и G3, 8%), овомуцина (3,5%) и лизоцима (3,5%), а также минорных белков: овоингибитора, овомакроглобулина, овогликопротеина, овофлавопротеина, тиаминсвязывающих белков и авидина. Доказано, что эти белки обеспечивают антиоксидантные, противовирусные, антагонистические, противоопухолевые и иные

Srimahaeak T., Rantsiou K., Triantafillidis G., Larsen N., Jespersen L. Occurrence of Yeasts in White-Brined Cheeses: Methodologies for Identification, Spoilage Potential and Good Manufacturing Practices // *Front Microbiol.* 2020 Oct 15. Vol. 11. pp. 582778; *Nielsen L., Rolighed M., Buehler A., Knøchel S., Wiedmann M., Marvig C.* Development of predictive models evaluating the spoilage-delaying effect of a bioprotective culture on different yeast species in yogurt // *J Dairy Sci.* 2021 Sep. Vol. 104(9). pp. 9570-9582.

свойства яичного белка¹¹¹. Однако, это отнюдь не исключает контаминацию продукта микроорганизмами.

Так, эндогенное заражение яиц происходит при их формировании в яичнике и яйцеводе больной птицы при сальмонеллезе, туберкулезе, орнитозе и других заболеваниях, а также при скрытой форме инфекционного заболевания или при бактерионосительстве. Доля инфицированных яиц, получаемых от птиц бактерионосителей составляют от 10 до 95%. Различные исследования кишечной микрофлоры куриных эмбрионов показывают, что наряду с бактериями нормофлоры – бактериями родов *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Bifidobacteriaceae* и *Lachnospiraceae* – в ней также могут присутствовать и патогены – представители семейств *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Klebsiella* и *Rickettsi*¹¹². Среди наиболее опасных для человека возбудителей инфекций, связанных с употреблением зараженных яиц промышленной птицы или контаминированных высушенных яйцепродуктов, можно назвать сальмонелл, кокков, протей, псевдомонад, микробактерий туберкулеза и проч. Однако, наиболее актуальной пищевой инфекцией признается сальмонеллез.

Экзогенная контаминация яиц происходит, как правило, при их сборе, хранении и транспортировке – в результате проникновения микроорганизмов, в частности, патогенных, через споры скорлупы и подскорлупочные оболочки. Проникшие внутрь яйца гнилостные бактерии, плесневые грибы или актиномицеты размножаются на богатой питательной среде, метаболизируют его содержимое; при этом, яичный белок разжижается, становится мутным, появляется неприятный запах сероводорода. Для продления активности собственных защитных свойств яиц промышленной птицы и для предотвращения их эндогенной контаминации микроорганизмами, продукт необходимо хранить при температуре 0-2°C, при относительной влажности воздуха 85%; также целесообразной является дезинфицирующая обработка парами формальдегида, йода и хлора.

¹¹¹ См. подробнее: *Abeyrathne E.D.N.S, Huang X., Ahn D.U.* Antioxidant, angiotensin-converting enzyme inhibitory activity and other functional properties of egg white proteins and their derived peptides – A review // *Poult Sci.* 2018 Apr 1. Vol. 97(4). pp.1462-1468; *Степанова А.М., Скрябина М.П., Тарабукина Н.П., Парникова С.И.* Микробиологическая безопасность яичной продукции при применении пробиотика «Норд-Бакт» // *АВУ.* 2018. №11 (178). С. 52-57; *Швагер О.В., Крыгин В.А.* Влияние иммунизации кур против синдрома снижения яйценоскости-76 на ветеринарно-санитарные характеристики товарных яиц // *Известия ОГАУ.* 2019. №6 (80). С. 235-237.

¹¹² См. напр.: *Фисинин В.И., Лаптев Г.Ю., Никонов Н.Н., Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., Филиппова Е.А.,* и др. Изменение бактериального сообщества в желудочно-кишечном тракте кур в онтогенезе // *Сельскохозяйственная биология.* 2016. № 51(6). С. 883-890

6.1.3. Мясо и мясные продукты

Мясо и мясные продукты – одни из наиболее уязвимых для микробиологической порчи, т.к. богаты питательными веществами, их поверхности подвержены быстрой колонизации и размножению бактерий. Эндогенный путь их микробной контаминации, помимо прочего, связан с общим состоянием животного, поступившего на бойню. Мясо здорового животного может быть обсеменено бактериями – постоянными обитателями его желудочно-кишечного тракта; в случае болезни или травмы может иметь место инфицирование тела животного патогенами, в частности, золотистым стафилококком, сальмонеллами, возбудителями туберкулеза, бруцеллеза и проч. В свою очередь, экзогенный путь микробной контаминации мяса связан с этапами разделки туши, транспортировкой, условиями хранения, технологией получения мясных продуктов и общим санитарным состоянием предприятия (см. подробнее пп. 7.1).

Относительно обработки и хранения, то обсеменение мясных продуктов микроорганизмами может происходить на различных их стадиях. В температурном диапазоне от -1 до $+25^{\circ}\text{C}$ и аэробных условиях быстрее всего поверхность мясных продуктов колонизируется грамотрицательными бактериями рода *Pseudomonas*, включая виды *P. fluorescens*, *P. lundensis*, *P. putida* и *P. fragi*. В свою очередь, в условиях аэробного холодного хранения порча может быть вызвана бактериями родов *Moraxella*, *Psychrobacter* и *Acinetobacter*. В анаэробных условиях (под вакуумом) мясо также может портиться – при размножении грамотрицательных бактерий, таких как молочнокислые бактерии и микрококки.

Сама по себе порча мяса и мясных продуктов может проявляться в виде *ослизнения, гниения, кислого брожения, пигментации и плесневения*. Ослизнение вызывается, как правило, бактериями рода *Pseudomonas*, обладающими высокой ферментативной активностью, способными утилизировать глюкозу при разных, в частности низких температурах. Следующим этапом порчи является гниение; за него ответственны как аэробные микроорганизмы, так и факультативно или облигатно анаэробные. Так, при температурах, близких к 0°C возбудителями гниения, по преимуществу, являются психрофильные бактерии рода *Pseudomonas*; при более высоких температурах хранения – мезофильные гнилостные бактерии, такие как протеи, спорообразующие бациллы, клостридии. Кислое брожение, как правило, развивается в субстратах, богатых гликогеном (сердце, печень),

что обусловлено психротрофными грамположительными бактериями и дрожжами. Пигментация проявляется при накоплении в мясопродуктах, соответственно, пигментирующих аэробных бактерий, таких как *Pseudomonas prodigiosum* (красный пигмент), *Pseudomonas aeruginosa* (синий пигмент), *Pseudomonas fluorescens* (зеленый пигмент). В свою очередь, плесени, при относительно низких температурах хранения мяса (от -5 до -10°C) вызывают в продукте распад белков и жиров, повышение щелочности среды, что создает благоприятную среду для последующего размножения гнилостных бактерий.

Обычно, для увеличения срока годности мяса и мясных продуктов применяется вакуумная упаковка с газовыми смесями различных составов. Однако, некоторые микроорганизмы способны выживать и развиваться и в таких условиях, вызывая тем самым процессы порчи. Среди них можно особо выделить *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Yersinia* и *Pasterella*, а также дрожжеподобных грибов родов *Debaryomyces*, *Yarrowia*, *Rhodotorula* и *Candida*. Особую опасность представляют грамположительные бактерии, обнаруживаемые в испорченных мясных продуктах, вызывающих тяжелые токсикоинфекции с множеством летальных исходов: *Staphylococcus gallinarum*, *Clostridium perfringens*, а также не имеющие клеточной стенки бактерии рода *Mycoplasma*.

6.1.4. Растительные продукты: овощи и фрукты

Как уже было отмечено ранее, во **фруктах** содержится большое количество сахаров, а также макро-, микроэлементов и витаминов, т.е. питательных веществ, способствующих активному росту и размножению бактерий, дрожжей и плесеней. Однако, рН фруктов ниже уровня, благоприятного для бактерий, поэтому в их порче преобладают дрожжи и плесени (см. подробнее пп. 5.2). Большое разнообразие первых выделено и идентифицировано из фруктов и с фруктовых деревьев, за исключение груши, часто подвергающиеся порче бактериями рода *Erwinia*¹¹³. Стоит сказать, что именно эрвинии (*Erwinia carotovora*) доминируют в порче овощей

¹¹³ Род *Erwinia* – таксон семейства Энтеробактерии, названный в честь американского ученого-фитопатолога Эрвина Смита. Он представлен паразитами, сапрофитами или бактериями, входящими в эпифитную микрофлору растений. Род состоит из 17 видов. Типовой – *Erwinia amylovora* является возбудителем бактериального ожога плодовых деревьев. В целом же, *Erwinia* – фитопатогенные бактерии рода вызывают различные заболевания растений. Это могут быть некрозы, ожоги, увядания, «мокрые» или «мягкие» гнили. Последние относятся к паренхиматозным, сосудистым и гиперпластическим заболеваниям. Факторами патогенности эрвиний являются целлюлолитические и пектолитические ферменты, экзотоксины, слизистые вещества полисахаридной природы.

(чеснока, репчатого лука, спаржи, зеленых бобов, моркови, салата-латука, картофеля, шпината, брюссельской и цветной капусты, огурцов, сладкого перца и проч.). Под их воздействием, в результате активности пектин-метаболизирующих ферментов, образуется мягкая гниль.

Такого рода порча **овощей** также может быть вызвана пектолитическими псевдомонадами (например, *P. marginalis*, *P. fluorescens*, *P. viridiflava* и др.), составляющие по некоторым данным до 40% от общей численности аэробных микроорганизмов, выделяемых из разных типов овощей. Именно с такими бактериями связано 43% послеуборочной гнили свежих сельскохозяйственных продуктов при холодильном хранении¹¹⁴. Сырые овощи, к примеру, картофель, бывают подвержены мягкой гнили, вызываемой *Clostridium puniceum* и другими видами клостридий. Однако, наибольшую опасность представляют клостридии *C. botulinum* и *C. perfringens*, способные выживать и размножаться в вакуумной упаковке, вызывая порчу продуктов благодаря своей газообразующей способности и протеолитической активности¹¹⁵.

Слабокислые пищевые продукты (например, консервированная кукуруза, зеленый горошек, грибы и проч.) могут портиться в результате активности термофильных анаэробных бактерий, таких как *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* и *Desulfotomaculum nigrificans*. Консервированные овощи, в свою очередь, могут портиться под влиянием лактобактерий, продуцирующих диоксид углерода, который вызывает вздутие консервных банок.

Молочнокислые бактерии ответственны практически за четверть случаев порчи овощных консервов, в которых в качестве консерванта добавляется уксусная кислота, в остальных случаях порчи консервированных фруктов и овощей, связанных с газообразованием, выделяются бактерии *Paenibacillus macerans*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus licheniformis* и *Geobacillus stearothermophilus*. Также, еще в начале 2000-х гг. американские ученые опубликовали исследование о выделении микробактерий из свежих фруктов и соков: *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium gordonae*,

¹¹⁴ См. подробнее: Jay J.M. Modern Food Microbiology. – Gaithersberg, MD: Aspen Publishers Inc. 2000. – 58 p

¹¹⁵ **Протеолиз** – это процесс гидролиза белков, катализируемый ферментами пептидгидролазами, или протеазами. Протеолитическая активность характеризует способность ферментов катализировать расщепление белка до пептидов и аминокислот и выражается числом единиц протеазы в 1 г очищенного препарата.

Mycobacterium flavescens и др., имеющих определенную клиническую значимость в качестве возбудителей инфекций у человека¹¹⁶.

Фруктовые и овощные продукты с высоким содержанием сахара и соли (сухофрукты, пресервы, джемы, варенья, соки и их концентраты) подвергаются микробиологической порче со стороны дрожжей родов *Zygosaccharomyces*, *Lachancea*, *Torulaspota* и *Zygotorulaspota*, т.е. таких, которые пусть и не производят токсинов и не признаны возбудителями заболеваний человека, но могут вызывать такие изменения в продуктах, из-за которых они становятся оптимальной средой для размножения патогенных и токсигенных микроорганизмов.

Однако, особую опасность для здоровья потребителей представляет контаминация фруктов и овощей патогенными энтеробактериями, такими как сальмонеллы, диарогенные эшерихии, иерсинии и листерии, вызывающие инфекции с высоким уровнем смертности. Данные бактерии обладают способностью выживать и размножаться в экстремальных условиях окружающей среды. К примеру, сальмонеллы серотипов *Enteritidis*, *Infantis* и *Typhimurium* способны расти при температурах 10-12 °С на помидорах при низких значениях рН среды (≈ 4). Шига-токсин (веротоксин) продуцирующие *E. coli* (STEC/VTEC), несмотря на то, что их первичным хозяином является крупный рогатый скот, способны колонизировать растения в качестве альтернативного хозяина.

Так, в ряде стран зафиксированы вспышки пищевых инфекций, ассоциированные с потреблением проростков семян, люцерны, пажитника, клевера, побегов белой редьки и проч., вызванные бактериями STEC серотипов¹¹⁷. Иерсиниозы, вызванные бактериями *Yersinia enterocolitica* серотипов О3 и О9, как правило, фиксировавшиеся как спорадические случаи, реже – в виде вспышек пищевых инфекций, связываются с потреблением овощей и фруктов в виде готовых салатов. Способность к персистенции (т.е. к длительному выживанию) в условиях окружающей среды в течение нескольких лет и даже десятилетий, в частности, на овощах и фруктах, характерна для грамположительных бактерий *Listeria monocytogenes*, спо-

¹¹⁶ См. подробнее: Blackburn C.W. Food spoilage microorganisms. Ed. C. de W. Blackburn. – Cambridge: Woodhead Publishing, 2006. – 712 p.

¹¹⁷ См. напр.: Wright K.M., Holden N.J. Quantification and colonisation dynamics of *Escherichia coli* O157:H7 inoculation of microgreens species and plant growth substrates. Int J Food Microbiol. 2018 May 20. Vol. 273. pp. 1-10; Galieni, A., Falcinelli, B., Stagnari, F., Datti, A., Benincasa, P. Sprouts and Microgreens: Trends, Opportunities, and Horizons for Novel Research // Agronomy. 2020. Vol. 10. 1424. pp. 1-48.

собных вызывать инвазивные заболевания у людей с ослабленной иммунной системой с уровнем смертности 20-30%.

6.1.5. Рыба и морепродукты

Микробиотный состав **свежей рыбы и морепродуктов** (включая ракообразных и моллюсков), по преимуществу, соотносится с микробиотой вод, из которых они выловлены. Как и мясо животных, внутренние ткани здоровой рыбы практически стерильны; нормальная микробиота живой рыбы локализуется в трех составляющих тела: слизи, покрывающей тело, жабрах и кишечнике. У пресноводных рыб и рыб теплых морских вод она, как правило, состоит из большого количества мезофильных грамположительных бактерий, а рыбы холодных вод – преимущественно из грамотрицательных бактерий.

Микроорганизмы, вызывающие порчу рыбы и морепродуктов, попадают в них на разных стадиях их обработки и хранения. Бактериальная биота испорченной свежемороженой рыбы состоит в основном из аспорогенных грамотрицательных палочек родов *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Shewanella* и *Acinetobacter*. В свою очередь, в рыбе, хранящейся на льду, можно обнаружить представителей семейства *Enterobacteriaceae*, включая *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Rahnella aquatilis*, *Moellerella wisconsensis*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae* и *Citrobacter freundii*. В испорченных тушках северных морских рыб, например, морского языка, трески, палтуса, хека и проч., нередко обнаруживаются бактерии рода *Moraxella*; соленая и высушенная рыба подвержена порчи в основном грибами, а также бактериями рода *Psychrobacter*. В свою очередь, в рыбке хранящейся на льду в вакуумной упаковке возможно присутствие светящихся бактерий *Photobacterium phosphoreum* и *Shewanella putrefaciens*, способных вызывать пищевые отравления, например, рыбным гистамином¹¹⁸.

Морепродукты и ракообразных (омары, креветки, лангусты, крабы и проч.) могут подвергаться микробиологической порче, вызванной бактериями родов *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Proteus*, а также некоторыми видами дрожжей. Другие морепродукты, в частности, кальмары, моллюски, гребешки и устрицы, значительно отличаются по своему хими-

¹¹⁸ См. подробнее: Подсосонная М. А., Родина Т. Г. Проблема гистамина в рыбной продукции // Известия вузов. Пищевая технология. 2004. №1. С. 30-32; Григорьева В.В., Тихонова Г.П., Тихонов В.К., Леонтьева И.Л. Ветеринарно-санитарная оценка рыбных продуктов // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2020. №3. С. 69-74; Никифорова А.П. Перспективы производства ферментированных рыбных продуктов с использованием молочнокислых бактерий // ТППИ АПК. 2020. №2. С. 17-24.

ческому составу от рыб и перечисленных ракообразных высоким уровнем углеводов и низки содержанием азота. В испорченных образцах, как правило, содержатся бактерии родов *Serratia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Clostridium*, *Shewanella*, *Pseudoalteromonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium* и *Micrococcus*. Иногда с потреблением испорченных продуктов связывают вспышки гастроэнтеритов, вызванных бактериями *Vibrio*.

6.2. Методы обеспечения безопасности пищевых продуктов при их производстве и хранении: традиционные способы

В современных кризисных условиях развития мировой экономики и, соответственно, экономик отдельных стран, одной из основных задач, стоящих перед пищевой промышленностью, является **обеспечение безопасности пищевых продуктов**. Страны-импортеры и экспортеры продовольствия объединяют свои усилия для системного снижения микробиологических рисков. В августе 2012 г. наша страна вступила во Всемирную торговую организацию (ВТО), согласно требованиям которой в пищевой промышленности должна применяться система качества *ХААСП* (англ. Hazard Analysis and Critical Control Point, НАССР) (см. подробнее пп. 11.3). Постановлением Правительства Российской Федерации от 29.06.2016 №1364-р утверждена *Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года*, которая ориентирована на обеспечение полноценного питания, профилактику заболевания, увеличение продолжительности и повышение качества жизни населения, стимулирование развития производства и обращения на рынке пищевой продукции надлежащего качества.

Для обеспечения безопасности пищевых продуктов, как при производстве, так и хранении используются различные методы консервирования. **Консервирование** (лат. conservatio – сохранение) – это обработка пищевых продуктов для более длительного сохранения их доброкачественности различными способами, обеспечивающими подавление и прерывания процессов, происходящих в продуктах под действием ферментов, в частности микробиологической порчи, инициируемой различными

микроорганизмами (бактериями, вирусами, грибами и простейшими). К **традиционным методам консервирования** относят¹¹⁹:

– *физические*: хранение в регулируемой газовой среде и вакууме; тепловая обработка – пастеризация и стерилизация; охлаждение и заморозка; обработка ультрафиолетовым и рентгеновским излучением;

– *химические*: обработка антибактериальными консервирующими препаратами – кислотами, солями, спиртами, диоксидом серы, сульфитами и проч.;

– *биологические*: обработка антибактериальными препаратами микробного происхождения, к примеру, низином или педиоцином РА1; внесение фитонцидов, содержащихся в чесноке, луке, хрене, горчице и других растениях;

– *смешанные*, например, биохимические – квашение, мочение и проч.; физико-химические – консервирование поваренной солью, сахаром, сушка; и другие (**см. также подробнее пп. 16.1-2**).

6.2.1. Физические методы консервирования пищевых продуктов

Консервирование *при низких температурах* осуществляется посредством охлаждения и замораживания. **Охлаждение** происходит путем понижения температуры продукта до минимальной (0-4°C), не допуская замораживания. Данный вид консервирования вызывает замедление химических и биохимических процессов, жизнедеятельности микроорганизмов и, соответственно, способствует увеличению сроков хранения продукта при сохранении питательных веществ, вкуса и аромата (сырое молоко – до 24 часов, мясо – до 15-20 суток). Температура, при которой начинается образование кристаллов льда в продукте называется **криоскопической**. Так, для яиц такая температура будет равна 2,8°C, для яблок – от 1,7 до -2,8°C, для рыбы – от -0,6 до -2°C, для картофеля – от -1,2 до -1,6°C, для молока – 0,5°C.

Замораживание осуществляется путем охлаждения продуктов до температуры от -12 до -18°C и ниже, большая часть воды, соответственно, переходит в лед. В результате этого в продукте создаются неблагоприят-

¹¹⁹ **См. подробнее:** Яковлева Д.А., Айсанов Т.С. Особенности методов консервирования плодовой продукции // Сельскохозяйственный журнал. 2016. №9. С. 254-256; Ишеевский А. Л., Давыдов И. А. Замораживание как метод консервирования пищевых продуктов // Теория и практика переработки мяса. 2017. №2. С. 43-59; Основы консервирования пищевых продуктов: учеб. пособие / А.И. Машанов, В.В. Матюшев, Н.А. Величко [и др.]; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2019. – 270 с.; Койнова А.Н. Сохраняя качество продуктов // Пищевая индустрия. 2021. №1 (45). С. 55-57.

ные для развития и размножения микроорганизмов условия, резко сокращается скорость микробиологических и биохимических процессов. Качество продуктов лучше сохраняется при так называемой «шоковой» заморозке, производимой при температуре -24°C и ниже. При таком способе консервирования в продукте образуются мелкие кристаллы льда, равномерно распределяемые и не изменяющие его структуру. Замораживание также применяется для: отделения влаги при концентрировании жидких пищевых продуктов; изменения их физических свойств (твердость, хрупкость и проч.) при подготовке их к дальнейшим технологическим операциям; сублимационной сушки; производства определенных групп продуктов питания и придания им специфических вкусовых и товарных качеств (например, мороженое, пельмени и проч.).

Консервирование *при высоких температурах* осуществляется посредством пастеризации и стерилизации. **Пастеризация** подразумевает нагревание продукта до температуры до 100°C , что способствует уничтожению большинства микроорганизмов и их спор, а также разрушению ферментов. Диапазон температур для процесса пастеризации обычно находится в пределах от 62°C , а время может варьироваться от менее 1 с до 30 мин в зависимости от метода пастеризации. Стандартная температура и время пастеризации партии продукта составляет 63°C в течение 30 мин. Для более высокой температуры пастеризации 72°C применяется более короткое время – 15 с. Этот способ обычно применяется для таких продуктов, как молоко, пиво, консервы, молочные продукты, яйца, фруктовые соки, орехи, суп, вода и т.д. Так, к наиболее распространенным методам пастеризации молока являются: высокотемпературная, *кратковременная* (HTST), проводимая на пластинчатых теплообменниках, теплоносителем в которых является горячая вода, увеличение температуры продукта до 72°C не менее чем на 15 сек. с последующим быстрым охлаждением. Другой метод – *HHST* – пастеризация при более высокой температуре и более коротком времени. Метод *ультрапастеризации* (UP) – это новая технология, в процессе которой продукт нагревается до температуры 138°C в течение 2 сек., аналогично с последующим быстрым охлаждением¹²⁰.

При **стерилизации** продукт нагревается при температуре выше 100°C , что способствует уничтожению всех живых микроорганизмов, в частности,

¹²⁰ Бурак Л.Ч. Существующие способы обработки пищевых продуктов и их влияние на пищевую ценность и химический состав // ТППП АПК. 2021. №3. С. 59-73. С. 62.

термотолерантные споры. Методы данного способа консервирования делятся на *термическую* (стерилизация паром) и *нетермическую обработку* (облучение, ультразвук, электрический ток и проч.¹²¹). Первая широко применяется в пищевой промышленности, несмотря на некоторые недостатки, среди которых снижение пищевой ценности или ухудшение качества пищевых продуктов. Нетермическая обработка считается наиболее эффективной и не вызывает потери пищевой ценности или ухудшения качества продуктов.

6.2.2. Физико-химические методы консервирования пищевых продуктов

К *физико-химическим методам консервирования* относят консервирование продуктов поваренной солью, сахаром и сушкой. К специфическим факторам воздействия относятся повышение осмотического давления (т.е. давления, вызванного молекулами растворенного вещества), и снижение активности воды. Повышение такого давления достигается внесением в продукт, соответственно, поваренной соли, сахара или консервированием растворенных веществ самого продукта путем высушивания. При высоком осмотическом давлении снижается активность воды, наступает плазмолиз (т.е. обезвоживание) клеток микроорганизмов, инактивируются ферменты. Консервирующее действие поваренной соли обуславливается также тем, что активные катионы натрия и анионы хлора присоединяются по месту пептидных связей белковых молекул, в результате чего белки продукта становятся недоступными для питания микроорганизмов.

Так, при **консервировании способом сушки** (обезвоживания) необходимую для жизнедеятельности микроорганизмов влагу из продуктов удаляют, как правило, тепловым способом – воздухом, нагретым до 80-100°C и выше. При этом, для каждого вида продуктов используются различные режимы сушки. В своей общей совокупности они делятся на *естественную* и *искусственную сушку*: первая будет оптимальной в отношении абрикосов, виноградов и других плодов, вторая же осуществляется в спе-

¹²¹ **Прим.:** бактерицидными свойствами обладают ультрафиолетовые лучи, которыми стерилизуют поверхности продуктов, воды, воздуха, тары и оборудования. Ультразвук разрушает микроорганизмы и их споры. Механическая стерилизация – фильтрование жидких продуктов (фруктовых соков) через специальные фильтры, задерживающие микроорганизмы. Облучение ионизирующей радиацией можно использовать для задержки прорастания картофеля, лука при хранении т.д. Этот метод находится в стадии разработки.

циальных сушильных камерах и аппаратах. К наиболее популярным **методам сушки** относят¹²²:

- *вакуумную*; она характеризуется тем, что продукт высушивается без доступа воздуха при сравнительно низкой температуре (40-60°C), благодаря чему хорошо сохраняются первоначальные свойства продукта;
- *микроволновую*; она производится с использованием энергии сверхвысокой частоты (СВЧ), процесс сушки, при этом, ускоряется, продукты приобретают пористую структуру и увеличиваются в объеме;
- *сублимационную*; при таком методе сушки продукт обезвоживается в замороженном состоянии при -5°C и ниже) и при глубоком вакууме (1,5-2,0 ГПа¹²³). В таких условиях влага продукта из твердого состояния (льда) переходит в парообразование, минуя жидкую фазу. Происходит возгонка, т.е. сублимация, замороженной влаги в пар. У высушенных продуктов быстро восстанавливаются исходные свойства при заливке их теплой водой. При помощи метода сублимации сушат мясо, фрукты, овощи, соки и другие продукты.

Консервирование поваренной солью используют, как правило, для подавления или прекращения жизнедеятельности микроорганизмов в результате повышения осмотического давления в продукте, что вызывает обезвоживание и плазмолиз микробной клетки. От ее концентрации зависит консервирующий эффект. Стоит сказать, что при солении происходит частичная потеря питательных веществ продукта, которые вместе с водой переходят в рассол, изменяются вкусовые качества. Однако, некоторые виды продуктов, например, рыба (лососевые, сельдь и проч.) в результате выдержки при посоле приобретают особые вкусовые качества.

Консервирование сахаром также основано на повышении осмотического давления, что обеспечивает нивелирование основных микробиологических и биохимических процессов в продукте. Консервирующее действие сахара значительно слабее, чем соли, поэтому данный способ, как правило, сочетают с пастеризацией или стерилизацией в герметичной таре, или с варкой. Такими способами готовят джемы, варенье, повидло, цукаты и

¹²² **Прим.:** консервирование сушкой имеет свои *преимущества и недостатки*. Преимущества состоят в том, что сушеные продукты хорошо сохраняются, удобны для транспортирования, обладают более высокой калорийностью. К недостаткам сушки следует отнести изменение физического состояния продукта (внешнего вида, формы, объема, плотности), потери витаминов, ароматических и вкусовых веществ. Размеры потерь, а следовательно, и питательная ценность продуктов во многом зависят от вида применяемой сушки. Наиболее значительные потери наблюдаются в продуктах при солнечной сушке, сушке горячей поверхностью и нагретым воздухом.

¹²³ **Атмосферное давление в гектопаскалях (ГПа)** – метрическая единица измерения давления кратная Паскалю (1 ГПа = 100 Па).

проч. В целом же, консервированные сахаром продукты имеют более высокую калорийность в сравнении с исходным сырьем, и при нагревании возможна потеря витаминов и ароматических веществ.

6.2.3. Биохимические методы консервирования пищевых продуктов

Биохимические методы консервирования основаны на подавлении жизнедеятельности микроорганизмов и ферментов путем добавления различного рода консервирующих веществ в продукты или образования их в результате биохимических (ферментативных) процессов. Классическим примером биохимического консервирования является **квашение** (квашение, соление и мочение – это, по сути, один и тот же способ консервирования). Оно основано на консервирующем действии молочной кислоты, образующейся в результате молочнокислого брожения сахаров внутри продукта. Накапливаясь и изменяя кислотность среды, она подавляет деятельность гнилостных микроорганизмов, чем и объясняется хорошая сохранность квашеных продуктов, естественно, при соответствующем температурном режиме. Заметим, что одновременно с образованием молочной кислоты накапливается этиловый спирт, который также оказывает консервирующее действие.

Квашение, как правило, используют для консервирования овощей (квашенная капуста, соленые огурцы, томаты, перец, чеснок и проч.), а также плодов и грибов. Соль, добавляемая в продукты, выполняет, по преимуществу, роль вкусового компонента, способствует выделению клеточного сока, содержащего сахар, а также благоприятно влияет на развитие молочнокислых бактерий на первой стадии брожения. Однако, главное преимущество квашение заключается в том, что оно позволяет получать продукт с другими вкусовыми качествами, одновременно с этим сохраняя значительное количество витамина С.

6.2.4. Химические и комбинированные методы консервирования пищевых продуктов

К химическим методам консервирования относят:

– **консервирование этиловым спиртом** (оказывает губительное воздействие на микроорганизмы); в концентрациях 12-16% этиловый спирт замедляет развитие микрофлоры продукта, а при 18% - полностью подавляет. Этиловый спирт также используется в качестве консерванта

при производстве полуфабрикатов плодово-ягодных соков, обуславливает длительное хранение вины и других алкогольных напитков;

– **маринование** (основано на подавлении жизнедеятельности микроорганизмов уксусной кислотой, которая, также как и молочная, повышает активную кислотность среды); уксусную кислоту добавляют при мариновании овощей, плодов, грибов, рыбы и проч. в количестве от 0,6 до 1,2%. Небольшая концентрация кислоты, конечно, не может полностью гарантировать защиту продукта от порчи в процессе хранения, поэтому продукты, маринованные небольшим ее количеством, как правило, подвергаются пастеризации или стерилизации, а маринование рыбы сочетают с солением. Большая концентрация уксусной кислоты будет ухудшать вкусовые качества продукта и, в целом, может оказаться небезвредной для человеческого организма;

– **консервирование сорбиновой, лимонной, бензойной кислотами и их солями**; из перечисленных, наиболее часто используемой являются лимонная и сорбиновая кислоты, обладающие бактерицидным действием по отношению к дрожжам и плесеням. В отличие от других химических консервантов они не оказывают негативного воздействия на организм человека и не придают продуктам какого-либо привкуса и запаха. Сорбиновую и лимонную кислоты, их соли используют при консервировании фруктовых пюре, соков, томатопродуктов и проч.

Известно и множество других химических веществ, которые находят применение для увеличения сроков хранения пищевых продуктов; среди них метабисульфит калия, сернистый газ, уротропин, борную кислоту и т.д. Кроме того, в последние десятилетия особую актуальность приобретают *препараты естественного брожения*, т.е. продукты с добавлением бифидум- и лактобактерий. Также используются лактококки, обладающие полезными для человека свойствами. Основным представителем данной группы является *низин* – антимикробное вещество природного происхождения. В этом его отличие от традиционных и совсем не безвредных уксусной, бензойной и других кислот. Он является единственным антибиотиком, допущенным органами здравоохранения к широкому применению в пищевой промышленности¹²⁴.

¹²⁴ Асминкина Т.Н., Суржанская И.Ю., Богатырев С.А. Технологии хранения сельскохозяйственной продукции: учеб. пособие. – 2-е изд. – Сартов: Ай Пи Эр Медиа: Профобразование, 2019. – 166 с. – С. 138.

Учитывая потребность в качественных консервах с высокими органолептическими показателями, пищевая промышленность, в особенности консервная отрасль, начинают внедрять *биоконсерванты*, которые имеют высокую потребительскую ценность, о которых подробнее мы будем говорить в следующем параграфе. Также следует несколько слов сказать о **комбинированных методах консервирования**, которые находят достаточно широкое применение в производстве и хранении пищевых продуктов. К ним можно отнести, например, копчение – рыбы, мясных изделий и проч., консервирующими факторами при котором выступают химические вещества, переходящие в продукт из дыма или коптильной жидкости, частное обезвоживание продукта, а также поваренная соль. Продукция холодного копчения может храниться при обычной температуре несколько месяцев. К комбинированным методам консервирования также можно отнести вяление – рыбы, мяса и проч. (соление сочетается с подсушиванием), получение молочных консервов (сгущение сочетается с сахаром и стерилизацией) и проч.

6.3. Перспективные подходы для борьбы с микробной порчей продуктов

6.3.1. Бактериоцины – натуральный пищевой консервант

В последние годы **бактериоцины**¹²⁵ стали привлекать внимание специалистов как перспективные натуральные безопасные пищевые консерванты для противодействия микробной порчи продуктов; они легко усваиваются желудочно-кишечным трактом человека и удовлетворяют требованиям, предъявленным к безопасности продуктов, производимы без использования химических консервантов. В настоящее время к практическому использованию допущены только два препарата этого класса – это уже упомянутый нами *низин* и *педиоцин PA1*. Примерами наиболее перспективных препаратов бактериоцинов, находящихся на стадии разработки, являются *энтероцин AS-48* и *лактицин 3147*¹²⁶.

Бактериоцины показывают свою результативность при обработке различных групп продуктов питания, в частности, мяса, рыбы, молочных продуктов, салатов и ферментированных овощей. Снижение эффекта может

¹²⁵ **Бактериоцины** – это специфические белки, вырабатываемые некоторыми бактериями и подавляющие жизнедеятельность клеток других штаммов того же вида или родственных видов бактерий.

¹²⁶ **См. подробнее:** Ермоленко З.М., Фурсова Н.К. Микробиологическая порча пищевых продуктов и перспективные направления борьбы с этим явлением // Бактериология. 2018. № 3(3). С. 46-57.

быть спровоцировано в связи с такими факторами, как адсорбция бактериоцинов некоторыми компонентами пищевых продуктов, ферментативная деградация, слабая растворимость и неравномерное распределение в пищевой матрице. Однако, влияние этих факторов, как правило, определяется использованием не столько самих бактериоцинов, сколько живыми бактериоцин-продуцирующими бактериями. Так, например, включение бактерий-продуцентов бактериоцинов в молочные продукты (сыры, йогурты) в качестве вспомогательных культур при ферментации обеспечивает непрерывную наработку бактериоцинов и улучшает сохранность этих продуктов во время созревания и хранения. Кроме того, молекулы бактериоцинов защищаются от разрушения путем включения их в состав биопленок и «активной» упаковки. В целом, эффективность их действия может быть повышена при сочетании бактериоцинов с химическими добавками (этилендиаминтетрауксусной кислотой, лактатом натрия, диацетатом калия и проч.), с прогревом продукта или с обработкой высоким давлением.

В настоящее время получает все более широкое распространение *биоинженерный подход использования бактериоцинов* – наработка этих антибактериальных веществ в генетически модифицированных растениях. Исследования показывают, что некоторые колицины весьма эффективно продуцируются на листьях табака, шпината и листовой свеклы. Смесь колицина М и колицина Е7 проявила высокую антибактериальную активность против энтерогеморрагических *Escherichia coli* (ЕНЕС) – внесение 10 мг/л колицинов в бульонную культуру снижало бактериальную нагрузку патогенов на 2-6 порядков. Перспективным признается использование колицинов, продуцируемых клетками растений, для контроля патогенных *E. coli* в пищевых продуктах как растительного, так и животного происхождения¹²⁷.

6.3.2. Бактериофаги и их ферменты

Также успешным в инактивации основных возбудителей пищевых инфекций **литические бактериофаги¹²⁸ вирусов бактерий**. Они противодей-

¹²⁷ См. напр.: Schulz S., Stephan A., Hahn S., Bortesi L., Jarczowski F., Bettmann U., et al. Broad and efficient control of major foodborne pathogenic strains of *Escherichia coli* by mixtures of plant-produced colicins // Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Oct 6. Vol. 112(40). pp. E5454-60.

¹²⁸ **Бактериофаги**, или **фаги** (от др.-греч. φάγω «пожираю») – это вирусы, заражающие бактериальные клетки. Ранее бактериофагами называли и вирусы архей, однако в настоящее время этот термин принято относить исключительно к бактериальным вирусам. Бактериофаги, как и любые иные вирусы, размножаются внутри клетки хозяина. Высвобождение потомства большинства бактериофагов происходит путем лизиса инфицированной бактериальной клетки, однако при размножении бактериофагов некоторых групп, например, нитчатых фагов, выход вирусных частиц происходит без разрушения клетки, которая сохраняет свою жизнеспособность.

ствуют развитию и размножению таких их представителей, как *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli O157:H7*, *Salmonella enterica*, *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni* и *Cronobacter sakazakii* (*Enterobacter sakazakii*), а также бактерий, вызывающих микробиологическую порчу продуктов, как в организме модельных животных, так и на поверхностях, контактирующих с пищевыми продуктами или в составе бактериальных биопленок. **Метод фаговой терапии** представлен в качестве одного из перспективных, «новых» методов лечения бактериальных инфекций на Генеральной Ассамблее ООН (2016). В качестве преимуществ литических бактериофагов называется их специфичность в отношении целевой популяции бактерий без воздействия на представителей других видов микробиоты. Сами по себе бактериофаги расцениваются как безопасные агенты для обработки пищевых продуктов благодаря отсутствию у них токсичности для организма человека. В целом же они обладают значительным потенциалом для медицины и ветеринарии, однако, коммерциализация бактериофагов для применения в пищевых продуктах или для деконтаминации поверхностей оказалась успешной только в отношении фаговых препаратов, активных против *L. monocytogenes*, *E. coli O157:H7* и *S. enterica*¹²⁹.

В качестве перспективных направлений использования бактериофагов в настоящее время рассматривается их применение в иммобилизованном состоянии на носителях, что даст возможность предотвратить возможную потерю фаговой активности и обеспечить постепенное высвобождение частиц бактериофага в пищевой продукт. Так, для профилактики STEC-инфекций предложен бактериофаг, иммобилизованный на органо-неорганических гибридных покрытиях, совместно с наночастицами оксида металлов; при этом зафиксирован синергидный антибактериальный эффект наноповерхностей и бактериофагов против бактериальных патогенов¹³⁰. Кроме того, несколько лет назад были разработаны варианты упаковки продуктов на основе целлюлозных мембран, пропитанных суспензи-

¹²⁹ **Прим.:** в нашей стране в 2016 г. внедрен специализированный профилактический продукт «Фудфаг» на основе коктейля бактериофагов эшерихиозного, сальмонеллезного, листериозного и стафилококкового, существенно снижающий риск заражения людей острыми кишечными инфекциями. Кроме того, разработаны препараты для фагопосредованного биопроцессинга, деконтаминации и продления срока годности молока, мясного фарша, куриных полуфабрикатов и рыбы

¹³⁰ **См. подробнее:** Алешкин А.В., Зулкарнеев Э.Р., Киселева И.А., Емельяненко К.А., Емельяненко А.М., Бойнович Л.Б. Опыт использования органо-неорганических гибридных покрытий с сорбированными бактериофагами для снижения риска развития STEC-инфекций. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018;165(4):473-476

ей бактериофагов и инкапсулированными фагами в альгинатных шариках, на основе пленки из хитозана, содержащей липосомные капсулы фагов¹³¹.

Интересно будет заметить, что в геномах бактериофагов имеются гены, которые кодируют **ферменты эндолизины**, вызывающие лизис¹³² клетки-хозяина на завершающем этапе литической инфекции. Данные ферменты возможно использовать в качестве антибактериальных агентов; очищенные фаговые эндолизины имеют значительно более широкий спектр специфичности, чем литические бактериофаги, из которых они выделены. Препараты рекомбинантных эндолизинов предполагается использовать в качестве естественных консервантов продуктов питания и самостоятельно, и в сочетании с другими антимикробными препаратами, к примеру, с тем же низином, и с другими методами обработки, к примеру, высоким гидростатическим давлением.

Важным аспектом является эффективная доставка эндолизинов к мишени действия в обрабатываемом продукте, что становится возможным посредством применения генно-инженерных технологий. Так, для обеспечения оптимального способа доставки антистафилококкового эндолизина Lysdb при производстве сыра был сконструирован стартовый биотехнологический штамм *Lactobacillus casei*, клетки которого конститутивно синтезируют эндолизин¹³³. Успешным направлением оказался и биоинженерный подход наработки эндолизинов в генетически модифицированных растениях. Проводились испытания шести субстанций, синтезируемых в листьях табака, активных против патогенов *Clostridium perfringens*, в результате которых было выявлено, что эти препараты предотвращают размножение бактерий на мясных матрицах значительно лучше, чем низин, единственный на тот момент официально одобренный для контроля клостридий консервант на основе бактериоцина¹³⁴.

¹³¹ **См. подробнее:** Lone A., Anany H., Hakeem M., Aguis L., Avdjian A.C., Bouget M., et al. Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods // Int J Food Microbiol. 2016 Jan 18. Vol. 21. pp. 749-58; Cui H., Yuan L., Lin L. Novel chitosan film embedded with liposome-encapsulated phage for biocontrol of Escherichia coli O157:H7 in beef // Carbohydr Polym. 2017 Dec 1/ Vol. 177. pp. 156-164

¹³² **Лизис** (др.-греч. λύσις «разделение») – растворение клеток и их систем, в том числе микроорганизмов, под влиянием различных агентов, например ферментов, бактериолизинов, бактериофагов, антибиотиков. Продуктом лизиса является лизат.

¹³³ **См. подробнее:** Guo T., Xin Y., Zhang C., Ouyang X., Kong J. The potential of the endolysin Lysdb from *Lactobacillus delbrueckii* phage for combating *Staphylococcus aureus* during cheese manufacture from raw milk // Appl Microbiol Biotechnol. 2016 Apr. Vol. 100(8). pp. 3545-54.

¹³⁴ **См. подробнее:** Kazanavičiūtė V., Misiūnas A., Gleba Y., Giritch A., Ražanskienė A. Plant-expressed bacteriophage lysins control pathogenic strains of *Clostridium perfringens*. Sci Rep. 2018 Jul 12. Vol. 8(1). pp. 10589

6.3.4. Эфирные масла

В самом общем виде **эфирные масла** представляют собой жизни ароматические продукты, экстрагированные из ароматических растений (*Lamiaceae*), растворимые в липидах и в органических растворителях. Они играют одну из ключевых ролей в защите растений от бактерий, вирусов, грибов, насекомых и животных. Эфирные масла, как известно, использовались человеком в терапевтических целях с древнейших времен, однако, только в последние годы стали проводиться доказательные исследования относительно их антимикробной активности, способности ингибировать патогены и увеличивать срок годности пищевых продуктов. Стоит сказать, что данный метод обладает некоторыми недостатками, в частности, снижение эффективности ввиду присутствия в пищевых продуктах таких компонентов, как жир, углеводы, белки, вода, соль, антиоксиданты и проч., а также из-за pH среды. Кроме того, активность эфирных масел может снижаться в продуктах с высокой концентрацией сложных сахаров (крахмал), поэтому препараты оптимальнее использовать для обработки пищевых продуктов, содержащих простые углеводы.

Наибольшей биологической активностью обладают эфирные масла, в которых основными компонентами являются альдегиды или фенолы (цитрал, циннамальдегид, карвакрол, эвгенол или тимол), а также терпены и спирты. Так, например **карвакрол** – фенольный монотерпеноид – содержится в эфирных маслах орегано (*Origanum vulgare*), тимьяне (*Thymus vulgaris*), клоповнике (*Lepidium flavum*), диком бергамоте (*Citrus aurantium bergamia*) и других растениях. Антимикробная активность карвакрола значительно выше, чем у других летучих соединений, присутствующих в эфирных маслах. Причиной этому является гидрофобность молекулы и наличия в ней свободной гидроксильной группы и фенольной частицы. Карвакрол эффективен против *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus* и других возбудителей пищевых инфекций.

Фитол – ациклический мононенасыщенный спирт дитерпена, наиболее распространенный ациклический изопреноид, содержится в эфирных маслах жгучих растений, таких как перец бетель (*Piper betle*), клеоме зубчатая (*Cleome serrate*) и лантана радула (*Lantana radula*). Это природное соединение проявляет биологическую активность в широком спектре, в т.ч. антимикробную, противовоспалительную, антиоксидантную и иммуностимулирующую. Целый комплекс антимикробных веществ обнаружи-

ваются в эфирном масле бразильского «чесночного растения» *Gallesia integrifolia* (семейство *Phytolaccaceae*); в нем идентифицировано 35 компонентов, почти 70% из которых принадлежат к классу сероорганических соединений. Это эфирное масло обладает сильным антимикробным действием против грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, а также, что интересно, против бактерии *C. perfringens*, способных образовывать высокотермотолерантные споры. Также есть исследования, доказывающие, что аллилизотиоцианат (аллиловое горчичное масло, сильным лакриматор) эффективно подавляет прорастание спор и размножение вегетативных клеток *C. perfringens* как на искусственных питательных средах, так и в курином мясе¹³⁵.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение понятию «микробиологическая порча пищевых продуктов».
2. Какие микроорганизмы вызывают микробиологическую порчу молока?
3. Каким образом происходит эндогенное заражение яиц?
4. При какой температуре быстрее всего поверхность мясных продуктов колонизируется грамотрицательными бактериями рода *Pseudomonas*?
5. Какие микробы вызывают мягкую гниль овощей?
6. Какие бактерии вызывают микробиологическую порчу морепродуктов и ракообразных?
7. Дайте определение понятию «консервирование».
8. Какие традиционные методы консервирования Вы знаете?
9. Какие методы консервирования относятся к группе биохимических?
10. К какой группе методов консервирования относится маринование?

¹³⁵ См. напр.: Alanazi S., Alnoman M., Banawas S., Saito R, Sarker M.R. The inhibitory effects of essential oil constituents against germination, outgrowth and vegetative growth of spores of *Clostridium perfringens* type A in laboratory medium and chicken meat // Food Microbiol. 2018 Aug. Vol. 73. pp. 311-318.

РАЗДЕЛ 3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Глава 7. Дезинфекционная деятельность в пищевой промышленности

7.1. Санитарно-гигиенические требования к предприятиям пищевой промышленности

Для обеспечения микробиологической безопасности предприятий пищевой промышленности (молочной, мясной, рыбной, плодоовощной, хлебопекарной, кондитерской и проч.) и продукции, ими производимой, необходимо, чтобы данный процесс осуществлялся в строгом соответствии с санитарно-гигиеническими требованиями¹³⁶. Такие требования, в частности, основываются на соответствующих регламентирующих актах¹³⁷, санитарных правилах и нормах, имеющие ряд *общих требований*, к которым относятся следующие¹³⁸:

- наличие соответствующих технических регламентов, санитарных правил и норм, нормативных документов для конкретной отрасли пищевой промышленности;
- соблюдение санитарных требований к территории хозяйственной и производственной зон; надлежащее санитарное содержание территории (уборка, расположение и состояние мусоросборников, их очистка и дезинфекция) (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, СанПиН 2.1.3684-21);
- наличие производственных и бытовых помещений в соответствии с мощностью предприятия и соблюдение их санитарного содержания (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, СанПиН 2.1.3684-21);
- надлежащее санитарно-техническое состояние предприятия (СанПиН 2.3/2.4.3590-20): водоснабжение и соответствие качества питье-

¹³⁶ См. подробнее: Перечень нормативных правовых актов или их отдельных частей, содержащих обязательные требования, оценка соблюдения которых является предметом федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора, систематизированный по видам предпринимательской деятельности и выполняемым в их составе работам и услугам, утвержденным постановлением Правительства РФ от 16.07.2009 № 584 (утв. Роспотребнадзором) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_294072/

¹³⁷ Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ (ред. от 04.11.2022, с изм. от 30.05.2023) «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» // Собрание законодательства Российской Федерации N 14, 05.04.99, ст.1650; Федеральный закон от 02.01.2000 № 29-ФЗ (ред. от 13.07.2020) «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2022) // Собрание законодательства Российской Федерации, N 2, 10.01.2000, ст.150.

¹³⁸ Гунькова П.И., Красникова Л.В. Основы санитарно-гигиенического контроля в пищевой промышленности: учеб.-метод. пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2016. – 97 с. – С. 12-13.

вой воды; обеспечение горячим водоснабжением и паром (СанПиН 2.1.4.1116-02, СанПиН 2.1.3684-21 и проч.¹³⁹); наличие канализации и ее подсоединение к технологическому оборудованию (СП 30.13330.2020); наличие очистных сооружений; обеспечение холодом и соблюдение температурного режима в отапливаемых помещениях; наличие исправной и эффективно действующей вентиляции; достаточность естественного и искусственного освещения (МУ 2.2.4.706-98/МУ ОТ РМ 01-98); наличие шумоизоляции в производственных помещениях (Методические указания по гигиенической оценке производственной и внепроизводственной шумовой нагрузки и проч.¹⁴⁰);

– обеспеченность помещениями, зданиями и сооружениями, транспортом, оборудованием, инвентарем, тарой и соблюдением санитарных условий их мойки, дезинфекции и хранения (СП 2.1.3678-20, СП 2.3.3.2892-11, ГН 2.3.3.1019-01, ГН 2.3.3.972-00 и проч.)¹⁴¹;

– дератизация, дезинфекция и эффективность борьбы с грызунами, мухами, тараканами, комарами, клещами и иными видами насекомых (СанПиН 3.3686-21);

– соблюдение личной и производственной гигиены (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, СП 2.2.3670-20, МР 3.1/2.2.0176/1-20 и проч.)¹⁴²;

– состояние здоровья персонала, его санитарная грамотность, регулярность прохождения периодических медицинских осмотров и обследований, своевременность и правильность внесения их результатов в личные медицинские книжки (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, СП 2.2.3670-20 и проч.);

– наличие системы производственного контроля качества и безопасности поступающего сырья (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, МР 2.3.0279-22 и проч.)¹⁴³: удостоверение качества, лабораторные анализы и их соответ-

¹³⁹ См. подробнее: Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.1.4. Питьевая вода и водоснабжение населенных мест) (Материал КонсультантПлюс) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/1ce5cdb4fd4f664c69d3203801137044eb9d79e3/

¹⁴⁰ См. подробнее: Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.2.4. Физические факторы производственной среды) (Материал КонсультантПлюс) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/d5bf12c1e1c3b56985204845de85876a6d3dee55/

¹⁴¹ См. подробнее: Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.3.3. Упаковка, оборудование и другие виды продукции, контактирующие с пищевыми продуктами) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/ca92ff46bc11c860aef6373cbfca874b9adca999/

¹⁴² См. подробнее: Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.2.9. Состояние здоровья работающих в связи с состоянием производственной среды) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/ca92ff46bc11c860aef6373cbfca874b9adca999/

¹⁴³ См. подробнее: Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.3.4. Технологические процессы, сырье на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/6263a420845c20f8ebaa128999df1d72492652c6/

ствие нормативным документам – ГОСТам, санитарным ветеринарным правилам и нормам, техническим регламентам;

– оценка системы производственного контроля качества выпускаемой продукции по санитарно-микробиологическим, физико-химическим и органолептическим показателям (оценка качества продукции по данным производственной лаборатории) (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, МР 2.3.0279-22 и проч.)¹⁴⁴;

– оценка качества выпускаемой готовой продукции по санитарно-микробиологическим, физико-химическим, органолептическим и токсическим показателям (оценка качества продукции по данным внешней лаборатории) (СанПиН 2.3/2.4.3590-20, МР 2.3.0279-22 и проч.);

– проверка актов предыдущих обследований контролирующими службами (Роспотребнадзор и проч.), правильности и своевременности устранений выявленных санитарных нарушений;

– сопоставление общей санитарно-эпидемиологической оценки предприятия пищевой промышленности с предложением необходимых мероприятий по устранению выявленных нарушений и указание сроков исполнения (СП 1.1.1058-01, СанПиН 2.3/2.4.3590-20 и проч.).

Вопросы санитарии и гигиены должны занимать одно из ведущих мест при проектировании и строительстве предприятий пищевой промышленности, благоустройстве территории и компоновке технологического оборудования и производственных помещениях (цехах), а также организации технологического процесса от приемки сырья до реализации готовой продукции конечным потребителям.

7.2. Понятие и виды дезинфекционной деятельности на пищевом производстве; пест-контроль

Согласно положениям **СанПиН 3.3686-21** «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», **дезинфекционная деятельность** (от фр. «des» – устранение и лат. «infectio» – заражение) – это комплекс мер, предусматривающих организацию и осуществление работ и услуг, включающих борьбу с патогенными

¹⁴⁴ См. подробнее: Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.2.6. Биологические факторы производственной среды) (Материал КонсультантПлюс) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/372c4bf2b413c40245c2a1e8521bb94ca0062ec7/; Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (2.2.5. Химические факторы производственной среды) (Материал КонсультантПлюс) // Консультант Плюс. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/372c4bf2b413c40245c2a1e8521bb94ca0062ec7/;

микроорганизмами, возбудителями инвазионных болезней, грызунами и их эктопаразитами (клещами, блохами, вшами), кровососущими членистоногими и другими насекомыми, имеющими медицинское значение, разработку, испытание, производство, хранение, транспортирование, реализацию, применение, уничтожение и утилизацию средств, оборудования, материалов для дезинфекции, предстерилизационной очистки, стерилизации, дезинсекции, дезинвазии, дератизации, отпугивания, а также контроль за этими работами и услугами (см. рисунок 7.1)¹⁴⁵. Для обеспечения организации и осуществления дезинфекционной деятельности (дезинфекционных, дезинсекционных и дератизационных мероприятий) осуществляются (п. 88):

- профилактические (организационные, инженерно-технические, санитарно-гигиенические) мероприятия, предупреждающие заселение объектов грызунами и членистоногими;
- обследование с целью определения технического и гигиенического состояния объекта и прилегающей к нему территории, учета численности и определения заселенности объектов и территории грызунами и членистоногими;
- истребительные мероприятия против грызунов и членистоногих;
- профилактическую и очаговую (текущую и заключительную) дезинфекции по эпидемиологическим показаниям;
- контроль за проведение дезинфекционных, дезинсекционных, дератизационных мероприятия и их эффективность.



Рисунок 7.1 – Содержание дезинфекционной деятельности (по СанПиН 3.3686-21)

Источник: <https://www.profiz.ru/>

¹⁴⁵ См. подробнее: Пособие по пищевой безопасности в общественном питании. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. – 79 с.

Дезинфекционная деятельность на предприятиях пищевой промышленности, таким образом, бывает **трех видов**:

– *профилактическая*; проводится специально подготовленным персоналом или персоналом дезинфекционного профиля для того, чтобы не допустить появления и распространения патогенных микроорганизмов, возбудителей инвазионных болезней, грызунов и членистоногих;

– *текущая*; проводится также специально подготовленным персоналом или персоналом дезинфекционного профиля в очаге в присутствии источника инфекции и направлена на уничтожение возбудителей по мере их выделения носителем или непосредственно больным;

– *заключительная*; проводится только персоналом дезинфекционного профиля после нейтрализации источника инфекции для полного уничтожения ее возбудителей (патогенных микроорганизмов, возбудителей инвазионных болезней, грызунов и членистоногих), освобождению от него объекта дезинфекции.

Обучение персонала по вопросам, связанным с проведением дезинфекционных мероприятий с учетом объема выполняемых работ и услуг, включает подготовку врачей-дезинфектологов¹⁴⁶, инструкторов-дезинфекторов¹⁴⁷ и дезинфекторов – медицинских дезинфекторов¹⁴⁸. Согласно положениям п. 89 СанПиН 3.3686-21 «дезинфекционные, дезинсекционные и дератизационные мероприятия на объектах, транспортных средствах, рекреационных территориях населенных пунктов проводятся персоналом организаций, в соответствии с учредительными документами которых одним из видов экономической деятельности является осуществление дезинфекционной, дератизационной и дезинсекционной деятельности». Таким образом, организация (в т.ч. пищевое производство) должна

¹⁴⁶ **Врач-дезинфектолог** – это специалист с высшим образованием по специальности «Медико-профилактическое дело», прошедший подготовку в ординатуре по специальности «Дезинфектология» или профессиональную переподготовку по специальности «Дезинфектология» при наличии подготовки в интернатуре/ординатуре по специальности «Эпидемиология».

¹⁴⁷ **Инструктор-дезинфектор** – это специалист со средним профессиональным образованием по специальности «Медико-профилактическое дело», имеющий сертификат специалиста «Дезинфекционное дело», без предъявления требований к стажу работы.

¹⁴⁸ **Дезинфектор/медицинский дезинфектор** – это специалист со средним профессиональным образованием по профилю выполняемой работы или имеющий среднее (полное) общее образование и дополнительную подготовку по направлению профессиональной деятельности не менее 3 месяцев без предъявления требований к стажу работы.

иметь по ОКВЭД 2 код 81.29.1 – Дезинфекция, дезинсекция, дератизация зданий, промышленного оборудования¹⁴⁹.

Если рассматривать дезинфекционную деятельность как некий управленческий механизм, существующий в общей модели менеджмента предприятия пищевой промышленности, то одной из ее функций является т.н. **пест-контроль** (англ. pest control), т.е. буквально «контроль (мониторинг) вредителей», осуществляемый на всех этапах производства пищевой продукции – от производителя до потребителя. Согласно положениям СанПиН 3.3686-21, пест-контроль – это научно-обоснованная технология воздействия на сообщества проблемных биологических видов с целью ограничения их численности и (или) предотвращения наносимого им ущерба, реализуемая согласно принципам ХАССП¹⁵⁰.

Пест-контроль включает в себя *комплекс мероприятий*, направленный на системное снижение всех возможных рисков (хозяйственных, экономических, моральных, технологических и проч.), в частности, риска микробиологической контаминации продукции патогенными микроорганизмами, продуктами их жизнедеятельности, а также внедрение превентивных мер, препятствующих их появлению и распространению, а также появлению и распространению возбудителей инвазионных болезней, грызунов, членистоногих и других вредителей (*проблемных биологических видов*) как их источника.

Важно, при этом, понимать, что пест-контроль – это значительно более широкая категория в деятельностном контексте, в отличие, например, от дератизации или дезинсекции. *Во-первых*, в традиционном «медицинском» понимании они учитывают только т.н. «целевые» виды вредителей – **проблемных биологических видов**, имеющих эпидемиологического и санитарно-микробиологического значения, тогда как пест-контроль ориентирован на «работу» с¹⁵¹: природными и синантропными видами грызунов (крысы, мыши, полевки и проч.); различными видами членистоногих (синантропными и полусинантропными – мухи, комары, бабочницы, осы, пуки, тараканы, муравьи и проч.); насекомыми, ответственными за порчу сырья и материалов (моль, кожееды, точильщики и проч.); другими видами

¹⁴⁹ Суранова Т.Г. Кто вправе проводить дезинфекцию на предприятиях разных сфер деятельности? // Санэпидконтроль. Охрана труда. 2022. №1. – URL: https://www.profiz.ru/sec/1_2022/kto_vprave_provodit_dezin/

¹⁵⁰ См. подробнее: Пест-контроль на предприятии по стандартам ХАССП. Разработка и внедрение // Единый центр экологии и дезинфекции. – URL: <https://ecodez-centr.ru/pest-kontrol-na-predpriyatii-po-standartam-hassp>

¹⁵¹ Лобанок Н.С. Организация пест-контроля в соответствии с принципами ХАССП // Дезинфекционное дело. 2016. №3 (97). С. 13-16.

насекомых, вероятность попадания которых в продукцию велика в результате проникновения внутрь производства на привлекающий их свет, запах, залета на зимовку, заползания в тепло из-за отрицательного воздействия неблагоприятных природных и иных факторов; дикими и синантропными видами птиц (воробьи, голуби, вороны и проч.); хладнокровными животными (змеями, ящерицами, лягушками и проч.). К данному перечню проблемных биологических видов также относят бродячих и прикормленных кошек и собак как потенциального источника инфекционных заболеваний, гельминтов и паразитирующих на них кровососущих членистоногих (блох, клещей и проч.).

Во-вторых, пест-контроль – это не одноразовое единомоментное уничтожение конкретных проблемных биологических видов; он также включает в себя оценку эпидемиологических и санитарно-гигиенических рисков, разработку мер защиты, профилактики и предупреждения проникновения и распространения их на территории пищевого производства, а также постоянный мониторинг ситуации на объекте. Кроме того, уполномоченными лицами (подразделениями) предприятия и (или) внешними исполнителями (организацией дезинфекционного профиля¹⁵²) разрабатывается и осуществляется система защитных мер для предотвращения случаев проникновения проблемных биологических видов на территорию производства. Это дает возможность минимизировать широкий спектр рисков, в частности, микробиологической контаминации пищевой продукции, приостановки работы предприятия в связи с этим, а следовательно, понесения коммерческих убытков и репутационного ущерба.

7.3. Направления дезинфекционной деятельности на пищевом производстве

7.3.1. Дезинфекция

Итак, в своей общей совокупности дезинфекционная деятельность включает три основных направления – собственно, *дезинфекция, дезинсекций и дератизация*.

Дезинфекция – это работы по полному или частичному уничтожению (удалению) микроорганизмов-возбудителей инфекционных болезней на (в)

¹⁵² Организация дезинфекционного профиля – это организация, одним из видов экономической деятельности является осуществление дезинфекционной, дератизационной и дезинсекционной деятельности

объектах. Разнообразие таких объектов обуславливает необходимость применения различных методов и средств, обеспечивающих их обеззараживание. Так, в настоящее время **методы дезинфекции** подразделяются на *физические, химические и биологические* (см. рисунок 7.2)¹⁵³. Каждый из них может применяться как самостоятельно, так и в сочетании с другими методами дезинфекционной деятельности.



Рисунок 7.2 – Классификация методов и способов дезинфекции

Самым простым *физическим методом* является *механическое удаление* патогенной и условно-патогенной микрофлоры с объектов внешней среды путем встряхивания, влажного протирания, проветривания, вентиляции, стирки, влажной уборки, выноса мусора, чисти предметов, включая оборудование и проч. Безусловно, данный метод дезинфекции приводит к сокращению численности микроорганизмов, но не к их полной ликвидации. Другие физические методы дезинфекции основываются на действии, соответственно, физических факторов, таких как высокая температура, ионизирующее излучение, ультразвук.

Так, горячая вода с добавлением моющих средств используется для механического удаления микроорганизмов при стирке, мытье, уборке, а

¹⁵³ См. также: Сон К.Н. Ветеринарная санитария на предприятиях по переработке пищевого сырья животного происхождения: учебное пособие / К. Н. Сон, В. И. Родин. – М.: ИНФРА-М, 2021. – 208 с.

добавление 2%-ого раствора гидрокарбоната натрия усиливает антимикробное воздействие кипячения. Стоит сказать, что на текущий момент санитарно-гигиеническими требованиями не регламентирован перечень используемых средств, рекомендованы лишь группа антибактериальных веществ и их допустимая доля (хлорсодержащие – 3%, кислородактивные – 3%, катионные – 0,5%, полимерные – 0,2%, спирты (этиловый – 70% (75%). Сухой горячий воздух при температуре свыше 100°C используется в воздушных стерилизаторах, камерах и других аппаратах, предназначенных для дезинфекции посуды, тары, инструментов, изделий из металла, стекла, силиконовой резины. Насыщенный водой пар под давлением или без него также является действующим агентом дезинфекционных камер и паровых стерилизаторов (автоклавов).

В свою очередь, ультрафиолетовое облучение снижает степень контаминации воздуха микроорганизмами на 80-90% (см. подробнее пп. 8.1). Эффективно, однако менее доступным является обеззараживание воздуха бета- и гамма-излучением. В целом же, для применения физических методов дезинфекции, помимо прочего, требует специальное оборудование, а иногда его применение становится невозможным из-за степени наносимого обрабатываемому объекту ущерба.

Химический метод дезинфекции основывается на применении различных химических веществ, вызывающих гибель микроорганизмов. Химические средства могут использоваться для обработки объектов, не выдерживающих высокой температуры. Все химические соединения, используемые в качестве дезинфекторов, традиционной делятся на семь основных групп, четыре из которых отвечают требованиям СанПиН¹⁵⁴:

– галоидсодержащие соединения, активными веществами которых являются хлор, бром и йод («ЛюмаксХлорЛайт», «Белизна-3», «Гипостабил», «Хлорэффект»; «Клорсепт-25», «Пюржавель», «Санивап», «Хлормикс»);

– кислородсодержащие соединения, действующим агентом которых является кислорода в составе перекиси водорода, перекисных соеди-

¹⁵⁴ **Прим.:** некоторые растворы («Себптол», «Ветасепт Форте») включают несколько групп активных веществ. Они экономически выгодны и могут служить универсальным средством для уборки. Но не подойдут при локальной дезинфекции, которая требует применения раствора конкретной группы веществ. Список растворов может быть изменен, в зависимости от корректирования норм для средств дезинфекции. Важно учитывать, что дополнительные ограничения по составу могут накладываться и другие правила, если в них предписаны меры по стерилизации (например, СП 3.3686-21 раздел ХХХII о профилактической дезинфекции при оказании медпомощи). См. подробнее: Дезинфекция по СанПиН в 2022 году // Потребитель-эксперт. – URL: <https://potrebitel-expert.ru/uslugi/dezinfektsiya-sanpin/>

нений, надкислот и комбинированные препаратов («Параксимед», «ПВК», «Виркон»);

– гуаниды, действующим веществом которых являются сложные органические соединения хлорфенилдиугуанидов («Биопаг-Д», «Полисент», «Фосфопаг-Д», «Вапусан-2000», «Сурфаниос»); они воздействуют только на бактерии, не активны по отношению к вирусам (действены спиртовые растворы гуанидинов), грибам и спорам;

– катионные поверхностно-активные вещества, поверхностная активность при растворении в воде обуславливается катионами, содержащими длинноцепочечные гидрофобные радикалы («Аламинол», «Люмакс», «Септол», «Дезэфект», «Триацид», «Вегасепт Форте»); основным видом катионных ПАВ являются соли четвертичных аммониевых соединений.

К другим группам соединений относятся *простые ПАВ*, активно действующим веществом также являются четвертичные аммониевые соединения. Помимо антимикробного и вирулицидного действия, они обладают моющими свойствами, отличаются высокой эффективностью, не портят оборудование, экономичны в использовании, практически не имеют запаха. ПАВ используются в виде индивидуальных химических средств (катамин АБ, нордез, дезин, сетабик и проч.) и композиционных составов вместе с альдегидами, спиртами (велтолен, демоз, лайна, септопол и проч.). Однако, антивирусный спектр данных препаратов достаточно узкий, у микроорганизмов к ним легко вырабатывают устойчивость при длительном использовании. Также следует упомянуть *альдегидсодержащие соединения*, действующим веществом которых является глутаровый или янтарный альдегид: глутарал, сайдекс, дюльбак растворимый, стераниос, дезиформ, корзолин, славин и проч. Наиболее известным из данной группы препаратов является формальдегид и его 40%-й раствор – формалин. Препараты этой группы отличаются широким спектром действия на бактерии, микобактерии, вирусы, грибы и споры, однако, способны оказывать токсичное воздействие на организм человека.

К активным дезинфекторам можно отнести и *препараты на основе фенола*, такие как амоцид и амоцид 2000. Важно указать, что сам фенол из-за выраженной токсичности и стойкого запаха применять запрещено. *Спирты* – этанол, пропанол, изопропанол также широко используются для дезинфекции поверхностей и инструментов, в качестве кожных антисепти-

ков. Наиболее часто используется 70%-й раствор этилового спирта. Препараты на основе спиртов выпускаются в виде растворов, спреев, одноразовых салфеток, антисептического мыла.

Биологический метод дезинфекции заключается в уничтожении возбудителей инфекционных болезней во внешней среде биологическими препаратами, содержащими микроорганизмы-антагонисты. Данный метод используется при обеззараживании сточных вод на полях орошений и фильтрации, при компостировании мусора и отходов, при дезинвазии¹⁵⁵ бытового мусора в биотермических камерах. Вибрион *Bdelovibrio bacteriovirus* (сем. *Vibrionaceae*) играет немаловажную роль в процессах самоочищения сточных вод, актиномицеты – в очищении почвы от возбудителя сибирской язвы.

7.3.2. Дезинсекция

Дезинсекция (от фр. «des» – устранение и лат. «insectum» – насекомое) – это комплекс мероприятий (организационных, санитарно-технологических, санитарно-гигиенических и истребительных), направленных на уничтожение членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-микробиологическое значение. Согласно положениям СанПиН 3.3686-21, кратность плановых обследований на заселенность членистоногими объектов, имеющих особое эпидемиологическое значение, должна составлять не менее 2 раз в месяц, для других объектов – 1 раз в месяц (в местах общего пользования многоквартирных домов, общежитий), в очагах инфекционных и паразитарных заболеваний, а также анофелогенных водоемов – 1 раз в неделю, открытых территорий – 1 раз в месяц.

Дезинсекционные мероприятия включают в себя комплекс санитарно-профилактических и истребительных работ, где первые относятся в группе основных (ведущих). Так, *профилактическая дезинсекция* проводится для целей предупреждения появления и размножения членистоногих, а также предотвращения их нападения (контакта, укусов) на человека и проникновения в бытовые и производственные помещения. Профилактические мероприятия включают *санитарно-гигиенические* и *санитарно-технические работы*. К первым относятся:

¹⁵⁵ **Дезинвазия** (от франц. *dés* – приставка, означающая удаление, и лат. *invasio* – нападение) – уничтожение во внешней среде зародышевых элементов (яиц и личинок гельминтов, ооцист кокцидий и т. д.), возбудителей инвазионных болезней человека, животных и растений.

- соблюдение правил личной гигиены, поддержание должного санитарного состояния в бытовых и производственных помещениях, на продовольственных объектах, животноводческих хозяйствах, прилегающих территориях и местах общего пользования;
- чистка канализационных труб, установка сеток на вентиляцию, герметизация помещений (устранение трещин, щелей) и проч.;
- своевременное удаление пищевых отходов, мусора, расчистка территории от валежника и загнивающей растительности, правильная эксплуатация свалок;
- использование импрегнированного инсектицидами или обработанного репеллентами белья и одежды, а также применение репеллентов; ношение защитной одежды;
- проведение дератизации, отлов бродячих собак и кошек.

Санитарно-технические меры предусматривают:

- создание в помещениях условий, не допускающих проникновения членистоногих и пропитывающих их жизнедеятельности;
- проведение агротехнических и лесотехнических работ, препятствующих выплоду насекомых в открытых стадиях;
- ликвидация мелких водоемов и других мест выплода насекомых, очистка и углубление рек, очистка оросительных систем, обслуживание водохранилищ.

Истребительная дезинсекция – это комплекс мероприятий, направленных на уничтожение членистоногих во всех стадиях развития, в местах их размножения, залета и пребывания в окружающей среде. Данный вид дезинсекции в свою очередь имеет два подтипа, это *очаговая дезинсекция*, когда уничтожаются непосредственно гнезда, рассадники и сами членистоногие, и *заключительная дезинсекция*, когда истребляются особо стойкие, выжившие члены колонии и вылупившееся из яиц потомство, а также ставится «барьер», для того чтобы исключить повторное заселение площадей тем или иным видом насекомых.

Методы истребления членистоногих часто зависят от их биологических и экологических особенностей, безопасности инсектицидов и ожидаемого эффекта (см. рисунок 7.3):

- *механический метод* дезинсекции предполагает использование клейких лент, липучек, москитных сеток, которые устанавливаются на ме-

ста передвижения скопления насекомых. Так же проводится периодическая уборка помещения. Метод считается наименее эффективным для целей предотвращения распространения переносчиков за пределы очага распространения патогена, а также обеспечения защиты людей от их укусов;

– *физический метод* предусматривает истребление членистоногих с помощью физических дезинсекционных агентов как огонь (сжигание мусора, сорняков), горячая вода и водяной пар (дезинсекция одежды и вещей), вымораживание, ультразвуковые отпугиватели;

– *биологический метод* направлен на истребление насекомых с помощью других животных, например, хищных насекомых и птиц, которыми ими питаются, а также биохимических средств: гормональных препаратов, регуляторов развития насекомых, аттрактантов, феромонов, иммунодепрессантов. Наиболее перспективными в борьбе с насекомыми являются культуры определенных видов бактерий, вирусов и грибов, способных вызывать массовые заболевания среди членистоногих (бактокулицид, бактоларвицид и сфероларвицид). Так, например, *Bacillus thuringiensis* применяется для борьбы с кровососущими комарами. Пищевые приманки, содержащие культуры определенных видов патогенных бактерий и грибов, спор бацилл, грибов, актиномицетов, вирусов, способны вызвать массовые заболевания среди насекомых-вредителей;



Рисунок 7.3 – Классификация методов и способов дезинсекции

– *химический метод* предполагает уничтожение членистоногих с помощью различных химических средств – инсектицидов, чаще всего на основе хлора. Применение химических ядов для борьбы с насекомыми является наиболее эффективным из всех перечисленных методов дезинсекции. Аэрозоли против насекомых не рекомендуется использовать вблизи открытых пищевых продуктов, а также местах их непосредственного производства, все рабочие поверхности промываются на следующий день после обработки перед рабочей сменой.

7.3.3. Дератизация

Дератизация (фр. *dératisation* – дословно «уничтожение крыс») – это комплекс мероприятий (организационных, санитарно-технических, санитарно-гигиенических и истребительных), направленных на уничтожение грызунов, имеющих эпидемиологическое и санитарно-микробиологическое значение. Борьба с ними предусматривает также профилактические и истребительные мероприятия (см. рисунок 7.4):



Рисунок 7.4 – Классификация методов и способов дератизации

Предупредительные (профилактические) мероприятия направлены на создание условий, неблагоприятных для жизни и размножения грызунов, что снижает численность их популяции. К таким мероприятиям относятся: утилизация мусора, ликвидация мусорных свалок, усовершенствование ка-

нализационной системы, защита бытовых и производственных помещений, а также складов, где хранится произведенная продукция, и других зданий и сооружений от проникновения синантропных грызунов (крыс и мышей).

Предупредительные мероприятия включают:

- строительно-технические меры, препятствующие проникновению грызунов в помещения;
- санитарно-гигиенические меры, обеспечивающие доступность для грызунов пищевых продуктов и отходов: рациональное их хранение, санитарное содержание холодильных камер, мусоропроводов, регулярный сбор и уделение мусора;
- агротехнические меры на сельскохозяйственных предприятиях (растениеводства, животноводства, бойнях и проч.), направленные на недопущение размножения грызунов, своевременная уборка урожая.

Истребительные мероприятия, в свою очередь, направлены на полное уничтожение проникших на предприятие (производство) грызунов и проводятся с применением следующих **методов**:

- *физический метод* – наиболее древний и, одновременно с этим, самый опасный из существующих. Его сущность сводится к вылавливанию грызунов с помощью механических приспособлений – ловушек, различных по своему устройству и принципу действия. Как правило, данный метод применяется в совокупности с химическим методом, однако, на пищевых предприятиях и химический, и биологический методы дератизации строго запрещены¹⁵⁶. Ловушки однократного действия бывают двух систем – убивающие и живоловки, а ловушки многократного действия – только живоловки. К механическим средствам истребления также относят липкие массы, в частности специальные клеи для вылова грызунов;

- *химический метод* дератизации является основным и наиболее эффективным в уничтожении грызунов и заключается в использовании различных ядовитых веществ – «ратицидов» или «родентицидов». Яды проникают в организм грызуна или через пищеварительную систему или

¹⁵⁶ **Прим:** основная особенность и сложность проведения дератизации на пищевых производствах – это недопустимость любого риска, связанного с использованием родентицидов. Поэтому, если родентициды применяются, они раскладываются в специальные, закрывающиеся на ключ емкости – приманочные станции. При этом, сами приманочные станции также закрепляются на месте, а в последнее время фиксируется и родентицидная приманка внутри этой емкости. Самое безопасное решение – не использовать родентициды внутри помещений, а для этого необходимо обеспечить 2 или 3 защитных контура из приманочных станций вокруг здания. Обычно приманочные станции расставляют по периметру ограждения, и по внешнему периметру строений. Внутри же помещений используют только механические устройства – живоловки, с нетоксичной пищевой приманкой. Данная схема эффективна при условии, что помещения отвечают перечисленным выше требованиям, в противном случае применение отравленных приманок от грызунов внутри помещений может оказаться неизбежным.

через дыхательную систему. Яды добавляют к пищевым веществам (приманкам), наиболее привлекательным для животных; опыляют норы ходы, тропы и часто помещаемые грызунами места (мусорные ящики). В отдельных случаях яды применяют в газообразном состоянии путем газации помещений и нор;

– *биологический метод* дератизации предусматривает использование животных (кошек, собак и проч.) – естественных врагов грызунов и бактериологических культур, патогенных для грызунов и безопасных для людей (например, бактерии мышинного тифа), однако, очевидно, что данный метод применяется крайне редко, тем более на пищевом производстве.

Согласно положениям СанПиН 3.3686-21, *контроль эффективности истребительных мероприятий* осуществляют на основании учетов численности грызунов методами ловушко-суток или пылевыми площадками на объектах или на территории до начала дератизационных мероприятий и через 1-2 календарных дня (если использовали приманки на основе острых родентицидов) и 10-30 календарных дней (если использовали приманки на антикоагулянтах) после их окончания. На объектах, имеющих особое эпидемиологическое значение, дератизация осуществляется по результатам ежемесячной оценки. На территории городских и сельских поселений и в природных очагах инфекционных антропоозоозных заболеваний дератизация осуществляется по эпидемиологическим и санитарно-гигиеническим показаниям.

7.4. Правила личной гигиены работников предприятий пищевой промышленности

Соблюдение правил личной гигиены имеет высокое значение в комплексе профилактических противоэпидемиологических мероприятий на предприятиях пищевой промышленности. **Личная гигиена** – это ряд санитарных правил, которые должны соблюдаться всеми сотрудниками, включая внешних. Данные правила предусматривают ряд гигиенических требований к содержанию тела, рук и полости рта работника, к санитарной одежде, к режиму предприятия и медицинскому освидетельствованию работников. Несоблюдение правил личной гигиены может привести к заражению пищевых продуктов патогенными микроорганизмами, вызвать вспышки инфекционных заболеваний и токсикоинфекций.

Согласно ст. 10 Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», личная гигиена сотрудников предприятий, осуществляющих деятельность в области пищевой промышленности – это важнейшее условие обеспечения безопасности пищевой продукции. В Трудовом кодексе РФ этому уделяется не так много внимания, однако, согласно ст. 220, в целях предупреждения заболеваний, каждый сотрудник обязан проходить медицинский осмотр. Более детально вопросы гигиены работников пищевых производств в контексте здоровья приведены в Приказе Роспотребнадзора от 20.05.2005 № 402 «О личной медицинской книжке и санитарном паспорте». В соответствии с его положениями, отдельным категориям трудящихся обязателен учет: перенесенных инфекционных заболеваний, прохождение периодической вакцинации (в т.ч., от COVID-19), анализов на туберкулез, кишечные инфекции, гельминтов, стафилококк, осмотров дерматовенеролога.

Основными **отраслевыми документами**, регулирующими правила в сфере производства пищевых продуктов являются СанПиН 2.3/2.4.3590-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к организации общественного питания населения», ГОСТ Р 54762-2011/ISO/TS 22002-1:2009 «Предварительно необходимые программы по безопасности пищевых продуктов. Часть 1: Производство пищевых продуктов», ГОСТ Р 56398-2015/ISO/TS 22002-4:2013 «Предварительно необходимые программы по безопасности пищевых продуктов. Часть 4: Производство упаковки для пищевых продуктов», ГОСТ Р ИСО 22004-2017 «Системы менеджмента безопасности пищевой продукции. Руководство по применению ИСО 220002», ГОСТ Р ИСО 22000-2019 «Системы менеджмента безопасности пищевой продукции. Требования к организациям, участвующим в цепи создания пищевой продукции», ГОСТ Р 70231-2022 «Гигиена пищевой продукции. Одежда для работников производства пищевой продукции и общественного питания» и проч.

Согласно положениям перечисленных документов, **руководитель пищевого предприятия должен обеспечить:**

- выполнение требований санитарных правил всеми работниками производства;
- необходимые условия для соблюдения санитарных норм и правил на всех этапах производства для выпуска безопасной пищевой продукции;

- наличие личных медицинских книжек у каждого работника с отметкой о прохождении периодических медицинских обследований;
- прием на работу лиц, имеющих допуск по состоянию здоровья с отметкой о предварительных при поступлении на работу и периодических медицинских осмотрах;
- организация обязательного медицинского осмотра лиц, поступающих на работу на производство¹⁵⁷;
- организацию ежегодной проверки санитарно-гигиенических знаний персонала;
- ежедневное ведение журналов осмотра на гнойничковые и острые респираторные заболевания;
- наличие санитарной и специальной одежды и организацию ее регулярно централизованной стирки и починки;
- наличие достаточного количества производственного инвентаря и других предметов материально-технического оснащения;
- проведение мероприятий по дезинсекции и дератизации согласно договору с лицензированными учреждениями по оказанию услуг по дезинфекции, дезинсекции и дератизации;
- наличие аптечек для оказания первой медицинской помощи и их своевременное пополнение;
- проведение дополнительных профилактических мероприятий по эпидемиологическим показаниям.

Важно понимать, что руководитель пищевого производства несет ответственность за общее санитарное состояние предприятия, за соблюдение санитарного режима и допуск к работе лиц, не прошедших медицинское обследование, за создание условий, необходимых для выполнения работниками правил личной гигиены, за качества поступающего сырья и выпускаемой продукции. Кроме того, согласно п. 2.21 СанПиН 2.3/2.4.3590-20, определенные категории сотрудников, например, кулинары, обязаны пройти не только медицинское обследование, но и аттестацию по санминимуму, получив соответствующие отметки в медицинской книжке. В процессе деятельности санитарное законодательство предписывает:

¹⁵⁷ **Прим.:** работники, связанные с производством, хранением, транспортировкой и реализацией кондитерских изделий, при поступлении на работу в дополнение к перечисленному проходят осмотр стоматолога, отоларинголога и исследование на носительство стафилококка мазок из носоглотки.

– во-первых, проводить ежедневный контроль кожи рук и лица на наличие заболеваний, сопровождающихся гнойной сырью (результаты заносятся в журнал, а людей с подозрением на инфекцию отстраняют от работы);

– во-вторых, использовать одноразовые перчатки при работе с пищевыми продуктами (в случае их повреждения – замену осуществить немедленно);

– в-третьих, контролировать, чтобы соблюдалась гигиена работников производства.

Последний вопрос также уточняется в п. 4.1.4 ГОСТ Р 56398-2015/ISO/TS 22002-4:2013. Он обязывает предприятие предусмотреть наличие раковин (желательно со смесителями, включаемыми локтем или ногой), туалетов, чистой воды, мыли и дезинфицирующих средств.

Безусловно, обеспечение личной гигиены – это непосредственная обязанность самих работников производства. Так, **для обеспечения безопасности производимой пищевой продукции, сотрудники обязаны:**

– оставлять одежду и личные вещи в раздевалках;

– мыть руки до начала любой обработки пищевой продукции; сразу после использования туалета или высмаркивания; сразу после работы с потенциально загрязненным объектом (материалом);

– носить спецодежду, которая должна быть чистой и в надлежащем состоянии; не использовать спецодежду в иных целях;

– полностью прикрывать волосы, бороду и усы;

– не использовать лак для ногтей, накладные ресницы и ногти; ногти на пальцах должны быть чистыми и остриженными;

– использовать полностью закрытую обувь, изготовленную из негигроскопичных материалов;

– принимать пищу, курить, жевать резинку в специально отведенных для этого местах;

– снимать ювелирные украшения, часы и другие предметы;

– сообщать руководству о заболеваниях и патологических состояниях, которые не допускают пребывания в зонах производства и обработки пищевой продукции.

Ввиду того, что правила личной гигиены работников пищевой промышленности установлены законодательно, за их нарушение предусмот-

рена ответственность перед государством. Согласно ст. 6.6 КоАП РФ, предусмотрены штрафы: для физических лиц – от 1000 до 1500 руб., для руководителей и индивидуальных предпринимателей – от 5000 до 10 000 руб., для организаций – от 30 000 до 50 000 руб. Производство-нарушитель рискует получить административное приостановление работы на срок до 3-х месяцев.

Следует отметить, что для отдельных видов пищевых производств существуют индивидуальные санитарные правила¹⁵⁸. Так, на предприятиях по *производству молочной продукции* должно использоваться максимально закрытое оборудование для снижения микробной контаминации молока микроорганизмами. Одновременно с этим, работник должен соблюдать не только общие, указанные выше правила личной гигиены. К примеру, работники, занятые приемом, переработкой и разливом молока перед работой обязаны принимать теплый душ.

На *мясокомбинате и других мясоперерабатывающих предприятиях* необходимо предотвращать заражение работающих людей антропоозоонозами для обеспечения производства безопасной пищевой продукции. Специфика данных предприятий заключается также и в том, что на производстве нередко попадают животные-бактерионосители со скрытой формой болезни, способной заразить работающих и их одежду, контаминировать патогенами конвейерную линию, оборудование, воздух, мясопродукты здоровых туш¹⁵⁹. Поэтому руки и инструменты необходимо обмывать теплой водой температуры 55°C, которая значительно освобождает поверхность от жировой прослойки, а также большинства микробов, а затем использовать дезинфицирующий раствор в соответствующей концентрации, выдерживая время экспозиции, методом погружения. В разделочном и других цехах, где работа связана с большой влажностью и разбрызгиванием воды, рабочих снабжают дополнительно спецодеждой: прорезиненными фартуками, нарукавниками, резиновыми перчатками, сапогами, а при необходимости и защитными очками.

¹⁵⁸ Гусев А.В. Правила личной гигиены работников предприятий пищевой промышленности // Санэпидконтроль. Охрана труда. 2017. №4. – URL: https://www.profiz.ru/sec/4_2017/gigiena_v_pitanii/

¹⁵⁹ **Прим.:** в этом отношении наиболее опасны являются убойный, разделочный и колбасный цех, так как инструменты и руки, покрытые жиром, плохо отмываются водой комнатной температуры и практически не дезинфицируются в связи с тем, что жировая пленка защищает микробов от обеззараживающего действия дезинфекторов.

Вопросы для самоконтроля

1. Перечислите основные санитарно-гигиенические требования.
2. Дайте определение понятию «дезинфекция».
3. Какие элементы составляет система дезинфекционной деятельности?
4. Перечислите основные методы и способы дезинфекции.
5. Какие виды дезинсекции Вы знаете?
6. Какие методы и способы дезинсекции Вам известны?
7. Дайте определение понятию «дератизация».
8. Какие методы дератизации Вы знаете?
9. Какие меры должен предпринять руководитель пищевого предприятия для обеспечения исполнения правил личной гигиены работников?
10. Каковы обязанности сотрудников относительно обеспечения безопасности производимой пищевой продукции?

Глава 8. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха

8.1. Микрофлора воздуха: источники и состав

С санитарно-микробиологической точки зрения воздух представляет собой среду, в которой микроорганизмы не способны размножаться, т.к. в нем отсутствуют питательные вещества, постоянная оптимальная температура и уровень влажности, а солнечные лучи, как известно, оказывают бактерицидное действие. Одновременно с этим, в воздухе все же присутствуют пигментирующие кокки, споры бактерий, плесеней и актиномицетов, отличительной особенностью которых является большая устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, таким как высушивание, ультрафиолетовые лучи солнечного света, колебания температуры и проч. Основным **источником микрофлоры воздуха** является почвенный покров, растительный и животный мир, а также производственная деятельность человека¹⁶⁰.

Коллоидная система, состоящая из воздуха, капелек жидкости или твердых частиц и включающая различные микроорганизмы, называется **аэрозолем**. Аэрозоль активно перемещается в горизонтальном и вертикальном направлениях, и чем больше его в воздухе, тем больше он содержит микроорганизмов. Таким образом, микроорганизмы, обнаруживаемые в воздухе находятся в *аэрозольном* или *взвешенном состоянии*. Аэрозольные частицы, как правило, имеют величину 10-2000 нм.; в момент чихания, например, может формироваться до 40 тыс. капель.

Жизнеспособные микроорганизмы могут находиться в различных **фазах бактериального аэрозоля**:

– *в капельной (крупнокапельной) фазе*; она представлена мелкими каплями, длительно сохраняющимися в воздухе, однако, испаряющимися до оседания (бактериальные клетки, окруженные водно-солевой оболочкой; скорость перемещения – в среднем 30 см/с; диаметр таких частиц более 100 мкм);

– *в фазе высохших бактериальных капель (пылевой или мелко ядерной фазе)*; она представлена крупными, оседающими каплями, в ре-

¹⁶⁰ **Прим.:** доказать существование микроорганизмов в атмосферном воздухе впервые удалось лишь в XIX в. французскому ученому *Луи Пастеру*. Изучая вопросы самозарождения жизни (1860), он определял содержание микроорганизмов в воздухе комнат, улиц, гор. Для этого кончик трубки, отходящей от стеклянной колбы с питательной средой, отламывал, а после того воздух проникал в колбу, быстро запаивал трубку и взбалтывал. Через некоторое время питательная среда изменялась, становилась мутной («проросла»). Это означало, что в нее проникли микроорганизмы из воздуха.

зультате образующими частицы, которые могут подниматься вверх движением воздуха (состоит из бактериальных клеток, сохранивших только химически связанную воду на своей поверхности и свободную воду внутри клеток; скорость оседания частиц составляет, в среднем, 0,013 см/с, скорость передвижения превышает 30 см/с; диаметр частиц $10 \text{ мкм}^{-1} \text{ мм}$)¹⁶¹;

– в *капельно-ядерной фазе (фазе бактериальной пыли)*; из первых двух фаз бактерии могут переходить в состав более крупных частиц, оседающих в виде пыли на различных предметах, образуя, тем самым т.н. «бактериальную пыль», одним из ключевых свойств которой является способность легко диспергироваться под воздействием даже малых токов воздуха (устойчивый аэрозоль из частиц диаметром $<5 \text{ мкм}$; размер частиц варьирует от 0,01 до 1 мм; в зависимости от размера частиц и скорости воздушных течений, скорость их перемещения находится в пределах 0,5-30 см/с)¹⁶².

Воздух закрытых помещений (жилых и производственных), равно как и в атмосферном воздухе, большинство микроорганизмов находится в *пылевой фазе бактериального аэрозоля*, однако, состав микрофлоры имеет свои отличия. Так, среди микроорганизмов атмосферного воздуха доминируют виды, обитающие в почве (см. подробнее пп. 10.1); основную массу составляют сапрофиты, состав которых формируется, по преимуществу, за счет почвенных микробов. В естественных условиях в воздухе обнаруживается порядка 1200 видов бактерий и актиномицетов, около 40 тыс. видов грибов, мхов, папоротников и проч. В самом общем виде, в атмосферном воздухе встречаются *три группы микроорганизмов*:

– пигментообразующие кокки (различные представители рода *Micrococcus* и др.), объем которых в солнечные дни составляет до 70-80% всей флоры (пигмент защищает бактерии от инсоляции);

– почвенные споровые и гнилостные микроорганизмы (например, *Bacillus subtilis*, *B. cereus var. mycoides*, *B. mesentericus*), содержание которых увеличивается в сухую и ветренную погоду;

¹⁶¹ **Прим.:** эта фаза представляет наибольшую эпидемиологическую опасность, так как в ее составе распространяется большинство возбудителей воздушно-капельных инфекций, особенно малоустойчивых к внешним воздействиям (например, возбудитель коклюша).

¹⁶² **Прим.:** вследствие длительного пребывания во взвешенном состоянии и способности частиц проникать в дистальные отделы легких, мелкодисперсная бактериальная пыль также представляет эпидемиологическую опасность. Эта фаза бактериального аэрозоля преобладает в воздухе закрытых помещений и с ней рассеиваются патогенные микроорганизмы, устойчивые к высушиванию (микобактерии, клостридии, стафилококки, стрептококки, грибы).

– плесневые грибы и дрожжи (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* и др.), содержание которых, соответственно, увеличивается при повышении влажности воздуха.

Помимо метеорологических условий и времени года, видовой состав микрофлоры воздуха также определяется географическими особенностями региона, санитарным состоянием местности (местными источниками загрязнения) и рядом других факторов. Считается, что в поверхностных слоях атмосферы преобладают плесени, вблизи земли – бактериальные формы. Классическими представителями микрофлоры воздуха, помимо названных, являются: *Bac. subtilis*, *M. flavus*, *Bac. megatherium*, *Sarcina alba*, *Staphylococcus aureus*, *St. citreus*, *Torula alba*, *Actinomyces* и др. Их количество на 1 м³ воздуха может колебаться от нескольких клеток до десятков тысяч. Так, на животноводческой ферме их количество может составить до 2 млн. м.т., в закрытых помещениях – 20 тыс. м.т., на улицах городов – 5 тыс. м.т., в парках – 200 м.т., в морском воздухе – 1-2 м.т. и так далее.

Микрофлора воздуха закрытых помещений (жилых и производственных), как правило, более однообразна и относительно стабильна, одновременно с этим, в нем обнаруживается как сапрофитная микрофлора наружного воздуха, так и микроорганизмы, выделяемые человеком через дыхательные пути в виде аэрозоля при чиханье, кашле и разговоре. Следовательно, присутствие в помещении бактерионосителя создает реальную угрозу массового обсеменения воздуха патогенными микроорганизмами. Многие заболевания могут передаваться воздушно-капельным путем (грипп, корь, коклюш, дифтерия, бруцеллез, туберкулез и проч.). Так, например, в воздухе жилых помещений могут обнаруживаться такие патогены, как туберкулезная палочка, сибиреязвенные и столбнячные споры, пневмококки, возбудители гангрены, стрептококки, стафилококки и др. Вдыхая такой воздух, человек и животные могут заразиться той или иной болезнью. Безусловно, бактериальная пыль также может служить причиной опасных заболеваний (туберкулез, туляремия, дифтерия и проч.). Кроме того, микроорганизмы могут попадать в воздух со слущивающимся эпителием кожных покровов, с пылью загрязненного постельного белья, спецодежды или зараженной почвы.

Численный и видовой состав микрофлоры воздуха закрытых помещений (жилых и производственных) зависит от скопления людей, активности

их движения, санитарно-гигиенического состояния этих помещений, в т.ч. пылевой загрязненности, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещенности и других условий, а также вида перерабатываемой продукции и характера технических операций. Так, в животноводческих помещениях аэрозоли возникают при отфыркивании, быстром перемещении животных, во время раздачи кормов, особенно грубых, а также при чихании, кашле и общении обслуживающего персонала. Как уже было указано выше, в 1 м³ воздуха животноводческих помещений может содержаться до 2 млн микробных клеток (в т.ч. патогенных), а иногда и более. Степень обсемененности воздуха микроорганизмами на производстве будет зависеть от вентиляции, скученности животных, вида помещений, способа содержания животных и раздачи сухих кормов. По некоторым данным, в помещениях с плохой вентиляцией число микробов в 1 м³ воздуха в 506 раз больше, чем в хорошо вентилируемых помещениях¹⁶³.

При оценке санитарного состояния закрытых помещений (жилых и производственных) в зависимости от задач исследования определяют *общее микробное число*, наличие санитарно-показательных микроорганизмов (стафилококков, α - и β -гемолитических стрептококков, являющихся показателями контаминации микрофлорой носоглотки человека). Кроме того, например, при исследовании воздуха на пищевых производствах, помимо показателя общей обсемененности определяют те группы микроорганизмов, которые являются характерными возбудителями порчи данных видов продукции или могут встречаться в данном производственном помещении (дрожжи и грибы – в холодильниках, стафилококки – в цехе производства мороженого и проч.). На предприятиях микробиологической промышленности, где в производстве используются актиномицеты, грибы, спорообразующие бациллы, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и др., изучается присутствие и количественное содержание в воздухе микробов-продуцентов с целью предупреждения воздействия их на организм работающих людей (возможность заболевания и развития сенсibilизации).

8.2. Методы исследования микрофлоры воздуха помещений

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха, как правило, происходит в **четыре этапа** – отбор проб (методами оседания под действием гравитационных сил (седиментации), осаждения микробных аэро-

¹⁶³ Каменская Е.П. Указ. соч. С. 21-22.

золе при помощи дополнительной кинетической энергии, фильтрации воздуха через жидкости и проч.¹⁶⁴); обработка, транспортировка, хранение проб; бактериологический посев, культивирование микроорганизмов; идентификация выделенной культуры (определение патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов, ОМЧ). Первый этап исследования – самый ответственный; правильное взятие проб гарантирует его точность. В закрытых помещениях локации отбора устанавливаются из расчета на каждые 20 м² площади – одна проба воздуха, по типу конверта: четыре локации по углам помещения (на расстоянии 0,5 м от стен) и пятая локация – в центре. Пробы воздуха забираются на высоте 1,6-1,8 м от пола – на уровне дыхания в закрытых помещениях, и в дневное время (в период активной деятельности человека), после влажной уборки и проветривания помещения. Атмосферный воздух исследуется на уровне 0,5-2 м от земли вблизи источников загрязнения, а также в зеленых зонах для оценки их влияния на микрофлору воздуха.

Санитарная оценка воздуха помещения осуществляется по **двум микробиологическим показателям**: *общему количеству бактерий* и *количеству санитарно-показательных микроорганизмов* (в т.ч. стафилококков, α - и β -гемолитических стрептококков, являющихся показателями контаминации микрофлорой носоглотки человека¹⁶⁵) в 1 м³ воздуха (в помещениях для животных – коровниках, свинарниках, птичниках, крольчатниках, мясо- и птицекомбинатов – по числу МАФАНМ и наличию СПМ в 1 м³ атмосферного воздуха). Для обнаружения микроорганизмов в воздухе предложено большое количество методов и приборов, позволяющих определять как общее количество, так и состав микрофлоры (см. рисунок 8.1). В основу методов положены **два принципа**: оседание (седиментация) и засасывание (аспирация)¹⁶⁶.

¹⁶⁴ См. подробнее: Милевский И. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха. – 29.09.2019 // Dommedika. – URL: https://dommedika.com/medicinskaia_mikrobiologia/sanitarnaia_mikrobiologia.html

¹⁶⁵ Прим.: в качестве диагностической среды для выявления СПМ используют *кровяной агар*. Зеленеющий стрептококк имеет вокруг выросших колоний положительную зону неполного просветления с позеленением среды. Гемолитический стрептококк образует на поверхности кровяного агара колонии, окруженные зоной гемолиза.

¹⁶⁶ См. подробнее: Трухачев В.И., Дмитриев А.Ф., Морозов В.Ю., Скорых Л.Н., Колесников Р.О., Сытник Д.А. Способ микробиологического анализа воздуха // Научный журнал КубГАУ. 2015. №108. С. 500-511; Лыков И. Н., Павлова О. П. Медико-экологические аспекты бактериальной контаминации воздуха и поверхностей офисов и учебных аудиторий // Проблемы региональной экологии. 2020. №2. С. 96-100; Мальцева О.Н., Исламова А.А. Микробиологический мониторинг производственной среды в условиях бирского комбината молочных продуктов // СНВ. 2020. №4 (33). С. 99-103.

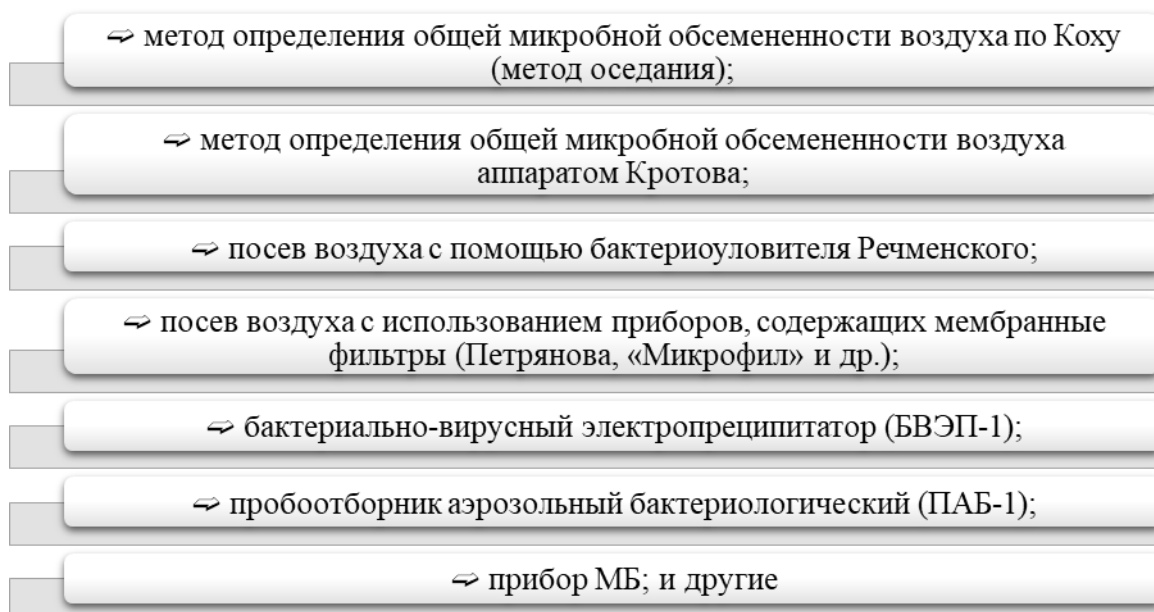


Рисунок 8.1 – Методы и приборы определения общей микробной обсемененности воздуха¹⁶⁷

8.2.1. Метод определения общей микробной обсемененности воздуха по Коху (метод оседания)

Седиментационный метод (метод Коха) определения количества микроорганизмов в воздухе основывается на принудительном их осаждении микроорганизмов на поверхность соответствующей плотной питательной среды, т.е. оседании микроорганизмов, капелек жидкости и пылинок под влиянием силы тяжести на поверхность агара открытой чашки Петри. Контроль воздуха происходит следующим образом: готовят две стерильные чашки, одну из которых заливают расплавленным мясопептонным агаром (МПА), другую – сусло-агаром (СА). После застывания агара чашки переносят в исследуемое помещение, открывают крышки, сдвигают их на края бортиков так, чтобы вся поверхность питательной среды была полностью открыта. Чашки оставляются открытыми в течение 5-15 минут в зависимости от степени загрязненности воздуха, затем их закрывают, переворачивают вверх дном и помещают в термостат¹⁶⁸. Выдержи-

¹⁶⁷ См. подробнее: Юхневич Г.Г. Микроорганизмы в биоиндикации и биотестировании: лаб. практикум / Г.Г. Юхневич, И.М. Колесник. – Гродно: ГрГУ, 2012. – 51 с.; Микробиота воздушной среды: учебно-методическое пособие / Новосиб. гос. аграр. ун-т. Биол.-технолог. фак.; сост.: Л.А. Литвина, И.Ю. Анфилофьева, В.Г. Горских. – 3-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2021. – 49 с. – С. 8-15.

¹⁶⁸ Прим.: если чашки не переворачивать вверх дном, то конденсационная влага, выделяющаяся из агаризованной среды, будет попадать с внутренней стороны крышки на поверхность среды и размывать колонии микроорганизмов.

вание в первом случае (МПА) происходит при температуре 37°C в течение 24 ч, во втором (СА) – при 30 °C в течение 48 ч.

Для определения количества микроорганизмов в 1 м³ воздуха используется **формула (правило) В.Л. Омелянского**, согласно которой на поверхность чашки площадью 100 см² оседает в течение 5 минут столько микроорганизмов, сколько содержится в 10 дм² воздуха:

$$X = a \times 100 \times 5 \times 100 / ST,$$

где: a – число колоний, выросших на чашке; 100 – пересчет площади чашки на 100 см²; 5 – экспозиция чашки по Омелянскому, мин; 100 – пересчет на 1 м³ воздуха; S – площадь чашки Петри (78,5 см²); T – время экспозиции открытой чашки, мин.

Решим небольшую задачу: предположим, что в чашке Петри площадью 78,5 см² обнаружено в результате посева 25 колоний (т.е. 25 бактерий). Необходимо рассчитать, сколько бактерий (X) осело бы в чашку площадью 100 см². Составим пропорцию:

$$25 \text{ бак.} - 78,5 \text{ см}^2; X \text{ бак.} - 100 \text{ см}^2;$$

$$X = \frac{100 \times 25}{78,5} = 31 \text{ бак.}$$

Таким образом, на площади 100 см² выросла бы 31 бактерия, т.е. столько бактерий содержится в 10 л воздуха. Один кубический метр воздуха равен 1000 л, поэтому в нем будет содержаться $31 \times 100 = 3100$ бактерий. Полученное количество бактерий в 1 м³ воздуха сравнивают с нормами для каждого типа помещений. Опыт проводят в четырех повторах, с нормой сравнивается среднее количество бактерий. Владея этим методом, чашки Петри можно размещать в различных помещениях на различных уровнях, учитывая среднее количество бактерий.

Кроме метода Коха, основанном на простом осаждении воздуха на поверхности питательной среды, можно для посева использовать различные приборы, дающие более точные данные.

8.2.2. Метод определения общей микробной обсемененности воздуха аппаратом Кротова (метод засасывания)

Аспирационный метод (метод Кротова) основан на ударно-прибивном действии струи исследуемого воздуха, проводится при помощи щелевого аппарата конструкции Ю.А. Кротова (см. рисунок 8.2). Принцип его работы заключается в том, что воздух, просасываемый через клиновидную щель в крышке аппарата, ударяется о поверхность питательной среды; частицы пыли и аэрозоля к ней прилипают, а вместе с ними и микроорганизмы, находящиеся, соответственно, в воздухе.

Сам прибор смонтирован в портативном ящике; он состоит из узла для отбора пробы, куда на специальную площадку помещают чашку Петри без крышки, электромотора, вентилятора и ротаметра. Вентилятор, вращаясь с частотой 4-5 тыс. об/мин, засасывает воздух (за 1 мин прибор может засасывать от 25 до 50 л воздуха), струя которого ударяется о поверхность питательной среды в чашке Петри, оставляя на ней микроорганизмы. Воздух выходит из прибора через ротаметр. Для равномерного распределения микроорганизмов на поверхности среды диск с чашкой вращается с частотой 60 об/мин. Скорость протягивания воздуха составляет 25 дм³/мин. При определении общей численности бактерий количество пропущенного воздуха должно составлять 100 дм³. Засеянные чашки вынимают из аппарата, закрывают их крышками, помещают на 24 ч в термостат при температуре 37°С, затем вынимают и оставляют при комнатной температуре на 24 ч. Число выросших колоний рассчитывается по следующей формуле:

$$X = a/1000 \times V,$$

где: a – количество выросших на чашке колоний; V – объем пропущенного через прибор воздуха; 1000 – искомый объем воздуха, дм³.

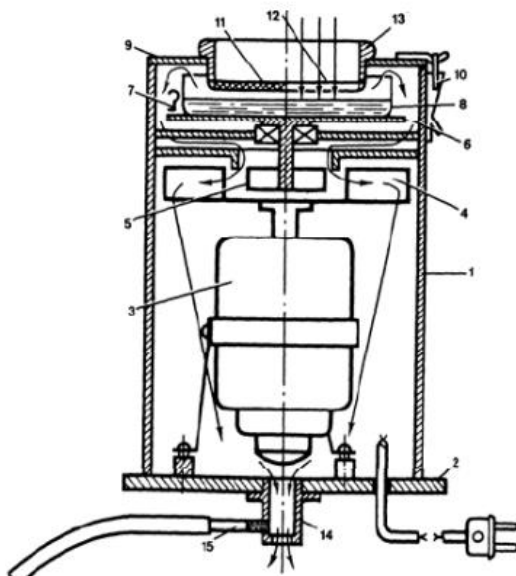


Рисунок 8.2 – Аппарат Кротова
(схема конструкции) *



Рисунок 8.3 – Пробоотборное устройство ПУ-1Б

Источник: <https://ekosf.ru/>

* *Прим:* 1 – цилиндрический корпус; 2 – основание корпуса; 3 – электромотор; 4 – центробежный вентилятор; 5 – восьмилопастная крыльчатка; 6 – диск; 7 – пружины; 8 – чашка Петри; 9 – крышка прибора; 10 – накладки замки; 11 – диски из плексигласа; 12 – клиновидная щель; 13 – разрезное кольцо; 14 – штуцер с диафрагмой; 15 – выводная труба

В настоящее время при исследовании воздуха закрытых помещений, в т.ч. в лабораториях СЭС, более широко применяется **устройство ПУ-1Б** (см. **рисунок 8.3**). Принцип его работы также основан на том, что воздух, просасываемый через отверстия в крышке аппарата, ударяется о поверхность питательной среды, при этом частицы пыли и аэрозоля прилипают к среде, а вместе с ними и микроорганизмы, находящиеся в воздухе. Чашку Петри с тонким слоем среды укрепляют на вращающемся столике аппарата, что обеспечивает равномерное распределение бактерий на ее поверхности. Работает аппарат от электросети. После отбора пробы с определенной экспозицией чашку вынимают, закрывают крышкой и помещают на 48 ч в термостат. Обычно отбор проб проводят со скоростью 200 л/мин в течение 0,5-5 мин. Таким образом, определяется флора в 100-1000 л воздуха. Приемник перед забором пробы воздуха заполняется 3-5 мл улавливающей жидкости (водой, мясопептонным бульоном, изотоническим раствором хлорида натрия).

8.2.3. Другие приборы определения общей микробной обсемененности воздуха аспирационным методом

В практике санитарно-микробиологических исследований при аспирационном взятии проб воздуха также используются: *бактериоуловитель Речменского*, прибор для отбора проб воздуха (ПОВ-1), *пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-1)*, *бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1)*, прибор Киктенко, приборы Андерсена, Дьяконова, МБ и другие. Для исследования атмосферы могут быть использованы и мембранные фильтры № 4, через которые воздух просасывается с помощью аппарата Зейтца¹⁶⁹. Большое разнообразие приборов свидетельствует об отсутствии универсального аппарата и о большей или меньшей степени их несовершенства.

Бактериоуловитель Речменского представляет собой полный стеклянный цилиндр, внутри которого впаяна воронка с капилляром, сообщаемым с приемником (см. рисунок 8.4). Приемник перед забором пробы воздуха также заполняется 3-5 мл улавливающей жидкости. Принцип работы прибора Речменского – пульверизаторный: при прохождении воздуха через узкое отверстие воронки жидкость из приемника через капилляр в виде капелек поднимается в цилиндр. Капли жидкости дробятся еще больше, ударяясь о стеклянную лампочку и стенки сосуда, создавая облачко из мелких капель, на которых и адсорбируются находящиеся в воздухе микроорганизмы. Насыщенные бактериями капли жидкости стекают в приемник и далее вновь диспергируются, что обеспечивает максимальное их улавливание. При работе прибор помещают под углом 15-25°, что дает возможность обеспечить нормальное стекание улавливаемой жидкости в приемник. Скорость отбора проб воздуха через аппарат Речменского – 10-20 л/мин. По окончании работы жидкость из приемника забирают стерильной пипеткой и засевают (по 0,2 мл) на поверхность плотных питательных сред.

Основным преимуществом бактериоуловителя Речменского является высокая эффективность улавливания бактериальных аэрозолей, тогда как недостатки прибора заключаются в трудности его изготовления, нестан-

¹⁶⁹ Прим: для посева воздуха в настоящее время являются и другие приборы, содержащие мембранные фильтры (например, Петрянова, ФСКО-1000, ФАРТОС Ц-500С и проч.). Такие фильтры обладают способностью сдерживать все микроорганизмы, содержащиеся в воздухе, поэтому их устанавливают на пути воздушной струи в специальных приборах. Фильтры после контакта с воздухом прижимают к поверхности питательной среды в чашках Петри, и осевшие на них микроорганизмы переносятся. Культивация происходит в термостате, далее подсчитывается количество выросших колоний.

дартности получаемых аппаратов, их большой хрупкости и сравнительно низкой производительности.

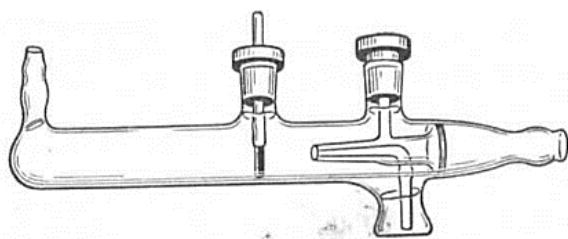


Рисунок 8.4 – Бактериоуловитель Речменского

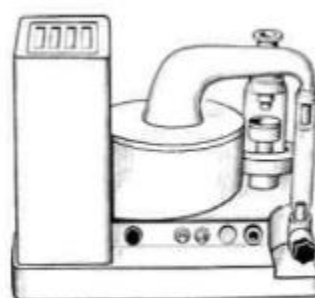


Рисунок 8.5 – Бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1)

Бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1), в свою очередь, основан на аспирационно-ионизационном принципе действия (см. рисунок 8.5). Он состоит из осадительной камеры, в которую вмонтированы электроды: отрицательный в виде приводящей трубки, через которую поступает воздух (и, соответственно, частицы аэрозоля заряжаются отрицательно), и положительный, на котором оседают бактерии. В самом общем виде, прибор представляет собой металлическую чашу с улавливающей жидкостью (как правило, используется мясопептонный бульон, 0,5 % мясопептонный агар, а при минусовых температурах – смесь 66,7 % глицерина с 33,3 % мясопептонного бульона). Считается, что БВЭП-1 обладает большей эффективностью в сравнении с аппаратом Кротова.

Механизм действия **пробоотборника аэрозольного бактериологического (ПАБ-1)** основан на принципе электростатического осаждения частиц аэрозоля (в значит и микроорганизмов) из воздуха при прохождении его через прибор, в котором эти частицы получают электрический заряд и осаждаются на электродах с противоположным знаком. Для улавливания аэрозолей на них помещают в горизонтальном положении металлические поддоны с твердыми средами в чашках Петри или жидкой питательной средой (15-20 мл). Прибор переносной с большой производительностью 150-250 л/мин, т.е. за 1 ч можно отобрать 5-6 м³ воздуха. Его рекомендуют применять для исследования больших объемов воздуха при обнаружении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, например, при выявлении в воздухе палат больниц возбудителей внутрибольничных инфекций

(*Pseudomonas aeruginosa*, *Staph. aureus* и др.), определении сальмонелл и эшерихий в атмосферном воздухе в местах дождевания при орошении сельскохозяйственных полей сточными водами¹⁷⁰.

Современные пробоотборники имеют более совершенный функционал и разновидности (см. рисунок 8.6). Так, например, принцип работы пробоотборников аэрозольных «Циклон-БИО» также основан на отборе проб воздуха с аэрозольными частицами определенного размера за счет инерциального разделения и осаждения этих частиц на жидком осадителе. (см. рисунок 8.7). При этом отбор пробы производится с фиксированным значением объемного расхода (200-10000 дм³/мин). Диапазон размеров отбираемых аэрозольных частиц составляет от 0,5 до 5 мкм.



Рисунок 8.6 – Пробоотборник микробиологический MAS-100 VF



Рисунок 8.7 – Пробоотборник аэрозольный «Циклон-БИО»

Источник: <https://all-pribors.ru/>

Конструктивно пробоотборник состоит из двух блоков: пробоотборного (модуль импактора) и электронного (модуль циклона), соединенных друг с другом гибким воздуховодом. Основными элементами пробоотборного блока являются: вентилятор, с помощью которого осуществляется забор воздуха, и щелевой импактор, который отсекает в отбираемом воздухе аэрозольные частицы определенного размера; электронного блока: циклонный коллектор, в котором осуществляется осаждение отобранных ча-

¹⁷⁰ См. подробнее: Акмалов А.Э., Котковский Г.Е., Столяров С.В., Вердиев Б.И., Овчинников Р.С., Почтовый А.А., Ткачук А.П., Чистяков А.А. Высокопроизводительный аэрозольный пробоотборник с рециркуляцией жидкой фазы и предварительным концентрированием // Вестник РГМУ. 2018. №4. С. 29-36.

стиц путем взаимодействия воздушного потока с рециркулирующей жидкой фазой (водой), электронное устройство управления работой пробоотборника, жидкокристаллический дисплей. Результатом пробоотбора является жидкая проба с осажденными частицами объемом не более 10 мл¹⁷¹.

Пробоотборники «Циклон-БИО», равно как и другие подобные устройства, имеют встроенное программное обеспечение, разработанное НИЯУ МИФИ, основными функциями которого выступают: управление работой пробоотборника, контроль заданных параметров пробоотбора.

Важно понимать, что при использовании любых, даже самых современных приборов определения общей микробной обсемененности воздуха получаемые результаты являются приблизительными, однако они дают более правильную оценку обсемененности воздуха в сравнении с седиментационным методом. Поскольку и отбор, и санитарно-микробиологические исследования воздуха не регламентированы ГОСТ, то можно использовать любой прибор для оценки бактериальной загрязненности воздуха. Во многих случаях отбор проб совмещен с этапом посева.

8.3. Способы очистки и обеззараживания воздуха

Как правило, **способы очистки и обеззараживания воздуха** подразделяют на *физические* и *химические*. К первым относят вентиляцию, фильтрацию и ультрафиолетовое облучение. Очистка поступающего воздуха путем фильтрации, безусловно, более эффективно, чем вентиляция; фильтры (грубой и тонкой очистки), пропитанные специальной пылесвязывающей жидкостью и установленных вентиляторах, задерживают до 95% микроорганизмов и частиц пыли. Подбор фильтров и порядок их использования зависит от того, какая чистота воздуха должна быть обеспечена в том или ином помещении производства. Непосредственно для обеззараживания производственных помещений целесообразнее использовать УФ-излучение (бактерицидные лампы и облучатели).

При химическом способе применяются различные дезинфицирующие препараты, которые, безусловно, должны быть безвредными для людей, а также не вызывать порчу оборудования, сырья и продуктов. Таким требованиям отвечает молочная кислота, триэтиленгликоль, хлорсодержащие препараты, которые распыляют в воздухе. Данная технология обработки

¹⁷¹ Описание типа средства измерений: Пробоотборники аэрозольные «Циклон-БИО» (Приложение к свидетельству № 72796 об утверждении типа средств измерений. Лист 1). – URL: <http://www.kaf81mephi.ru/wp-content/uploads/2020/07/Описание-Циклон-Био.pdf>

воздуха и поверхностей рекомендуется в качестве основного (вспомогательного) или альтернативного метода для обеззараживания воздуха и поверхностей при проведении заключительной дезинфекции, при различных типах уборки; для обеззараживания систем вентиляции и кондиционирования воздуха при проведении профилактической дезинфекции, дезинфекции по эпидемиологическим показаниям и очаговой заключительной дезинфекции.

Безусловно, наиболее эффективны *комбинированные методы* очистки и дезинфекции воздуха, поэтому довольно часто используют и физические и химические способы вместе. Кроме того, для обеззараживания воздуха используют также *озонирование*. Бактерицидное действие озона как самого мощного в природе дезинфектанта превосходит УФ-облучение и дезинфицирующие средства в 30-50 раз. Эффективность озонирования существенно зависит от концентрации озона, продолжительности обработки, численности и видового состава микрофлоры объекта.

8.3.1. Физические способы очистки и обеззараживания воздуха: применение бактериальных фильтров

Механические фильтры используют такой способ очистки, при котором загрязненный воздух проходит через волокнистые материалы и осаждаются на них. Санитарно-эпидемиологические правила регламентируют необходимость очистки воздуха, подаваемого приточными установками, фильтрами грубой и тонкой очистки. Однако, их подбор и порядок использования, как уже было отмечено выше, будет зависеть от того, какая чистота воздуха должна быть обеспечена в конкретном помещении предприятия. Так, например, на пищевом производстве микробное число не должно превышать 500 клеток в 1 м³ воздуха.

Наряду с механическими фильтрами также применяются **ионные электростатические** и **фотокаталитические воздухоочистители**. Принцип действия первых заключается в том, что частицы загрязнения размером от 0,01 до 100 мкм, проходя через ионизационную камеру, приобретают заряд и осаждаются на противоположно заряженной пластине. При использовании вторых, в свою очередь, происходит разложение и окисление микроорганизмов и химических веществ на поверхности фотокатализатора под действием ультрафиолетовых лучей.

Применение исключительно физических способов очистки и обеззараживания воздуха не целесообразно, т.к.: во-первых, названные технологии не действуют на микроорганизмы, размещенные на поверхностях; во-вторых, снижают влажность воздуха помещений; в-третьих, появляется необходимость регулярного технического обслуживания и своевременной замены фильтрующих элементов.

8.3.2. УФ-излучение как способ очистки и обеззараживания воздуха

Ультрафиолетовое бактерицидное облучение воздушной среды помещений – это наиболее распространенное профилактическое мероприятие, направленное на снижение количества микроорганизмов в воздухе жилых, бытовых и производственных помещений, а также профилактику инфекционных заболеваний, среди которых и COVID-19. Основная идея заключается в том, что УФ-лучи являются частью спектра электромагнитных волн оптического диапазона; они оказывают повреждающее действие на ДНК микроорганизмов, что, соответственно, приводит к гибели микробной клетки в первом или последующих поколениях. Стоит сказать, что вирусы и бактерии в вегетативной форме более чувствительны к его воздействию, чем плесневые грибы и дрожжи, споровые формы бактерий. Однако, в любом случае, *эффективность бактерицидного обеззараживания воздуха при помощи УФ-излучения* будет зависеть от: видовой принадлежности микроорганизмов, находящихся в воздухе; спектрального состава УФ-излучения¹⁷²; интенсивности импульса, выдаваемого источником УФ-лучей, экспозиции; объема обрабатываемого помещения; расстояния от источника угла падения УФ-лучей («не работают» в затененных местах помещения); состояния воздушной среды помещения (влажности, температуры, уровня запыленности, скорости потоков воздуха).

Способы применения УФ-излучения представлены на **рисунке 8.8**.

¹⁷² **Прим.:** спектральный состав УФ-излучения, вызывающего бактерицидное действие, лежит в интервале длин волн от 205 до 315 нм.

⇒ **прямое облучение** проводится в отсутствие людей (перед началом работы, в перерывах между выполнением определенных манипуляций, приема пациентов) с помощью бактерицидных ламп, закрепленных на стенах или потолке либо на специальных штативах, стоящих на полу;

⇒ **непрямое облучение** (отраженными лучами) осуществляется с использованием облучателей, подвешенных на высоте 1,8-2 м от пола с рефлектором, обращенным вверх таким образом, чтобы поток лучей попадал в верхнюю зону помещения; при этом нижняя зона помещения защищена от прямых лучей рефлектором лампы. Воздух, проходящий через верхнюю зону помещения, фактически подвергается прямому облучению;

⇒ **закрытое облучение** применяется в системах вентиляции и автономных рециркуляционных устройствах, допустимо в присутствии людей. Воздух, проходящий через бактерицидные лампы, находящиеся внутри корпуса рециркулятора, подвергается прямому облучению и попадает вновь в помещение уже обеззараженным.

Рисунок 8.8 – Способы применения УФ-излучения

В зависимости от выбранного способа, будет применяться та или иная технология. Как правило, используются *бактерицидные лампы* (ртутные низкого накаливания, ртутно-кварцевые высокого давления и ксеноновые импульсные лампы) и *бактерицидные облучатели* (открытые и закрытые) – электротехнические устройства, в состав которых входят: бактерицидная лампа, отражатель и другие вспомогательные элементы, а также приспособления для крепления. Бактерицидные облучатели перераспределяют поток излучения, сгенерированного лампой, в окружающее пространство в заданном направлении¹⁷³.

Несмотря на очевидное преимущество УФ-излучения перед вентиляцией и фильтрацией, данный способ очистки и обеззараживания воздуха имеет довольно *широкий спектр недостатков*:

- при использовании открытых излучателей требуются средства индивидуальной защиты (СИЗ), запрещается применение в отсутствие персонала;
- эффективность облучения снижается при повышенной влажности, запыленности, а также низких температурах;
- не удаляются запахи и органические контаминанты;

¹⁷³ См. подробнее: Сисин Е.И. Сравним технологии обеззараживания воздуха в медицинских организациях // Санэпидконтроль. Охрана труда. 2016. №2. – ULR: https://www.profiz.ru/sec/2_2016/tehnologii_obezzarazh/

- ртутные лампы не действуют на плесневые грибы;
- бактерицидный поток меняется в ходе эксплуатации, необходим его контроль;
- повышенные требования к эксплуатации и утилизации облучателей, которые содержат ртуть;
- высокая стоимость установки и сложное техническое обслуживание импульсных ксеноновых ламп.
-

8.3.3. Химические способы очистки и обеззараживания воздуха: воздействие аэрозолями дезинфицирующих средств

Антимикробное действие аэрозолей основывается на *двух ключевых процессах* – испарении частиц аэрозоля и конденсация его паров на бактериальном субстрате, и выпадение неиспарившихся частиц на поверхности и образование бактерицидной пленки. В зависимости от размеров частиц **аэрозолей дезинфицирующих средств** различают: «сухой» туман (размер частиц 3,5-10 мкм), «увлажненный» туман (размер частиц 10-30 мкм) и «влажный» туман (размер частиц 30-100 мкм).

Стоит сказать, что данный метод очистки и обеззараживания воздуха имеет довольно много *достоинств* перед другими (однако, как говорилось выше, его рекомендуется применять как основной, вспомогательный или альтернативный), например: высокая эффективность при обработке помещений больших объемов, в частности, труднодоступных мест; одновременное обеззараживание воздуха, поверхностей, систем вентиляции и кондиционирования воздуха; возможность выбора наиболее адекватного режима применения за счет варьирования режимов работы генератора (дисперсности, длительности циклов обработки, нормы расхода, энергии частиц); экономичность и экологичность; минимизация ущерба для объектов обработки (снижение концентрации и норм расхода движущей силы сохраняет оборудование от повреждения).

Одновременно с этим, важно также учитывать и *недостатки метода*, которых, стоит сказать, не так много, однако, все они – важны: первое – опасность вредного химического воздействия на персонал, сырье и продукцию; второе – необходимость дополнительных СИЗ; третье – необходимость длительного проветривания помещений после применения аэрозолей; четвертое – применение только в отсутствие работников; пятое – непригодность для текущей дезинфекции.

8.3.4. Озонирование как способ очистки и обеззараживания воздуха

Озон, как мы уже отмечали выше, – это химическое вещество, молекула которого состоит из трех атомов кислорода (она – нестабильна). При взаимодействии с другими веществами озон легко теряет атомы кислорода, а следовательно, он является одним из наиболее сильных окислителей, намного превосходя двухатомный кислород воздуха (уступает только фтору и нестабильным радикалам). Он окисляет практически все элементы, за исключением золота и платины. Кроме того, озон энергично вступает в химические реакции со многими органическими соединениями, чем, собственно, и объясняется его выраженное бактерицидное действие. Он активно реагирует со всеми структурами клетки, как правило, вызывая нарушение проницаемости или разрушение клеточной мембраны. Также озон обладает дезодорирующим действием.

Одновременно с этим, известно, что озон, будучи газом, негативно воздействует на организм человека, намного сильнее, чем, например, угарный газ. Поэтому по токсичным свойствам его относят к первому классу опасности и требует чрезвычайно осторожного обращения. В помещениях, где работают люди, нельзя допускать утечки озона, в частности, по причине того, что под его воздействием могут образовываться токсичные вещества. Кроме того, из-за высокой химической активности, вещество оказывает сильное коррозионное действие на конструкционные материалы и оборудования.

Помимо перечисленных, к *недостаткам применения озонирования* как способу очистки и обеззараживания воздуха можно отнести: повышенные требования безопасности при работе (при дезинфекции на производстве концентрация озона может достигать 3-10 мг/м³, поэтому обработка проводится в отсутствие людей); озон может распространяться на соседние помещения при негерметичности обрабатываемых помещений, неправильной работе вентиляционных систем или общих воздуховодов; вещество непригодно для текущей дезинфекции; длительное время (102 мин.) саморазложения озона после применения в помещениях, требующих асептичности.

Вопросы для самоконтроля

1. Каков основной источник микрофлоры воздуха?
2. Перечислите основные фазы бактериального аэрозоля.
3. Каковы основные этапы санитарно-микробиологического исследования воздуха?
4. Какие методы определения общей микробной обсемененности воздуха Вы знаете?
5. Дайте краткую характеристику седиментационному методу (методу Коха).
6. На чем основан метод Кротова?
7. Что такое бактериоуловитель Речменского?
8. Какие способы очистки и обеззараживания воздуха Вы знаете?
9. Перечислите основные способы применения УФ-излучения.
10. Назовите основные виды аэрозолей дезинфицирующих средств.

Глава 9. Санитарно-микробиологическое исследование воды

9.1. Микрофлора воды: источники и состав

Вода, используемая, в частности, на предприятиях пищевой промышленности, должна отвечать требованиям, предъявляемым к питьевой воде действующими нормативно-правовыми актами. Питьевая вода – это безопасная для человека вода, которую можно употреблять в неограниченных количествах. В настоящее время ее качество регулируется **СанПиН 2.1.4.1116-02**¹⁷⁴ (фасованная вода) и **СанПиН 2.1.3684-21**¹⁷⁵ (центральное водоснабжение)¹⁷⁶. В этих документах подробно описаны требования к микробиологическим показателям качества воды, однако ввиду того, что человек употребляет воду из различных источников, не прошедших подготовку (в т.ч. обеззараживание), к примеру, колодцев, ручьев и родников, целесообразно будет начать с наиболее часто встречающихся в них представителей *патогенной микрофлоры*.

Наличие патогенных микроорганизмов в воде – неестественно, однако, именно они способны вызывать заболевания человека различной тяжести (брюшной тиф, холера, туляремия, шигеллез, лямблиоз и проч.); носителем, при этом, может выступать как человек, так и животное. В **таблице 9.1** представлены их основные виды патогенов, заражение которыми может произойти через водный источник (жирным шрифтом выделены те микроорганизмы, для которых естественным местом обитания являются абиотические, т.е. неживые объекты окружающей среды). По преимуществу, они присутствуют в природных водах: в поверхностных, колодцах, родниках, реже – в скважинах.

Еще раз обращаем внимание уважаемого читателя, что иллюстрируемая микрофлора не характерна для водоемов, т.е. она *аллохтонна* (от др.-греч. ἄλλος «другой» + χθών «земля»). По современным представлениям санитарно-пищевой микробиологии патогены не размножаются в окружа-

¹⁷⁴ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 19.03.2002 № 12 «О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил и нормативов СанПиН 2.1.4.1116-02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества» // СПС ГАРАНТ.

¹⁷⁵ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 3 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» // СПС ГАРАНТ.

¹⁷⁶ **См. также:** Справочная информация: «Санитарно-эпидемиологическое нормирование» (Материал Консультант-Плюс) (2.1.4. Питьевая вода и водоснабжение населенных мест) // СПС Консультант Плюс. – ULR: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_159501/1ce5cdb4fd4f664c69d3203801137044eb9d79e3/

ющей среде, в частности, в воде, и со временем их содержание, соответственно, падает, что, соответственно, способствует самоочищению¹⁷⁷. Это связано с тем, что указанные микроорганизмы довольно требовательны к температуре, свету, содержанию питательных веществ и проч. Кроме того, собственная микрофлора водоема подавляет рост патогенов. В воде централизованного водоснабжения и бутилированной воде они, конечно при соблюдении технических норм и правил, – не обнаруживаются. Микробиологи полагают, что патогенные микроорганизмы присутствуют в основном в стоках больниц, а также местах массового скопления заболевания, возбудителями которых они являются.

Таблица 9.1 – Патогенные микроорганизмы, заражение которыми может произойти через водный источник¹⁷⁸

Микроорганизм-возбудитель	Представитель микрофлоры	Болезнь, вызываемая возбудителем
<i>Salmonella typhi</i>	бактерия	брюшной тиф
<i>Vibrio cholerae</i>	бактерия	холера
<i>Escherichia coli</i>	бактерия	колиэнтериты
<i>Leptospira spp.</i>	бактерия	лептоспироз
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	бактерия	melioidоз
<i>Vibrio spp. (Vibrio parahaemolyticus)</i>	бактерия	заболевания, вызванные паразитическими вибрионами (НАГ-вибрионы)
<i>Legionella pneumophila</i>	бактерия	легионеллез
<i>Clostridium spp. (Clostridium botulinum)</i>	бактерия	клостридиозы (ботулизм)
<i>Salmonella spp.</i>	бактерия	сальмонеллезы, паратифы А и Б
<i>Shigella dysenteriae</i>	бактерия	дизентерия
<i>Shigella spp.</i>	бактерия	шигеллез
<i>Francisella tularensis</i>	бактерия	туляремия
<i>Hepatitis. A</i>	вирус	болезнь Боткина
<i>Enterovirus C</i>	вирус	полиомиелит
<i>Enterovirus A, B</i>	вирус	болезнь, вызванная вирусом Коксаки
<i>Entamoeba histolytica</i>	протист	амебная дизентерия

¹⁷⁷ **Прим.:** факторы самоочищения тем эффективнее, чем дольше воздействие седиментации, активности других микроорганизмов, температуры, солнечного света, токсических продуктов обмена веществ, органического запаса питательных веществ, недостатка кислорода и других возможных причин, способствующих уменьшению содержания бактерий в природных и искусственных водоемах

¹⁷⁸ Тихонов В.В. Микрофлора питьевой воды. – 26.06.2018 // МГУЛАБ. – URL: <https://www.msulab.ru/knowledge/water/microflora-of-drinking-water/>

Микроорганизм-возбудитель	Представитель микрофлоры	Болезнь, вызываемая возбудителем
<i>Naegleria fowleri</i>	протист	первичный амебный менингоэнцефалит
<i>Acanthamoeba</i> , <i>Balamuthia mandrillaris</i>	протист	энцефалит гранулематозный амебный
<i>Giardia intestinalis</i>	протист	лямблиоз
<i>Cryptosporidium spp.</i>	протист	криптоспоридоз

Вода является естественной средой обитания для многих микроорганизмов, в которой они живут, размножаются, участвуют в процессах круговорота углерода, азота, среды, железа и других элементов. Как правило, они попадают в воду из почвы, из воздуха с пылью. Интересно, при этом, заметить, что атмосферная, еще не сконденсированная вода практически не содержит бактерий. В момент попадания осадков на поверхность земли в них, как правило, уже можно обнаружить бактерии, которые разрастаются при контакте осадков с частицами пыли, находящейся в воздухе. Одновременно с этим, содержание бактерий может быть от нескольких до сотен на 1 м³. Осадки, попавшие с поверхности в сток, подвергаются контаминации уже на его первом участке. Нередко, содержание бактерий в стоках с участков земли, используемой в сельском хозяйстве, составляет от нескольких сотен до миллиона в 1 м³.

Значительное количество патогенных микроорганизмов попадает с хозяйственно-бытовыми сточными водами, которые содержат колоссальное множество бактерий на 1 м³. Благодаря им в водоемы поступает также большое количество органических веществ, стимулирующих размножение микроорганизмов, таких как флуоресцирующие палочки (в особенности сапрофитные) – род *Pseudomonas*, бактерий род *Aeromonas*, микрококков, сарцин и др. В чистых водоемах до 80% всей аэробной сапрофитной микрофлоры приходится на кокковые формы; остальные 20% составляют палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.) и известные нитевидные (актиномицеты). На дне водоемов, в иле, увеличивается количество анаэробов. Среди бактерий-доминантов можно назвать *V. parahaemolyticus*, *L. pneumophila*, *B. pseudomallei*, *C. botulinum*, среди протистов (др.-греч. πρῶτιστος «самый первый, первейший») – *Naegleria fowleri* и представители *Acanthamoeba*, *Balamuthia mandrillaris*.

В естественных условиях микрофлора водоемов «вписывается» в установившееся биологическое равновесие. Микроорганизмы играют значимую роль в минерализации органических веществ в воде и, таким образом, являются важным звеном в круговороте веществ в природе. Количество *автохтонных микроорганизмов* (самостоятельная, первоначально существующая микрофлора, для которой вода является естественной средой обитания) составляет несколько сотен их представителей в 1 м³; это и микроаэрофильные грибы, и бактерии (преимущественно олиготрофы, т.е. организмы, не требующие питания), и свободноживущие протисты, и бактериофаги. Данные микроорганизмы образуют плотную корреляционную сеть, собственно, поэтому они являются важной составляющей микрофлоры воды. Особенно большое количество бактерий находится на поверхности ила.

Автохтонные микроорганизмы (*Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Micrococcus roseus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bad. aquatalis*, *Proteus vulgaris*, *Spirillum* и др.), по преимуществу, представлены видами, растущими при 20°C и ниже, т.е. их оптимальная температура роста не совпадает с оптимумом роста патогенов, которые лучше всего растут при температуре, близкой к температуре человека – 37°C. Стоит сказать, что по отношению числа бактерий, выросших при 22°C, к бактериям, выросшим при 37°C, экологи и микробиологи определяют **индекс самоочищения водоема**¹⁷⁹.

Автохтоны, как правило, безопасны для человека ввиду невысокого содержания в воде и невозможности размножаться при указанной температуре, однако, серьезную опасность для человека могут представлять их токсины. Так, *водоросли* (микроорганизмы, содержащие зеленый пигмент – хлорофилл) – обитатели спокойных и богатых питательными элементами водоемов. Сами микроорганизмы не заражают человека, однако, синтезируют и выделяют в воду цианотоксины, вызывающие поражение внутренних органов: гепатотоксины (*Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Cylindrospermopsis* и *Umezakia*), нейротоксины (*Aphanizomenon* и *Oscillatoria*) и почечные токсины (*Cylindropermopsis raciborski*). Это явление часто встречается в спокойных непроточных водоемах в летний период. Кроме того, важно запомнить, что помимо открытых водоемов, водоросли способны размножаться в воде при ее хранении, к примеру, в буты-

¹⁷⁹ См. подробнее: Герасимов Ю.Л. Санитарная и техническая гидробиология: учебное пособие. – Самара: Издательство «Самарский университет», 2014. – 48 с. – С. 15-21.

лях кулеров, при условии наличия источника света и ненадлежащей очистки тары при повторном использовании.

Наряду с водорослями *микромикеты* продуцируют чрезвычайно токсичные микотоксины, такие как патулин¹⁸⁰, афлатоксины и зеараленон¹⁸¹. Их ключевой особенностью является устойчивость к температурной обработке и высокая онкогенность. Стоит сказать, что как правило, отравление микотоксинами происходит через пищу, однако, учитывая содержание грибов в открытых водоемах нашей страны (до 1000 КОЕ/мл), правомерно утверждать, что возможно влияние микотоксинов на человека и через потребление воды. В большинстве случаев, микромикеты встречаются в водоемах в виде дрожжеподобных форм (не образуют разветвленный мицелий) и спор, представленных родами *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*. Нередко их споры и выделяемые ими вещества активно влияют на иммунную систему человека, являясь активными сенсбилизаторами аллергических реакций. Как будет сказано далее, основным местоположением микромикетов являются почвы, т.к. для развития необходим кислород, однако, есть и микроаэрофильные микромикеты, основным местообитанием которых является вода. Такие микроорганизмы не встречаются в подземных водах, однако, могут находиться и развиваться в открытых водоемах, равно как и в обычном водопроводе.

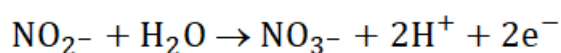
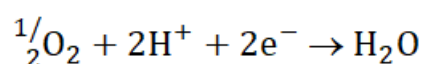
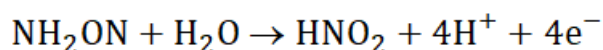
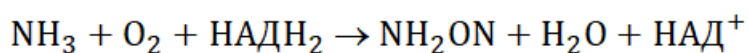
Изучая вопрос микрофлоры воды, необходимо несколько слов сказать о *водопроводной воде*. Известно, что перед тем, как вода попадает к нам в дом через централизованный водопровод, она проходит процессы водоподготовки, включая дезинфекцию (см. подробнее пп. 9.3). Поскольку в нашей стране главным источником воды являются водоемы, основным методом обеззараживания является хлорирование. Считается, что содержание свободного хлора в концентрациях 0,3-0,5 мг/л свидетельствует о санитарной безопасности воды, однако, как уже неоднократно было сказано ранее, микроорганизмы научились приспосабливать к различным условиям среды, поэтому водопроводная вода также содержит *микрофлору*. Микроорганизмы водопроводной воды также подразделяются на автохтонные и аллохтонные.

¹⁸⁰ **Патулин** – это органическое соединение, производное пирана (4-гидроксифурапиранон), трикетид, вторичный метаболит и микотоксин, продуцируемый некоторыми видами микроскопических плесневых грибов рода *Aspergillus*, *Penicillium* и реже *Byssoschlamys*. Широко распространен, является контаминантом, высоко токсичен (при пероральном приеме) – поражает органы ЖКТ, обладает канцерогенным и генотоксическим воздействием. Продуценты патулина поражают в основном фрукты и некоторые овощи, вызывая гниение. Помимо этого он проявляет свойства антибиотика, действуя на некоторые виды микроорганизмов. Впервые выделен в 1943 г. как антибиотик.

¹⁸¹ **См. подробнее:** Ветеринарная токсикология: учебник для вузов / Л. Ю. Ананьев [и др.]; под ред. Л. А. Смирновой. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2022. – 299 с.

Автохтонные микроорганизмы водопровода – это организмы, которые научились закрепляться в системе водоснабжения и даже размножаться. В большинстве случаев, они существуют в виде **биопленок** – полисахаридных слизеподобных образованиях, которые многократно повышают устойчивость организмов в окружающей их среде (хлорированной водопроводной воде). К автохтонным микроорганизмам водопровода можно отнести железобактерии (роды *Gallionella*, *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Siderocapsa*), нитрифицирующие бактерии (роды *Nitrospira*, *Nitrococcus*, *Nitrospina*) и различные олиготрофные¹⁸² организмы, которые для функционирования требуется минимальное содержание органического вещества (роды *Leptothrix*, *Crenothrix*).

Железобактериям не требуется органического вещества, а энергию для жизнедеятельности они добывают из энергии химических связей: микроорганизмы переводят закисное железо Fe²⁺ в окисное Fe³⁺, после чего аккумулируют железо в слизях и капсулах. Даже при незначительном количестве (менее 0,3 мг/л) в воде клетки микроорганизмов активно аккумулируют железо Fe²⁺. Представители названных родов не патогенны, однако, вполне могут снизить качество воды до полностью непригодного. Как правило, вместе с аккумуляцией железа происходит также аккумуляция солей марганца. В результате биообрастания внутренние поверхности металлических трубопроводов покрываются наростами и отложениями. Железобактерии участвуют в образовании обрастаний вместе с *нитрифицирующими бактериями*; эти микроорганизмы переводят аммонийный и нитритный азот, присутствующий в воде, в нитриты. Схема микробиологической нитрификации в воде выглядит так:



¹⁸² **Олиготрофы** – экологическая группа растений и микроорганизмов, обитающих на почвах (или в водоемах) с низким содержанием питательных веществ, например, в полупустынях, сухих степях, на верховых болотах. Название происходит от др.-греч. ὀλίγος – «немногий», «незначительный» и τροφή – «питание».

Основной вред этих бактерий заключается в том, что при высоком содержании в воде аммония и нитритов, а также при обеззараживании воды хлорамином, они могут накапливать в воде нитраты – пищу для других бактерий. Таким образом, нитрифицирующие бактерии являются центрами обрастаний и биопленок в системе водоснабжения. Кроме того, данные микроорганизмы ухудшают дезинфицирующее (частично разрушают хлорамин – вещество для дезинфекции воды) и органолептические свойства (запах и цвет), а высокое содержание образовавшихся нитратов может вызывать метгемоглобинемию¹⁸³ (особенно у детей).

9.2. Методы и процедура оценки санитарно-бактериологического состояния питьевой воды и воды из естественных водоемов

Как уже отмечалось ранее, вода, в т.ч. используемая на предприятиях пищевой промышленности, должна отвечать требованиям, предъявляемым к питьевой воде действующими документами. Ее безопасность в эпидемиологическом отношении определяют по *общему числу микроорганизмов и количеству бактерий группы кишечных палочек в определенном объеме*. Качество воды централизованных систем питьевого водоснабжения определяют в соответствии с санитарными правилами и нормами, однако, питьевая вода должна быть безопасна как в эпидемиологическом, так и радиационном отношении, также по химическому составу и иметь благоприятные органолептические свойства (**см. таблицу 9.1**).

Процедура **оценки санитарно-биологического состояния воды** состоит из нескольких этапов; на первом этапе осуществляется *отбор проб и подготовка к их анализу*. Вода отбирается в количестве 500 см³ в бутылки, предварительно простерилизованные в бумажных пакетах, с ватно-марлевой пробкой, покрытой сверху бумажным колпачком. Перед этим кран или край трубы обжигают зажженным ватным тампоном, прописанным спиртом. После открытия крана, в течение 10-15 минут воду пропускают, затем производится отбор пробы. Важно запомнить, что вода подлежит анализу в срок не позднее 2 часов после взятия пробы.

¹⁸³ **Метгемоглобинемию** – состояние, характеризующееся появлением в крови повышенного (свыше 10% количества метгемоглобина. **Метгемоглобин** представляет собой гемоглобин в форме металлопротеина, в котором железо из группы гема находится в состоянии Fe³⁺ (трехвалентное), а не в состоянии Fe²⁺ (железо) нормального гемоглобина.

Таблица 9.1 – Санитарно-микробиологические и паразитологические показатели безопасности воды систем централизованного питьевого водоснабжения, в том числе горячего водоснабжения (СанПиН 1.2.3685-21)

Показатели	Ед. измерения	Нормативы	
1	2	3	4
<i>Основные показатели</i>			
Общее микробное число (ОМЧ) (37±1,0) °С	КОЕ/см	не более 50	
Обобщенные колиформные бактерии	КОЕ/100 см	отсутствие	
Термотолерантные колиформные бактерии	КОЕ/100 см	отсутствие	определяется до 01.01.2022
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	КОЕ/100 см	отсутствие	определяется с 01.01.2022
Энтерококки	КОЕ/100 см	отсутствие	определяется с 01.01.2022
Колифаги	БОЕ/100 см	отсутствие	
Цисты и ооцисты патогенных простейших, яйца и личинки гельминтов	определение в 50 дм	отсутствие	
Споры сульфитредуцирующих клостридий	число спор в 20 см	отсутствие	
<i>Дополнительные показатели</i>			
Возбудители кишечных инфекций бактериальной природы	определение в 1 дм	отсутствие	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	определение в 1 дм	отсутствие	
Возбудители кишечных инфекций вирусной природы	определение в 10 дм	отсутствие	
<i>Legionella pneumophila</i>	КОЕ/1 дм	не более 100	

В свою очередь, пробы из открытых водоемов (колодцев, бассейнов, рек, озер) отбирают с помощью **батометров** (от греч. bathos – глубина и metron – измерение, мера), представляющих собой металлический каркас с массивным свинцовым дном – грузилом (**см. рисунок 9.1**); в этот каркас вставляется бутылка. Батометр погружают на заданную глубину и открывают бутылку, потягивая за веревку, привязанную к пробке. После напол-

нения бутылки батометр извлекают и закрывают ее стерильной пробкой. Пробы хлорированной воды берут во флаконы с дехлоратором, т.к. под действием хлора микробы в воде погибают. В качестве дехлоратора можно использовать серноватистый натрий из расчета 10 мг на 500 см³ исследуемой воды. К отобранным пробам прилагают сопроводительный документ с указанием необходимых данных. Доставка проб осуществляется в контейнерах-холодильниках при температуре от 4 до 10 °С.



Рисунок 9.1 – Разновидности батометров: (а) батометр Нискина, (б) батометр Паталаса, (в) батометр Руттнера

Источник: <https://www.анероид.рф/info/articles/batometr-opisanie.htm>

На следующем этапе *определяется общее микробное число воды*. **Общее микробное число (ОМЧ)** – это, напомним, количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, образующих колонии на мясопептонном агаре при посеве 1 см³ воды с последующей инкубацией посевов при температуре 37±0,1 °С в течение 48 ч. ОМЧ должно быть не более 50 КОЕ/см³. В зависимости от степени предполагаемого загрязнения производится посев не менее двух различных объемов воды, выбранных с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. Водопроводная и артезианская вода, как правило, засеваются в неразведенном виде по 1 см³. При бактериологическом исследовании загрязненных вод делают посева разведенной воды.

Из исследуемого образца и из пробирок с его разведениями в соответствии со степенью предполагаемого микробного загрязнения, отбирается по 1 см³, вносится в стерильную чашку Петри и заливается 10-12 см³ рас-

плавленного и остуженного до температуры 45°C мясопептонного агара. Круговыми движениями руки, вращая чашки по горизонтальной поверхности стола, распределяется их содержимое равномерным слоем по всей площади дна. После застывания агара чашки с посевами помещаются на 24 ч в термостат при температуре 37°C. После инкубации подсчитывается число выросших колоний.

Далее *определяется содержание колиформных бактерий* – санитарно-показательных микроорганизмов – бактерий группы кишечных палочек, к которым относятся представители родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*. При определении их количества в воде используются следующие две характеристики: *коли-титр* – наименьший объем воды, в котором обнаружена одна кишечная палочка (для питьевой воды, прошедшей очистку, титр должен быть равен не менее 300 см³), и *коли-индекс* – количество кишечных палочек в 1 дм³ воды (индекс питьевой воды должен быть не более 3). Колиформные бактерии определяются в воде **бродильным методом** или *методом мембранных фильтров*. Основная идея первого метода заключается в посеве определенных объемов исследуемой воды, инкубации посевов также при температуре 37°C в средах наполнения с последующим высевом на среду Эндо¹⁸⁴, дифференциацией выросших колоний и определением наиболее вероятного числа бактерий группы кишечных палочек в 1 дм³.

При исследовании воды централизованного водоснабжения исследуемый материал засеивается дважды в три объема: 100, 10 и 1 см³. Для исследования речной, озерной, прудовой воды, как правило, готовят десятикратные разведения – 1:10, 1:100 и 1:1000 – и засеивают еще 10 см³ и 1 см³ без разведения. Посев воды производится в специальные бродильные сосуды (колбы, бутылки, пробирки с поплавками), заполненные глюкозопептонной средой Эйкмана¹⁸⁵. Посевы инкубируют в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч. По ее окончании посев просматривается и *делаются следующие выводы*:

¹⁸⁴ **Среда Эндо** – это дифференциально-диагностическая питательная среда, предназначенная для выделения энтеробактерий. Названа по имени предложившего ее японского бактериолога Сигэру Эндо (1869-1937). Обладает слабыми селективными свойствами, компоненты среды подавляют рост грамположительных бактерий.

¹⁸⁵ **Среды Эйкмана** – это питательные среды для культивирования микроорганизмов. Голландским гигиенистом и микробиологом Христианом Эйкманом (1858-1930) была предложена глюкозопептонная среда для количественного учета кишечных палочек в воде и мясопептонный агар с молоком для выявления протейных свойств микроорганизмов.

а) при отсутствии газообразования и изменения цвета среды заключается об отрицательном ответе на наличии бактерий группы кишечной палочки в изучаемом объеме воды, что дает право на завершение исследования через 24 ч;

б) при образовании кислоты и газа производится высев материала из бродильных сосудов на среду Эндо бактериологической петлей густым штрихом для получения изолированных колоний. Чашки с посевами инкубируются при аналогичных условиях, после чего – просматриваются. Отсутствие характерных для кишечных палочек колоний дает основание выдать отрицательный ответ и завершить исследование;

в) при обнаружении в среде Эндо лактозоположительных темно-красных колоний, с металлическим блеском или без него, необходимо установить принадлежность выросших микроорганизмов к семейству кишечных бактерий. Для этого производится микрокопирование препарата из колоний и постановка *оксидазного текста*.

Оксидазный тест позволяет дифференцировать бактерии семейства *Enterobacteriaceae* от грамотрицательных бактерий семейства *Pseudomonadaceae* и других водных сапрофитов, которые, в отличие от кишечных бактерий, вырабатывают фермент оксидазу. Для постановки этого текста со среды Эндо снимается петлей по 2-3 колонии каждого типа. Микробная масса наносится штрихом на фильтрованную бумагу, смоченную специальным реактивом (30 г α -д-нафтола растворяют в 2,5 см³ этанола, прибавляют 7,5 см³ дистиллированной воды и 40 мг диметилпарафенилендиамина; раствор готовят непосредственно перед определением)¹⁸⁶. При отрицательном результате оксидазного текста бумага при контакте с колонией цвет не изменит, а если проявится синева (в течение 1 минуты при контакте с колоний), результат считается положительным. Наличие в препарате грамотрицательных неспорообразующих палочек, не обладающих оксидазной активностью, позволяет заключить о наличии в воде бактерий группы кишечной палочки.

В случае же обнаружения на среде Эндо розовых и бесцветных колоний производится подсчет и просев 2-3 изолированных колонии каждого типа в глюкозопептонную среду Эйкмана. Посевы инкубируются при температуре 37°C в течение 3-4 ч. При образовании кислоты (изменении цвета среды) и газа, накапливающегося в поплавке, результат также будет счи-

¹⁸⁶ См. также: Оксидазные диски // Научный центр Himedia. – URL: <http://himedialabs.ru/dd018>

таться положительным, при отсутствии кислото- и газообразования – соответственно, отрицательным.

После проведения анализа в лабораторный журнал записываются окончательные результаты по каждому засеянному объему и определяется коли-титр и коли-индекс.

Основная суть **мембранного метода** заключается в концентрировании бактерий из определенного объема воды на мембранных фильтрах с последующим выращиванием на среде Эндо при той же температуре, дифференцированием выросших колоний и подсчетом количества бактерий группы кишечной палочки в 1 см³ воды. Так, сперва *подготавливаются фильтры*; для фильтрования воды берутся мембранные фильтры №3, которые помещаются в разогретую до 80 °С дистиллированную воду и далее кипятятся на небольшом огне в течение 10 минут трижды. После первого и второго кипячения вода сливается, после третьего – фильтры оставляют в воде до использования. На следующем этапе происходит *подготовка самого фильтровального аппарата*; его также стерилизуют – в автоклаве или протирают ватным тампоном, смоченным в спирте, и далее обжигают для стерилизации. На столик фильтровального аппарата стерильным пинцетом помещают фильтр (во избежание его повреждения по фильтр подкладывается кружок стиральной фольгированной бумаги). На столик также устанавливается и закрепляется верхняя часть прибора – воронка (**см. рисунок 9.2**). Наконец, производится *фильтрование воды и выращивание микроорганизмов*.

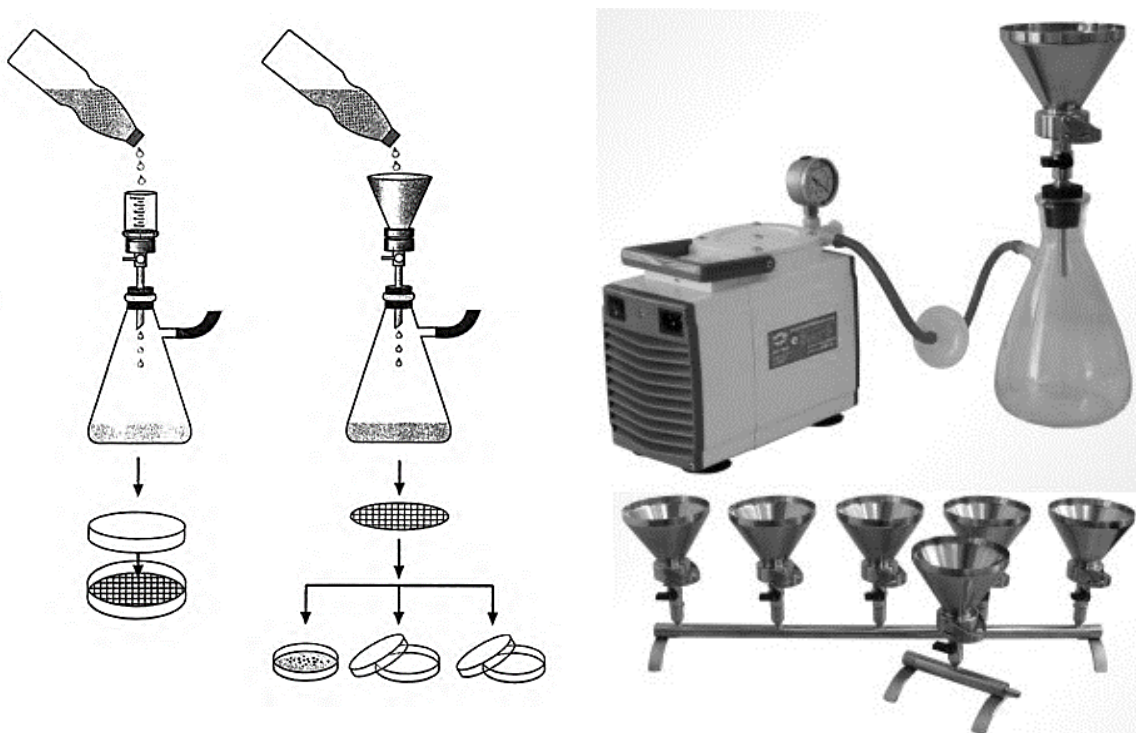


Рисунок 9.2 – Определение количества микроорганизмов методом мембранных фильтров (справа – прибор вакуумного фильтрования ПВФ-35(47)Н Б с мембранным вакуумным насосом)

Источник: <https://labblog.ru/priboryi-vakuumnogo-filtrovaniya-dlya-resheniya-razlichnyih-laboratornyih-zadach/>

В воронку фильтровального аппарата стерильно наливают исследуемый объем воды и с помощью водоструйного насоса создают вакуум в приемном сосуде. При анализе питьевой воды, поступающей в водопроводную сеть, следует брать объем не менее 333 см³. По завершении фильтрования мембранный фильтр профлабрированным пинцетом переносят на поверхность питательной среды Эндо в чашки Петри. Некоторые производители лабораторного оборудования сегодня выпускают фильтры, уже пропитанные соответствующими питательными средами. Посев далее инкубируют в течение 18-24 ч при температуре 37 °С. По окончании инкубации их просматривают и делают *следующие выводы*:

а) отсутствие микробного роста на фильтрах или обнаружение на них колоний, не характерных для бактерий группы кишечной палочки, позволяет завершить исследование на данном этапе анализа с выдачей отрицательного результата на их присутствие бактерий группы кишечной палочки в анализируемом объеме воды;

б) при обнаружении на фильтре колоний, характерных для бактерий группы кишечной палочки, исследование продолжается: из нескольких колоний каждого типа готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. Отсутствие в мазках мелких грамотрицательных неспороносных палочек является основанием для прекращения исследования с выдачей заключения о присутствии бактерий группы кишечной палочки в анализируемом объеме воды;

в) при наличии в мазках грамотрицательных палочек, морфологически сходных с кишечными, ставится оксидазная проба. При обнаружении на мембранных фильтрах однотипных лактозоположительных колоний (темно-красных с или без металлического блеска), не вырабатывающих оксидазы, анализ воды на этом этапе завершается и подсчитывается число выросших на фильтре колоний кишечных палочек. Результат выражается в виде коли-индекса при расчете на 1 мд³ воды;

г) при обнаружении на мембранных фильтрах розовых и бесцветных колоний подсчитывается их число и просеиваются 2-3 изолированные колонии каждого типа в глюкозопептонную среду Эйкмана. После этого, в течение 3-4 ч при температуре 37 °С отмечается изменение цвета среды за счет образования кислоты и накопления газа в поплавке. В этом случае результат будет считаться положительный. Если изменений в среде нет, то результат дается отрицательный.

Так, например, микробиологами может быть получен следующий результат определения коли-индекса: профильтровано три объема воды по 100 см³. На первом и втором фильтрах выросло по три колонии, на третьем – девять колоний. Всего выросло пятнадцать колоний. Таким образом, коли-индекс исследуемого образца воды равен: $(1000 \times 15) \div 300 = 50$. Коли-индекс переводится в коли-титр следующим образом: $1000 \div 50 = 20$.

9.3. Способы очистки и обеззараживания воды

Очищение воды производится в несколько этапов; первый этап – **освобождение воды от взвесей**. Для этой цели воду отстаивают в специальных бассейнах (отстойниках): горизонтальных, вертикальных, радиальных, тонкослойных. Фактически, они представляют собой резервуары с водораспределительным и водосборным устройством и устройством для удаления осадка. Как правило, время нахождения воды в бассейнах – от 1 до 6 ч, однако, в тонкослойной отстойнике это время значительно сокра-

щается, т.к. вода быстро проходит по нескольким слоям, освобождаясь тем самым от взвесей. Во всех случаях может применять один из двух методов – *флотация* или *фильтрация*. Флотация предполагает всплытие частиц с пузырьками воздуха, которое может осуществляться механически, под давлением или с помощью электричества (электрофлотация), что позволяет освободить воду от грубодисперсных загрязнений. Флотационные установки используются для очистки сточных вод от нефтепродуктов, смол, поверхностно-активных веществ (ПАВ), полимеров и проч., и в редких случаях для очистки природной воды.

Фильтрация – это процесс задержания небольших грубодисперсных загрязнений при прохождении очищаемой воды через зернистую загрузку фильтров или составляющие фильтр пластины – металлические, тканевые или мембранные. В качестве фильтрующей загрузки применяют природные (кварцевый песок, мрамор, горные породы) и синтетические (полистирол, пенополистирол, керамзит) материалы. На поверхности фильтрующего материала и в его порах образуется своего рода биологическая пленка, состоящая практически из клеток микроорганизмов. В качестве материала могут использоваться быстрые или медленные фильтры. Также стоит отметить еще один, мембранный метод – *ультрафильтрацию*; он используется для очистки воды от коллоидных и коагулированных примесей путем фильтрации под давлением через полупроницаемую мембрану крупной пористости – более 1 мкм.

Следующим этапом является собственно **очистка воды**; от тонкодисперсных и коллоидных загрязнений воду освобождают при помощи *коагуляции* и *флокуляции*, направленных на снижение заряда коллоидных частиц и укрупнение частиц загрязнения соответственно. Достаточно часто применяется электрохимическая коагуляция – ионами алюминия или железа. Сами же коагулянты подразделяются на *неорганические* и *минеральные*; к первым относятся кристаллогидраты солей алюминия и железа. В нашей стране для очистки природных вод, как правило, используется сернокислый алюминий и полиоксихлориды алюминия. Принцип их «работы» заключается в том, что коагулянт вступает в реакции осаждения с фторидами, фосфатами, сульфидами с образованием нерастворимых соединений, которые затем удаляются из воды. К минеральным или органическим коагулянтам относятся водорастворимые низкомолекулярные полимеры (полиакриламид, акриламид, акриловая кислота и проч.), которые адсорбиру-

ют частицы загрязнений и образуют с ними нерастворимые комплексы. К настоящему времени разработано множество видов смесителей, специальные камеры хлопьеобразования и удаления частиц из очищенной воды; основной принцип их работы – преобразование обрабатываемых соединений в хлопья, вместе с которыми оседают и микроорганизмы. Наконец, для очистки воды от растворенных загрязнений (органических и неорганических) используют *реагентные* и *безреагентные методы*; к первым относят нейтрализацию, химическое осаждение, окисление и восстановление, ко вторым – адсорбцию, ионный обмен, мембранные методы, выпаривание, вымораживание.

9.3.1. Химические способы очистки и обеззараживания воды

После очистки воды осуществляется ее **обеззараживание** – для более эффективной деkontаминации, включая уничтожение патогенных микроорганизмов. Для этого используются *химические* (реагентные) и *физические* (безреагентные) методы (см. рисунок 9.3)¹⁸⁷.



Рисунок 9.3 – Способы очистки и обеззараживания воды

¹⁸⁷ См. подробнее: Аракчеев Е.Н., Брунман В.Е., Брунман М.В., Волков А.Н., Дьяченко В.А., Кочетков А.В., Петкова А.П. Современная перспективная технология обеззараживания воды и стоков // Гигиена и санитария. 2015. № 94(4). С. 25-32; Журавлевич Н. Е. Обеззараживание питьевой воды: метод. рекомендации / Н. Е. Журавлевич. – Минск: БГМУ, 2017. – 26 с.

В первом случае вода обрабатывается различными видами реагентов-коагулянтов. Поскольку большинство из них токсичны, превышение разрешенной нормы не допускается, во избежание образования канцерогенов, опасных для жизни и здоровья человека. Наиболее часто используемым способом обеззараживания воды является **хлорирование**, основной причиной чему является экономичность и высокая эффективность; помимо дезинфицирующих свойств, он очищает ее от нежелательных органических и биологических примесей, полностью растворяет соли железа и марганца. Еще одним достоинством метода является способность обеспечить микробиологическую безопасность воды при ее транспортировке благодаря эффекту действия.

В качестве главного недостатка использования метода хлорирования можно назвать присутствие в обработанной воде свободного хлора, ухудшающее ее органолептические свойства и являющееся причиной образования побочных галогенсодержащих соединений (ГСС). Большую их часть составляют тригалометаны (ТГМ) – хлороформ, дихлорбромметан, дибромхлорметан и бромоворм. Образование ГСС обусловлено взаимодействием соединений активного хлора с органическими веществами природного происхождения, причем этот процесс растянут во времени до нескольких десятков часов, а количество образующихся ТГМ при прочих равных условиях тем больше, чем выше рН воды. Для устранения примесей может быть произведена доочистка воды на угольных фильтрах. На сегодняшний день, предельно допустимые концентрации для веществ, являющихся побочными продуктами хлорирования, установлены в пределах от 0,06 до 0,2 мг/л (в зависимости от страны) и соответствует современным научным представлениям о степени их опасности.

Помимо газообразного хлора в качестве дезинфектантов также используют хлорпроизводные соединения: *гипохлориты, диоксид хлора и хлорамин*. Так, технология, основанная на применении гипохлорита натрия (NaClO) основывается на его способности распадаться в воде с образованием диоксида хлора. Применение концентрированного гипохлорита натрия на треть снижает вторичное загрязнение, в сравнении с использованием газообразного хлора. Кроме того, концентрат NaClO легче транспортировать и хранить, т.к. не требует повышенных мер безопасности; также его возможно получить непосредственно на месте, путем электролиза. Электрический метод характеризует меньшие экономические затраты, а

также высокий уровень безопасности; реагент легко дозируется, что позволяет автоматизировать процесс обеззараживания.

Диоксид хлора (ClO_2) также обладает широким спектром преимуществ, например, более высокое бактерицидное и дезодорирующее действие, отсутствие в продуктах обработки хлорорганических соединений, улучшение органолептических свойств воды, отсутствие необходимости перевозки жидкого хлора и проч. Одновременно с этим, диоксид хлора – достаточно дорогой агент и должен производиться на месте по достаточно сложной технологии. Его применение все же имеет перспективу для установок относительно небольшой производительности. Само действие на патогенную микрофлору ClO_2 обусловлено не только высоким содержанием при реакции высвобождаемого хлора, но и образующимся атомарным кислородом. Фактически, именно это сочетание и делает диоксид хлора более сильным обеззараживающим агентом. Более того, он не ухудшает вкус и запах воды. Сдерживающим фактором в использовании этого дезинфектанта до последнего времени была повышенная взрывоопасность, осложнявшая его производство, транспортировку и хранение, однако, современные технологии позволяют нивелировать эти недостатки благодаря производству диоксида хлора на месте.

Еще один достаточно широко используемым методом обеззараживания воды является **озонирование**. Впервые он был применен во Франции в 1898 г., где были созданы опытно-промышленные установки по подготовке питьевой воды. Преимущество озона перед другими дезинфектантами заключается в присущих ему дезинфицирующих и окислительных свойствах, обусловленных выделением при контакте с органическими объектами активного атомарного кислорода, разрушающего ферментные системы микробных клеток и окисляющего некоторые соединения, придающие воде неприятный запах (например, гуминовые основания¹⁸⁸). Помимо уникальной способности и уничтожению бактерий, озон обладает также высокой эффективностью уничтожения спор, цист и других патогенов. Количество озона, необходимо для обеззараживания питьевой воды, зависит от степени ее загрязнения и составляет 1-6 мг/л при контакте в 8-15 мин; количество остаточного озона должно составлять не более 0,3-0,5 мг/л, т.к.

¹⁸⁸ **Гуминовые вещества** – это темно-коричневые или темно-бурые природные органические образования, широко распространенные в различных естественных объектах: в почвах и торфах, в углях и сланцах, в морских и озерных отложениях, в водах рек и озер. **См. подробнее: Попов А.И.** Гуминовые вещества: свойства, строение, образование; под ред. Е. И. Ермакова. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 248 с.

более высокая доза придаст воде специфический запах и может вызвать коррозию водопроводных труб.

С гигиенической точки зрения озонирование воды – один из лучших способов обеззараживания воды, т.к. обеспечивает ее наилучшие органолептические показатели и отсутствие высокотоксичных и канцерогенных продуктов в очищенной воде. В свою очередь, ограничениями для применения этого способа является высокая стоимость оборудования, значительный расход электроэнергии, производственные расходы, а также необходимость высококвалифицированного персонала. Все это обуславливает использование озона только в отношении централизованного водоснабжения. Кроме того, согласно данным Д.Г. Готовского и Е.М. Шиндилы, в ряде случаев (если температура обрабатываемой природной воды превышает 22 °С) озонирование не позволяет достичь требуемых микробиологических показателей по причине отсутствия необходимого эффекта пролонгации дезинфицирующего воздействия¹⁸⁹.

Также метод озонирования воды технически сложен и является наиболее дорогостоящим среди других методов обеззараживания. Технологический процесс включает последовательные стадии очистки воздуха, его охлаждения и осушки, синтеза озона, смешения озоновоздушной смеси с обрабатываемой водой, отвода и деструкции остаточной озоновоздушной смеси, вывода ее в атмосферу. Безусловно, все это ограничивает более частое использование данного метода. Еще одним весомым недостатком озонирования является токсичность озона, о чем мы уже упоминали в предыдущей главе. Предельно допустимое содержание этого газа в воздухе производственных помещений составляет 0,1 г/м³. Помимо этого, существует и опасность взрыва озоновоздушной смеси.

Используемые в настоящее время конструкции озонаторов представляет собой большое количество близко расположенных ячеек, образованных электродами, один из которых находится под высоким напряжением, а второй – заземлен. Между электродами с определенной периодичностью возникает электрический разряд, в результате которого в зоне действия ячеек из воздуха образуется озон. Получение озоновоздушной смеси барботируют обрабатываемую воду. Подготовленная таким образом вода по

¹⁸⁹ Готовский Д. Г. Обеззараживание питьевой воды в промышленном животноводстве рекомендации / Д. Г. Готовский, Е. М. Шиндила. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – 24 с. – С. 10.

вкусу, запаху и другим свойствам, при этом, определенно превосходит воду, обработанную хлором.

Олигодинамический метод (греч. oligos – малый, греч. dynamis – сила, то есть «действующий в малых количествах») обеззараживания воды основан на использовании тяжелых металлов, таких как медь, серебро и проч.; именно такие металлы обладают способностью оказывать бактерицидное действие в малых концентрациях. Как правило, их вводят в виде растворов солей или же методом электрохимического растворения (в обоих случаях возможен косвенный контроль их содержания в воде). Предельно-допустимая концентрация ионов серебра и меди в питьевой воде (50 мкг/л и 1,0 мг/дм³) регламентирована СанПиН 1.2.3685-21.

К химическим способам обеззараживания питьевой воды также относится широко применяемый еще в ХХ в. дезинфекция с помощью *соединений брома и йода*; они обладают более выраженными бактерицидными свойствами чем, например, хлор, однако, требуют более сложной технологии. В современной практике для обеззараживания воды йодированием предлагается использовать специальные иониты¹⁹⁰, насыщенные йодом; при пропускании через них воды он постепенно вымывается из ионита, обеспечивая необходимую дозу. Такое решение вполне приемлемо только для малогабаритных установок. Кроме того, недостатком является и изменение концентрации йона во время работы и отсутствие возможности постоянного контроля его концентрации.

Использование активных углей и катионитов, насыщенных серебром, например С-100 Ag или С-150 Ag, направлено на предотвращение развития микроорганизмов при прекращении движения воды. При остановках создаются идеальные условия для их размножения – большое количество органики, задержанное на поверхности частиц, их колоссальная площадь и повышенная температура. Наличие серебра в структуре этих частиц резко уменьшает вероятность обсеменения слоя загрузки. Серебросодержащие катиониты КУ-23СМ и КУ-23СП – содержат в себе значительно большее количество серебра и предназначены для обеззараживания воды в установках небольшой производительности.

¹⁹⁰ **Иониты** – твердые нерастворимые вещества, способные обменивать свои ионы на ионы из окружающего их раствора. Обычно это синтетические органические смолы, имеющие кислотные или щелочные группы. Иониты разделяются на катиониты, поглощающие катионы, аниониты, поглощающие анионы и амфотерные иониты, обладающие обоими этими свойствами.

9.3.2. Механические способы очистки и обеззараживания воды

Одним из наиболее простых физических способов обеззараживания воды является **кипячение**; при нем происходит уничтожение большинства бактерий, вирусов, бактериофагов, антибиотиков и иных биологических объектов, содержащихся в открытых водоисточниках, а следовательно и в системах центрального водоснабжения. Также, при кипячении воды удаляются растворенные в ней газы и уменьшается жесткость. Вкусовые качества, при этом, практически не меняются. Однако, для обеспечения необходимого обеззараживающего эффекта вода должна кипятиться в течение 15-20 мин, т.к. споры, яйца гельминтов могут сохранять свою жизнеспособность (особенно, если микроорганизмы адсорбированы на твердых частицах). И все же, применение кипячения в промышленных масштабах, экономически и технически нецелесообразно.

Обработка **ультрафиолетовым излучением** – достаточно перспективный способ дезинфекции воды; свет, используемый для этого имеет длину 254 нм (или близкой к ней), также называют бактерицидным. Дезинфицирующие свойства обусловлены их действием на клеточный обмен и особенно на ферментированные системы бактериальной клетки. Бактерицидный свет уничтожает вегетативные и споровые формы бактерий, улучшает органолептические свойства воды и в целом относится к одному из экологически чистых методов ее обработки. Также, в отличие от окислительных способов, при УФ-излучении не образуются вторичные токсины, соответственно, верхнего порога дозы не существует. Иными словами, ее увеличением практически всегда можно добиться желаемого уровня обеззараживания воды.

Однако, у данного метода имеют определенные недостатки. Так, подобно озонированию УФ-обработка не имеет пролонгированного действия, что делает проблематичным его использование в случаях, когда временной интервал между воздействием на воду и ее потребления достаточно велик, например, в случае централизованного водоснабжения (УФ-облучение более оптимально для индивидуального водоснабжения). Кроме того, возможны реактивации микроорганизмов и даже выработки новых штаммов, устойчивых к лучевому поражению. Важно отметить, что данный способ обеззараживания воды требует строжайшего соблюдения технологии, также он требует относительно больших инвестиций, немногим меньше, чем

озонирование. Формально, более низкие эксплуатационные расходы делают УФ-облучение и хлорирование условно сопоставимыми в экономическом плане; расход электроэнергии также незначителен, а стоимость ежемесячной замены ламп составляет не более 10% от цены установки. К факторам снижающим эффективность УФ-обеззараживания можно отнести загрязнение кварцевых чехлов ламп (при длительной эксплуатации оборудования) отложениями органического и минерального состава. Крупные установки, как правило, снабжаются автоматической системой очистки, осуществляющей промывку путем циркуляции через установку воды с добавлением пищевых кислот, однако, в остальных случаях применяется механическая чистка. Также можно отметить мутность воды после обработки, т.к. рассеивание лучей значительно ухудшает ее эффективность.

Относительно новым способом обеззараживания воды является **электроимпульсный**, предполагающий использование импульсных электрических разрядом. Его основная идея заключается в возникновении электрогидравлического удара, т.н. *эффекта Л.А. Юткина*¹⁹¹. Технологический процесс включает в себя несколько ступеней (см. рисунок 9.4). В частных случаях возможно инициирование электрических разрядов в объеме, отделенном от рабочего объема средой, сохраняющей или увеличивающей амплитуду волн сжатия. В качестве пример материала, который может выступать в виде среды, сохраняющей амплитуду волны на границе с водой, можно назвать пенополистирол.

В процессе обеззараживания воды электроимпульсным способом происходит множество явлений, например, мощные гидравлические процессы, образование ударных волн сверхвысокого давления, образование озона, явления кавитации, интенсивные ультразвуковые колебания, возникновение импульсивных магнетических и электрических полей, повышение температуры и проч. Результат всех этих явлений один – уничтожение в воде практически всех патогенных микроорганизмов. Стоит отметить, что вода, обработанная импульсными электрическими разрядами, приобретает бактерицидные свойства, сохраняющиеся до 4 мес. В качестве преимущества рассмотренного способа можно назвать и экологическую чистоту, а также возможность применения в больших объемах жидкости. К недостат-

¹⁹¹ См. подробнее: Юткин Л.А. Электрогидравлический эффект. – М.; Л.: Гос. науч.-тех. изд. машиностроительной литературы, 1955. – 56 с.; Ситников А.В., Ситников И.А., Швецов И.А., Курбатов А.Ю. Формирование разрядного импульса в системах на базе электрогидравлического эффекта // Радиостроение. 2018. №1. С. 9-28.

кам можно отнести относительно высокую энергоемкость (0,2-1,0 кВт·ч/м³), а следовательно – дороговизну.



Рисунок 9.4 – Технологический процесс обеззараживания воды электроимпульсным способом

Ультразвук в качестве способа обеззараживания воды впервые был применен в 1928 г., однако механизм его действия и по сей день окончательно не установлен. В связи с этим высказывает несколько гипотез, например: ультразвук вызывает образование пустот в сильно завихренном пространстве, что ведет к разрыву клеточной стенки бактерии; ультразвук вызывает выделение растворенного в жидкости газа, а пузырьки газа, находящиеся в бактериальной клетке, вызывают разрыв. Преимуществом использования ультразвука перед многими другими средствами обеззараживания воды служит его нечувствительность к таким факторам, как высокая мутность и цветность воды, характер и количество микроорганизмов, а также наличие растворенных веществ. Основным факторов, влияю-

щим на эффективность обеззараживания воды ультразвуком – это интенсивность ультразвуковых колебаний, частота которых находится значительно выше уровня слышимости – от 20 тыс. до 1 млн. Гц, следствием чего является способность губительным образом сказываться на состоянии микроорганизмов. Бактерицидное действие ультразвука разной частоты зависит от интенсивности звуковых колебаний.

Применение **гамма-излучения** в качестве способа обеззараживания воды является условно экспериментальным. Гамма-установки типа РХУНД работают по следующей схеме: вода поступает в полость сетчатого цилиндра приемно-разделительного аппарата, где твердые включения увлекаются вверх шнеком¹⁹², отжимаются в диффузоре и направляются в бункер – сборник. Далее вода разбавляется условно чистой до определенной концентрации и подается в аппарат гамма-установки, в которой под действием гамма-излучения изотопа Со60 происходит процесс обеззараживания. Гамма-излучение, таким образом, оказывает угнетающее действие на активность микробных дегидраз (фрагментов). При больших дозах погибает большинство возбудителей таких опасных заболеваний, как тиф, полиомиелит и другие.

9.3.3. Комбинированные и комплексные способы очистки и обеззараживания воды

В пример комбинированных (физико-химических) методов обеззараживания воды можно привести способ с использованием **ионообменных смол**. В 1960 г. Г. Гиллизен доказал способность анионообменных смол освободить жидкость от бактерий группы *coli*. В 1965 г. профессор Е.В. Штанников установил возможность очистки воды от вирусов ионообменными полимерами¹⁹³. По его мнению, этот эффект связан как с сорбцией вируса, так и с его денатурацией за счет кислотной или особенно щелочной реакции. Е.В. Штанников в своих работах также указывал на возможность обеззараживания воды ионактивными полимерами, где находится токсин ботулизма; обеззараживание происходит за счет окисления токсина и его абсорбции.

¹⁹² **Шнек** (от нем. Schnecke, букв. – «улитка») – стержень со сплошной винтовой поверхностью вдоль продольной оси.

¹⁹³ **См. подробнее:** Штанников Е.В. Ионообменные полимеры и их использование в проблеме гигиены воды и водоснабжения: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Ленинград: [б. и.], 1964. – 30 с.

Каждый из перечисленных методов, таким образом, обладает как своими достоинствами, так и недостатками, поэтому их органичный синтез позволяет добиться большей эффективности в достижении их цели. Так, например, сочетание УФ-обеззараживания с последующим хлорированием малыми дозами обеспечивает максимально высокую степень очистки и отсутствие вторичного биозагрязнения воды. Например, обработка воды бассейнов таким методом позволяет достичь не только высокой степени обеззараживания, но и снижения пороговой концентрации хлора, что ведет к существенной экономии средств на расходе хлора. Аналогично используется и озон – для уничтожения микрофлоры и части органических загрязнений, с последующим хлорированием, обеспечивающим отсутствие вторичного биозагрязнения воды. При этом, резко сокращается образование токсичных хлорорганических веществ.

В связи с тем, что микроорганизмы характеризуются определенными размерами, пропуская воду через фильтрующую установку с размерами пор меньшими, чем микроорганизмы, можно полностью очистить от них воду. Так, например, фильтрующие элементы, имеющие размер пор менее 1 микрона, согласно действующим требованиям к воде для производства пива ТИ-10-5031536-73-10, считаются обеспложивающими, т.е. обеззараживающими (из воды удаляются как бактерии, так и вирусы). Для более «тонких» процессов, когда недопустимо присутствие каких-либо микроорганизмов, например, в микроэлектронике, применяют фильтры с порами размером не более 0,1-0,2 мкм.

Вопросы для самоконтроля

1. Какую болезнь вызывает *Salmonella typhi*?
2. Что такое индекс самоочищения водоема?
3. Как называются организмы, которые научились закрепляться в системе водоснабжения и даже размножаться?
4. Назовите основные этапы оценки санитарно-биологического состояния воды.
5. Что такое батометр?
6. В чем заключается основная идея бродильного метода определения колиформных бактерий?
7. Для каких целей проводится оксидазный тест?
8. Какие химические способы очистки и обеззараживания воды Вы знаете?
9. Дайте краткую характеристику олигодинамическому методу обеззараживания воды.
10. Перечислите основные механические способы очистки и обеззараживания воды.

Глава 10. Санитарно-микробиологическое исследование почвы

10.1. Микрофлора почвы

Почва, как известно, является естественной средой обитания многих микроорганизмов в природе, встречающихся определенных ее слоях в различных поясах земного шара – от Крайнего Севера до тропика Козерога. Ее микрофлора принимает активное участие в процессах формирования и самоочищения, а также в круговороте веществ в природе (азота, углерода, серы, железа и проч.). Различные микроорганизмы находят в почве необходимые им питательные вещества, влагу, кислород; почва также защищает их от губительного действия прямых солнечных лучей и высыхания. Микробы, как правило, обитают в т.н. коллоидных и водных пленках, обволакивающих почвенные частицы.

Количественный и видовой (качественный) состав **микрофлоры почвы** изменяется в зависимости от региональных и климатических условий (содержание микробов увеличивается с севера на юг), времени года, температуры, химического состава и физических свойств ее влажности, реакции среды (рН), способа обработки и проч. Например, в песчаных и каменистых почвах, а также почвах, лишенных растительности, микроорганизмов меньше, чем в почвах пахотных и особенно удобренных почвах. Неоднородное распределение микроорганизмов также обусловлено слоистостью почвы; незначительное их количество содержится на поверхностном слое толщиной в несколько миллиметров, где микробы подвержены различным факторам внешней среды. Более обильно населен следующий, поверхностный слой почвы толщиной 5-20 см, т.к. в нем содержатся большое количество органических питательных веществ. Максимальная же концентрация микроорганизмов – в зоне корневой системы растений (в ризосфере). По мере углубления их количество постепенно уменьшается. Так, на глубине 25-30 см, микробов уже в 10-20 раз меньше. По данным, приводимым Е.Ю. Колесниковым, на каждый гектар малопродуктивной почвы приходится 2,5-3,0 т микробной массы, а высокопродуктивной – до 16 т¹⁹⁴. Количество микроорганизмов в 1 г почвы может колебаться от $1-3 \times 10^6$ до $20-25 \times 10^9$.

¹⁹⁴ Колесников Е.Ю. Системы защиты среды обитания: учебник и практикум для вузов. – М.: Издательство Юрайт, 2023. – 551 с. – С. 317.

Микрофлора почвы представлена разнообразными видами бактерий: *актиномицетами, спирохетами, простейшими, сине-зелеными водорослями, микоплазмами, грибами и вирусами*. В верхних слоях, содержащих больше органических веществ и подвергающихся хорошей аэрации, преобладают *аэробные сапрофитные организмы*, способные разлагать сложные органические соединения. Важно понимать, что микроорганизмы почвы находятся в постоянном биоценозе, которые характеризуется антагонистическими и симбиотическими взаимоотношениями как между собой, так и с растениями.

Так, к постоянным обитателям относятся различные гнилостные, преимущественно спорообразующие, аэробные (*Bac. mycoides, Bac. subtilis, Bac. mesentericus* и проч.) и анаэробные (*Cl. sporogenes, Cl. putrificum, Cl. perfringens, Cl. botulinum, Cl. Chauvoei* и проч.), а также термофильные бактерии, пигментные, кокковые формы; из сапрофитных кокков чаще выявляются микрококки (*Micrococcus albus, reseau, flavus*). В почве также распространены нитрифицирующие, денитрифицирующие, азотфиксирующие бактерии, серо- и железобактерии, бактерии, разлагающие клетчатку, актиномицеты, плесневые грибы, дрожжи, протозойные организмы, микроскопические водоросли. Некоторые из них, попадая в пищевые продукты могут вызывать их порчу, а также накапливать ядовитые для человека соединения. Помимо гниения, в почве также совершаются и другие процессы, обусловленные жизнедеятельностью микроорганизмов: *нитрификация, денитрификация, разложение клетчатки* и проч. Данные процессы играют колоссальную роль в формировании плодородия почвы, т.к. вся масса органических веществ, которая в нее непрерывно поступает (остатки растений, трупы животных и другие загрязнения) под влиянием микроорганизмов разлагается на более простые соединения. В аэробных условиях разложение происходит до полной минерализации остатков с образованием окислительных соединений простого состава, тогда как в анаэробных – образуются газообразные вещества и промежуточные продукты в виде органических кислот.

Согласно исследованиям С.Н. Виноградского (1952) микрофлору почвы можно разделить на *метаболически активные организмы (R-стратегии)*, которые ассимилируют неорганические, низкомолекулярные органические вещества и быстро ферментируют высокомолекулярные органические соединения – белки, целлюлозу, пектин, хитин («зимогенная» от лат.

zimogenic – возбуждающие брожение или сапрофитовая микрофлора), и *метаболически малоактивные организмы* (к-стратеги), способные к де-струкции и синтезу гумусовых веществ («аутохтонная» микрофлора)¹⁹⁵. К аутохтонам можно отнести представителей родов *Bacillus*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Bactoderma*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, а также грибы – *Penicillium*, *Aspergillus*; к зимогенам – бактерии, особенно неспорообразующие формы, родовую принадлежность которых установить довольно трудно. *Микроорганизмы-эктосимбиоты* обитают в почве, непосредственно окружающей корни растений; эти участки вместе с поверхностью корней составляют **ризосферу растений**¹⁹⁶. С функциональной точки зрения ее можно рассматривать как область, лежащую в пределах нескольких миллиметров от поверхности каждого корня, в которой химическая активность растения влияет на микробную популяцию. Такое воздействие проявляется, как правило, в количественном отношении: число бактерий в ризосфере обычно превышает их число в окружающей почве в 10, а нередко и в сотни раз. Относительно качественных изменений, то в ризосфере преобладают *грамотрицательные палочки*, тогда как грамположительные палочковидные и кокковидные формы встречаются реже, чем в остальной части почвы. Никаких специфических ассоциаций конкретных бактериальных видов к конкретным растениям на данный момент не установлено.

Главной причиной относительного обилия бактерий в ризосфере заключается в том, что корни растений выделяют органические питательные вещества, которые избирательно стимулируют рост бактерий с определенными типами питания. Никаких четких трофических взаимосвязей опять же не установлено, однако, многие органические продукты, выделяемые корнями растений, уже идентифицированы. Также недостаточно изученным остается вопрос о том, извлекает ли растение какую-либо пользу из ассоциации с микроорганизмами, однако, известно, что многие свободноживущие почвенные бактерии выполняют необходимые для самих растений функции, например, фиксация азота, минерализация органических соединений и проч., поэтому логично предположить, что некоторые растения «выигрывают» от контакта с микроорганизмами. Действительно, образующиеся минеральные соединения являются питательным веществом для

¹⁹⁵ См. подробнее: *Виноградский С.Н.* Микробиология почвы: Проблемы и методы: Пятьдесят лет исследований / [Вступ. статья А. Имшенецкий. "С. Н. Виноградский и его творчество", с. 3-18]. – М.: Изд-во Акад. наук СССР, 1952. – 792 с.

¹⁹⁶ **Ризосфера** – это узкий слой почвы, прилегающий к корням растения и попадающий под непосредственное действие корневых выделений и почвенных микроорганизмов, толщиной около 2-5 мм

растений; соединения углерода, азота, фосфора и других элементов из недоступных для растений форм преобразуются микробами в вещества, поэтому происходящие в почве процессы распада и минерализации органических веществ имеют большое санитарное значение. Кроме того, микроорганизмы активно влияют на формирование состава почвы и почвенного гумуса (перегноя), образуемого из самых разных природных растительных соединений при участии тех или иных видов бактерий (и аэробов, и анаэробов) и микроскопических грибов.

В почве также могут находиться и *патогенные микроорганизмы*, которые попадают в нее с трупами животных, испражнениями, сточными водами и различными отбросами. По преимуществу, это спорообразующие бактерии, например, возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма, сибирской язвы и проч. При благоприятных условиях, они могут не только выживать, но и достаточно длительный период времени сохранять вирулентные свойства¹⁹⁷. Некоторые патогены (например, возбудители столбняка или сибирской язвы) даже размножаются, однако, большинство из них не находят в ней достаточных условий для этого, поэтому со временем теряют болезнетворность и гибнут. Безусловно, сохраняемость бактерий в почве во многом зависит от вида. Так, в жизнеспособном состоянии в течение долгого времени может находиться *туберкулезная палочка* (от 5 мес. до 2 лет), *бруцелла* (до 3 мес.), *бактерии рожи свиней* (до 166 дней), *гноеродные кокки* (до 2 мес.); споровые патогены сохраняются в почве несколько десятков лет. Почва, зараженная этими и другими патогенами, таким образом, может служить источником распространения различных инфекционных заболеваний.

В связи с этим, особое значение имеет микробиологическое исследование почвы, например, при строительстве или планировке территории для заводов пищевой промышленности, водохранилищ, а также оценки санитарно-зоогигиенического состояния, интенсивности загрязнения почвы микроорганизмами. Пробы почвы берутся из разных участков и исследуют или отдельно каждую, или в виде средних проб, полученных путем смешивания образцов (**см. подробнее пп. 10.2**). Главным показателем санитарного состояния почвы содержание в ней термофилов, т.к. в незагряз-

¹⁹⁷ **Вирулентность** (от лат. virulentus – «ядовитый») называется способность инфекционного агента (штамма микроорганизма или вируса) проникать в организм, размножаться в нем и подавлять защитные силы, что способствует развитию инфекционного процесса. Так, например, было установлено, что SARS-CoV2 обладает высокой вирулентностью, значительно превышающей аналогичный показатель у другого коронавируса – SARS-CoV, вызывающего тяжелый острый респираторный синдром.

ненных почках они практически отсутствуют. Термофилы – это, преимущественно, спорообразующие грамположительные палочки и актиномицеты. При бактериологическом исследовании почвы термофилы, кишечные палочки и некоторые другие микроорганизмы относятся к *санитарно-показательным*, т.е. по их присутствию и количеству можно судить о санитарном состоянии почвы на конкретном участке.

Одновременно с этим, известно, что даже сильно загрязненные почвы могут *самоочищаться*, например, от бактерий группы кишечной палочки, по истечении нескольких месяцев. На этот процесс влияют такие факторы, как механический состав и рН почвы, состав постоянной почвенной микрофлоры, растительный покров почвы, температура окружающей среды, интенсивность солнечной радиации и проч. Интересно будет заметить, что процессы самоочищения почвы положены в основу наиболее распространенных и эффективных методов обеззараживания жидких и твердых отходов, обеспечивающих полную их минерализацию и гибель патогенной микрофлоры. Более того, органическое вещество отходов, обезвреживаясь, превращается в ценное удобрение. Твердые отходы запахиваются или обезвреживаются в т.н. компостах вдали от колодцев и водоемов. Решающая роль в их разогревании отводится именно термофилам. Почвенный метод обезвреживания применяется также для очистки сточных вод на специальных полях орошения, процесс которого заключается в том, что вода, попадая в почву, соединяется с почвенной микрофлорой, которая, в свою очередь, минерализует органические вещества сточных вод.

10.2. Процедура микробиологического исследования почвы как источника контаминации пищевых продуктов

Итак, как было отмечено в предыдущем параграфе, почва относительно обильно заселена различными микроорганизмами. В ней встречаются практически все формы микробов, существующих на Земле: бактерии, вирусы, актиномицеты, дрожжи, грибы, простейшие. Общее микробное число (ОМЧ) на 1 г почвы может достигать от 1,0 до 10 млрд. При **санитарно-микробиологическом анализе** определяется не только уже привычные ОМЧ и коли-титр, но и *перфрингенс-титр*, *титр нитрифицирующих бактерий* и количество протеев и термофильных бактерий. Так, микробное число характеризует загрязненность почвы органическими веществами; присутствие бактерий группы кишечной палочки, а также палочки

Clostridium perfringens свидетельствует о фекальном загрязнении; наличие бактерий рода *Proteus* дает основание считать возможным загрязнение почвы органическими веществами животного происхождения или фекалиями человека; присутствие термофилов, в свою очередь, указывает на загрязнение почвы навозом или компостами.

Процедура микробиологического исследования почвы, в частности, как источника контаминации пищевых продуктов патогенами, происходит в несколько этапов. На первом этапе происходит *взятие проб почвы*; образцы берут на глубине 15-20 см, снимая верхний слой толщиной 2 см (из разных мест исследуемой территории не менее 10), используя маленькую железную лопатку или совок и переносят в стерильные широкогорлые банки, завернутые в бумагу и снабженные этикеткой. Каждый взятый образец должен весить 200-300 г, а смешанный (средняя проба) – не менее 1 кг. На следующем этапе *почва подготавливается для анализа*: образцу освобождаются от крупных включений, размельчаются, просеивают через стерильное трехмиллиметровое сито, затем проба высыпается на стерильную бумагу, тщательно перемешивается и отвешивается 10 г. Навеска почвы помещается в колбу емкостью 250 см³ с 90 см³ стерильной водопроводной воды. Таким образом, получается разведение 1:10, соответствующее 0,1 г исследуемой почвы. Колба затем встряхивается в течение 10 мин, отстаивается 30 с. Далее, производится еще 3-6 десятикратных разведений в зависимости от загрязнения почвы.

Далее начинается микробиологический анализ образцов:

1. *Определение микробного числа почвы*; в две стерильные чашки Петри, слегка приоткрыв крышку, вносят по 1 см³ 10⁻⁴ и 10⁻⁵ разведений почвенной суспензии и затем заливают их расплавленным и охлажденным до 45 °С питательным агаром (мясопептонный или картофельно-глюкозный агар). После его застывания чаши помещают в термостат на 24-48 ч при температуре 37±2 °С и далее выдерживают столько же при комнатной температуре. По прошествии времени, подсчитывается число выросших на чашках колоний и определяется микробное число в 1 г почвы с учетом засеянного разведения.

2. *Определение коли-титра почвы*; титром кишечной палочки, напомним, называют наименьшее количество почвы (в г), котором обнаруживается кишечная палочка, а коли-индекс – это их количество в 1 г почвы. Для определения коли-титра по 1 см³ разведений почвенной сус-

пензии от 10^{-1} до 10^{-5} засевают в пробирки со средой Кесслера¹⁹⁸, в которой находятся поплавки. Посевы выдерживаются в термостате при 37 °С в течение 18-24 ч, после чего отмечается накопление газа в поплавках.

3. *Определение перфрингенс-титра почвы; перфрингенс-титр* – это титр грамположительных облигаторных анаэробных спорообразующих палочек, восстанавливающих сульфиты. Присутствие *C. perfringens* (споровых форм) будет свидетельствовать о давнем фекальном загрязнении. Для определения перфрингенс-титра используется железо-сульфатный агар (среда Вильсона-Блера). Обнаружение в этой среде *C. perfringens* обусловлено способностью данного микроорганизма восстанавливать $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ до Na_2S , который, взаимодействуя с хлорным железом, приводит к образованию сернистого железа (FeS), имеющий черный цвет. Пробирки с разведениями почвенной суспензии прогревают на водяной бане с температурой 80-85 °С в течение 15 мин, затем охлаждают до комнатной температуры, а после засевают по 1 см³ разведений почвенной суспензии от 10^{-1} до 10^{-4} в пробирки с расплавленной и охлажденной до 45 °С средой Вильсона-Блера. Вращением пробирки между ладонями суспензию равномерно распределяют в среде, после чего охлаждают в проточной водопроводной воде до застывания агара. Посевы инкубируются в течение 18-24 ч при температуре 43 °С. О наличии *C. perfringens* можно будет судить по росту черных колоний.

4. *Определение количества термофильных микроорганизмов в почве*; для определения индекса термофилов в стерильные чашки Петри вносят по 1 см³ разведений почвенной суспензии от 10^{-1} до 10^{-3} , заливают расплавленным и охлажденным до 45 °С мясопептонный агар. По застывании агара, чашки инкубируют в течение 24 ч при температуре 60 °С, после чего подсчитывают число выросших колоний и определяют количество термофильных бактерий в 1 г почвы с учетом разведения.

5. *Обнаружение в почке палочек протей*; бактерии рода *Proteus* попадают из почвы на пищевые продукты и при благоприятных условиях размножаются в них; продукты жизнедеятельности палочек протей могут вызывать пищевые отравления¹⁹⁹. Для их обнаружения в почве по методу

¹⁹⁸ **Среда Кесслера** – это среда для выделения энтеробактерий по признаку ферментации лактозы сухая представляет собой мелкодисперсный гомогенный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-кремового цвета. Предназначена для приготовления жидких и плотных питательных сред, используемых при проведении микробиологических исследований.

¹⁹⁹ **См. подробнее:** Шепелин А.П., Полосенко О.В. Сравнительный анализ питательных сред для выделения протеев // Бактериология. 2019. № 4(3). С 31-37.

Шукевича в конденсационную воду свежескошенного мясопептонного агара вносят 0,1 см³ соответствующего разведения почвенной суспензии. Пробирки выдерживают в течение 24-48 ч в термостате при температуре 37 °С, после чего регистрируют рост протеев по образованию тонкой вуалевидной пленки на скошенной поверхности агара. При ее наличии готовят микроскопический препарат с ее поверхности, окрашивают по Граму и определяют подвижность и способность образовывать H₂S.

Результаты санитарно-микробиологического исследования почвы анализируют и дают ей оценку, используя данные (см. таблицу 10.1):

Таблица 10.1 – Схема оценки санитарного состояния почвы по микробиологическим показателям

Категория почв	Титр (г)			Индекс термофильных микроорганизмов, КОЕ/г
	<i>БГКП</i> ²⁰⁰	<i>нитрифицирующих бактерий</i>	<i>перфрингенс</i>	
чистая	1,0 и выше	0,1 и выше	0,01 и выше	10 ² -10 ³
загрязненная	0,9-0,01 и ниже	0,09-0,0001	0,009-0,0001	10 ³ -10 ⁵
сильно загрязненная	0,009 и ниже	0,00009 и ниже	0,00009 и ниже	10 ⁵ - 4×10 ⁶

10.3. Способы очистки и обеззараживания почвы

В настоящее время очистка и обеззараживание почв осуществляется следующими способами – *механический, термический, физико-механический, физико-химический, химический, биологический, агрохимический и агротехнический* (см. таблицу 10.2). Для сельскохозяйственных целей, как правило используется **термический способ**, т.к. большинство почвенных микроорганизмов имеют белковую структуру, поэтому при термическом воздействии разрушаются. В зависимости от используемого теплоносителя применяются следующие основные системы: *паровая, водяная, газовая, газопаровая, электрическая и огневая*. Интересно будет заметить, что отсутствие и по сей день четких требований и регламентов относительно процесса очистки и обеззараживания почв с помощью данных систем, а также малыми площадями зачищенного грунта стало причиной

²⁰⁰ БГКП – бактерии группы кишечной палочки.

создания широкого спектра устройств и приспособлений, во многом по-прежнему носящих кустарный характер.

Таблица 10.2 – Классификация способов очистки и обеззараживания (обезвреживания) почв и защищенных грунтов

Способ	Методы и средства очистки и обеззараживания
Механический	– механическое удаление загрязненного слоя почвы; экранирование (засыпка загрязненной поверхности слоем чистого грунта или почвы); изоляция пятен загрязнения различными методами (полимерные покрытия, гидроизоляция грунтовых вод и проч.); запашка (захоронение) верхнего загрязненного слоя в более глубокие слои;
Термический	– обработка на месте; обработка в термокамерах;
Физико-механический	– сепарация частиц, содержащих поллютанты от матрицы: сухое или мокрое просеивание;
Физико-химический	– вакуумная экстракция или вентиляция почвы; экстракционные технологии (промывка загрязненного грунта растворами комплексообразователей, деспергентов и др.); иммобилизационные технологии (внесение химических осадителей, комплексообразователей, сорбентов);
Химический	– методы химической детоксикации (метам натрия, дазомет, азид, диметилдисульфид, дициан, сульфурилфторид, метилиодид, карбонилсульфид и проч.)
Биологический	– биовентилирование, грибковые технологии, использование ила, фиторемедиация, биофумиганты;
Агрохимический	– внесение удобрений и мелиорантов;
Агротехнический	– фитосанитарный; различного рода вспышки.

Обеззараживание почвы паром (пропаривание) осуществляется путем подачи, соответственно, пара непосредственно в почву (подпочвенное пропаривание) или в глубь через поверхность (надпочвенное или шатровое пропаривание). Конструктивно, устройства, обеспечивающие подачу пара таким образом, выполняются в виде борон или вил с полыми перфорированными зубьями, решеток с перфорированными трубами, плугов с патрубками или специальных дренажных систем и труб. Их применение, преимущественно требует значительных затрат ручного труда и не позволяют механизировать технологию обеззараживания почв (за исключением плуга), а следовательно системы имеют низкую производительность в использовании на больших площадях защищенного грунта. В крупных теп-

личных комбинатах для дезинфекций почвы паром используется *термостойкая пленка*²⁰¹. Кроме того, как в закрытых культурах, так и на масштабных сельхозугодьях используются *парогенераторы*, позволяющие обеззараживать как почву, так и другие питательные среды с помощью сухого пара при температуре около 200 °С. Почву прогревают сухим паром до 70-75 °С не менее 30 минут. За это время эффективно уничтожаются патогены и вредители, ограничивающие рост сельскохозяйственных культур, такие как бактерии, грибы, нематоды, насекомые и семена сорняков. Почвенные вирусы, если они обнаруживаются, погибают при более высоких температурах – 85-100 °С.

Системы электрического обеззараживания почв по конструктивному исполнению подразделяются на *электродные, элементные, электроискровые и лучистые*. Все используемые устройства, как стационарные, так и передвижные, объединяет применение плоских металлических электродов, находящихся в вертикальном положении в почве по отношению к ее поверхности. Нагрев почвы происходит за счет превращение электрической энергии в тепловую в момент прохождения электрического тока. Разница заключается в конструкции электродов, их расположении относительно друг друга, электрических схемах соединения, используемом напряжении, а также частоте тока. Количество энергии, необходимой для эффективного обеззараживания 1 м³ почвы составляет 40-65 кВт – ч/м³. К достоинствам способа можно отнести сравнительно малое количество времени на обработку почвы, а также комплексное воздействие на патогенные микроорганизмы электрической энергии и термического фактора. Относительно недостатков, то можно назвать сложность управления процессом нагрева почвы, что объясняется свойствами самой почвы как коллоидного капиллярно-пористого тела; такие характеристики как влажность, пористость, физико-химический состав, плотность и проч. определяют электрическое сопротивление, поэтому и процесс нагрева непостоянен по всему объему почвы²⁰².

²⁰¹ **Прим.:** в Великобритании создана новая ткань, покрытая синтетической резиной – гиполоном (хлорсульфонат полиэтилен). Она более устойчива к химикатам и повышенным температурам (может использоваться без видимых изменений более 1000 ч при 140°C), прочна и легка (400 г/м²). Ткань имеет утолщенные края с отверстиями для крепления ее крючками или стержнями на поверхности почвы при стерилизации. В Румынии поверхность почвы покрывают хлорвиниловой пленкой. Давление пара под пленочным «шатром» поддерживается от 5 до 10 мм вод. ст. При нормальной работе оборудования температура почвы на глубине 30 см достигает 70°C через 10,5 или 3, 5 ч в зависимости от давления.

²⁰² **Прим.:** для обоснования направления работы в этой области и выбора оптимальной конструкции устройств для обеззараживания почвы была проведена патентная проработка по следующим странам: Россия, Япония, США, Франция, Великобритания, Германия, Чехословакия, Нидерланды, Румыния и Болгария. Выявлено, что все устрой-

Другие физические методы очистки почвы, связанные с электрическим направлением на удаление из почвы хлорсодержащих углеводородов, различных нефтепродуктов, фенолов, тяжелых металлов. Так, например, при использовании *электрохимической очистки*, в процессе движения электрического тока сквозь почву осуществляется электролиз воды, электрокоагуляция, реакции электрохимического окисления и электрофлотации. Например, степень окисления фенола находится в пределах от 70 до 90%. Качественный уровень обеззараживания почвы при таком способе очистки приближается к 100% (минимальный показатель – 95%). Метод позволяет удалять из почвы также такие вредные элементы как ртуть, свинец, мышьяк, кадмий, цианиды и др. К минусам метода можно отнести достаточно высокую стоимость (100-250 долл. за 1 м³).

Также можно назвать *электрокинетический способ очистки*; его используют для очищения почвы от цианидов, нефти и производных нефти, тяжелых металлов, цианидов, хлористых органических элементов. Типы почв, к которым может успешно применяться электрокинетическая очистка – глинистые и суглинистые, насыщенные влагой частично или полностью. Технология основана на применении таких процессов как электрофорез и электроосмос. Для использования метода требуется применение химических реактивов или растворов поверхностно-активных веществ. Эффективность электрокинетической очистки почвы составляет от 80 до 99%, уровень контроля и воздействия на процессы очищения почвы также достаточно высокий. Стоимость несколько ниже чем при электрохимической очистке (100-170 долл. за 1 м³).

Безусловно, средства и методы очистки и обеззараживания почв определяются с учетом наличествующих (выявленных) патогенов, а также времени и места обработки, объема работ и предполагаемой глубины загрязнения. Так, при обнаружении возбудителей сибирской язвы, эмкаре и других инфекционных заболеваний, отличающихся особой устойчивостью во внешней среде спорообразующими микроорганизмами, почву тщательно *обжигают огнем* для удаления растительности, орошают (из расчета 10 л/м³) взвесью *хлорной извести* или раствором *нейтрального гипохлорита кальция* с содержанием 5% *активного хлора*. Для предотвращения растекания жидкости на плохо впитывающих влагу почвах место обработки окру-

ства по обеззараживанию почвы, как с использованием пара, так и электроэнергии, имеют следующие общие недостатки: низкая производительность, значительные затраты труда и энергии.

жают невысокой (5-10 см) насыпью, землю для которой берут за пределами обеззараживаемого участка. Взвесь или раствор препарата наносят постепенно по мере впитывания в почву. Далее, после полного впитывания, почву перекапывают на глубину не менее 25 см, тщательно перемешивая ее (1:1) с сухой хлорной известью, содержащей не менее 25% активного хлора, или нейтральным гипохлоридом кальция. Затем почва увлажняется водой из расчета 5 л/м³.

Для обеззараживания поверхностного слоя почвы (3-4 см), как правило, используется 10%-ный горячий раствор *едкого натра*, 4%-ный *раствор формальдегида*, 5%-ный осветленный раствор хлорной извести или *нейтрального гипохлорита кальция*. Расход формальдегида составляет 5 л/м², других препаратов – 10 л/м². Почву старых сибиреязвенных скотомогильников или отдельных захоронений saniруют бромистым метилом или *смесью окиси этилена и бромистого метила* (ОКЭБМ) в соответствии с действующей инструкцией по их применению.

В свою очередь, для дезинфекции почвы при обнаружении *туберкулезных палочек* используется щелочной раствор формальдегида, содержащий 3% формальдегида и 3% едкого натра, 4%-ный раствор формальдегида или дуст тиазона (овицидный препарат). Норма расхода растворов при обеззараживании почвы на глубину 3-4 см – 10 л/м², на глубину – 20 см – 30 л/м² (экспозиция – 72 ч). Применение тиазона почву на глубину 3-5 см перекапывают, перемешивая с сухим препаратом из расчета 0,2 кг на 1 м², после чего увлажняют водой (5 л/м²) (экспозиция – 5 суток). Поверхностный слой почвы на глубину до 3 м при *бруцеллезе, листериозе, ящуре, роже и чуме свиней*, а также других бактериальных и вирусных болезнях дезинфицируют 3%-ным раствором формальдегида из расчета 5 л/м² или дустом тиазона, который наносится на поверхность (0,2 кг/м²) с последующим перекапыванием на глубину 10 см и увлажнением водой (5 л/м²); продолжительность обработки составляет 5 суток. Наконец, грунт бывших скоплений навоза, помета, жижи и других участков, загрязненных выделениями животных и навозными стоками, увлажняют *дезинфицирующим раствором* и вывозят на специальные площадки для обеззараживания методом длительного выдерживания.

Следует отметить, что если заключительные мероприятия по оздоровлению почвы совпадают с периодом дождей, снегопада или мороза, почву обеззараживают с наступлением благоприятной погоды, а в остальных

случаях – при любых погодных условиях принимают дополнительные меры к предупреждению рассеивания патогена.

Важным процессом очистки и обеззараживания почвы является *дезинвазия*. **Дезинвазия** – это комплекс мероприятий, направленных на уничтожение во внешней среде возбудителей инвазионных болезней на различных стадиях развития; она является составной частью химиопрофилактики гельминтозов и протозоозов²⁰³. С помощью методов и средств дезинвазии в почве уничтожают яйца аскаридий, гетеракисов, аскариды, трихоцефала, яйца и личинок эзофагостом, личинок стронгилоидов, яйца тениид (эхинококков, мультицепсов и др.) на определенных участках сосредоточения животных и птицы. Для дезинвазии почвы, как правило, применяют хлорную известь и едкий натр; также допустимо использование прошедших соответствующие испытания и регистрацию пестицидов.

Обращаем внимание уважаемого читателя на то, что дезинвазия почвы должна проводиться в комплексе с другими специальными мероприятиями и через 5-6 суток после другой процедуры – **дегельминтизации**²⁰⁴ (депаразитации) или при заключительных обработках. Для этого используются горячие растворы едкого натра в 3%-ной концентрации из разрешенных препаратов, в частности, группы пестицидов. Раствор готовится на обычной водопроводной или речной воде непосредственно перед использованием. Его наносят на обрабатываемую поверхность при помощи дезинфекционной установки с распыляющим устройством или гидропульта с высоты не более 40 см при температуре почвы 10-20 °С. После впитывания почву перекапывают на глубине 25 м.

К другим средствам химической очистки и обеззараживания почвы также можно отнести активные вещества из группы метилизотиоцианатных фумигантов (MITC) – метам натрия и дазомет. Nemasol 510 SL и Basamid 97 GR эффективно борются помимо прочего, с возбудителями, вызывающими гангрену проростков (*Pythium spp*, *Phytophthora spp*, *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*); гниение корней и стеблей (*Pythium spp*, *Stromatinia spp*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Sclerotinia*

²⁰³ Кузнецов А.Ф. Зоогигиена и ветеринарная санитария. – СПб.: Квадро, 2017. – 384 с. – С. 262; См. также: Тюрин В.Г. Зоогигиена и ветеринарная санитария на животноводческих фермах: учебное пособие для СПО. – 4-е изд. изм. и доп. / В. Г. Тюрин, А. Ф. Кузнецов, В. Г. Семенов, И. В. Лунегова, К. А. Рожков. – М.: Лань, 2023. – 423 с.

²⁰⁴ **Дегельминтизация** (от «де» и «гельминты») – комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленных на оздоровление окружающей среды от инвазионного материала (яиц, личинок) и оздоровление животных и населения от гельминтов. Принадлежит к более широкому разделу паразитологии — девастации. Впервые предложил этот термин К. И. Скрыбин в 1925 г.

sclerotiorum, *Didymela lycopersici* и проч.); холка (*Fusarium spp*, *Verticillium spp*). Обеззараживание почвы *метаматом натрия* зарегистрировано при выращивании клубники и может выполняться только обученными фумигационными бригадами. Для этого используются специальные машины: роторный инжектор для работы на небольших полях или в туннелях, аппликаторы Mix-Tiller (Forigo), инжекторы Imants для работы на больших площадях. Второе вещество – *дазомет* – входит в состав средства, используемого в основном в посевах под покровом: перец, помидоры, огурцы, салат, редис, тепличные декоративные растения. Как правило, дазомет вносят в почву на глубину до 20 см, а в случае борьбы с грибами, вызывающими корневую гниль и корневую гниль, – на 30 см. Для получения высокой эффективности обработки необходимо обеспечить равномерное распределение препарата в обеззараженном слое субстрата, т.е. смешать дазомет с почвой. Для этого используется роторную механическую лопату или культиватор с L- или C-образными зубьями с рабочей скоростью 200-240 ножей в минуту.

За 10-14 дней до обработки почву следует обильно орошать. Во время фумигации влажность верхнего слоя почвы (10-15 см) должна составлять 50-65% от водоемкости поля для метамата натрия и 60-70% для дазомета. Они вносятся в почву, свободную от растительных остатков.

Другие химические вещества, уже зарегистрированные или все еще исследуемые в других странах, включают почвенные *химические фумиганты*, такие как азид натрия (SEP-100™), диметилдисульфид (Paladin; DMDS), дициан (этандинитрил), сульфурилфторид (ProFume®), метилиодид (Midas) и карбонилсульфид. В ряде стран также используются и *биологические фумиганты*, такие как измельченные семена абиссинской капусты (*Brassica carinata*) и горчицы белой (*Sinapsis alba*); они были испытаны несколько лет назад в Институте садоводства как метод биофумигации почвы и снижения заболеваний почвы. В эксперименте семена вручную высыпали на почву в дозе 150 г/м², а затем перемешивали с субстратом на глубину 17 см с помощью роторной лопаты. Результаты показали положительный тренд, в т.ч. уменьшение количества болезнетворных бактерий и грибов в обеззараженной среде. Однако авторы исследований указывают на необходимость дальнейших наблюдений²⁰⁵.

²⁰⁵ Дезинфекция почвы для здорового урожая. – 01.02.2022 // ProRoslo. – ULR: <https://proroslo.ru/bez-rubriki/dezinfektsiya-pochvy-dlya-zdorovogo-urozhaya.html>

Другими биологическими и биохимическими способами очистки и обеззараживания почвы являются биовентиляция, грибковые технологии, использование ила, фито- и биоремедиация. Наиболее распространенными являются последние два²⁰⁶. Так, фиторемедиация предполагает использование потенциала растений по разложению, иммобилизации или извлечению загрязнителей из почвы. Для очистки почвы используется **фитоэкстракция** – выращивание растений-гипераккумуляторов с целью накопления загрязнителей в организме растений. Этот метод с использованием растений из семейства Крестоцветных (*Cruciferae*) или Капустных (*Brassicaceae*), в т.ч. ярутки сизовой (*Noccaea caerulescens*), а также таких растений, как амарант (*Amaranthus cantatu*) и львиный зев (*Antirrhinum majus*), достаточно эффективен для извлечения тяжелых металлов, в частности меди, цинка, никеля, кадмия, кобальта, свинца, марганца, хрома и их соединений. Для повышения эффективности обеспечивается несколько циклов роста растений на очищаемой территории. После фитоэкстракции растения собирают и сжигают, а пепел утилизируют.

Биоремедиация, в свою очередь, предполагает использование высоких концентраций специально отобранных микроорганизмов, которые вносятся в почву. Так, например, используются *Pseudomonas aeruginosa-12-P* или *Pseudomonas citronelollis-48-Y*, или их консорциумов, например, ассоциации штаммов *Rhodococcus 1418* и *Rhodococcus 1715*. Иногда проводят стимуляцию уже существующей в почве микрофлоры за счет биостимуляции или используют растения для фитостимуляции микроорганизмов в корнях и прикорневой зоне. При фитостимуляции растения создают среду обитания для микроорганизмов за счет доступа кислорода и разрыхления грунта. Отметим, что данная группа методов достаточно эффективна при очистке почвы от нефтепродуктов и нефти.

²⁰⁶ См. подробнее: Филиппова Л.С., Акимова А.С. Загрязнение почвы и биологические методы ее очистки // МНИЖ. 2022. №11 (125). С. 13.

Вопросы для самоконтроля

1. В зависимости от каких условий изменяется количественный и качественный состав микрофлоры почвы?
2. Дайте определение понятию «ризосфера растений».
3. Какова основная причина относительного обилия бактерий в ризосфере?
4. Перечислите основные этапы микробиологического исследования почвы.
5. Что такое перфрингенс-титр?
6. Какие физико-химические способы очистки и обеззараживания почвы Вы знаете?
7. К какой группе методов очистки и обеззараживания почвы относятся грибковые технологии?
8. В чем заключается агротехнический способ очистки и обеззараживания почвы?
9. Дайте определение понятию «дезинвазия».
10. В чем заключается метод фитоэкстракции?

РАЗДЕЛ 4. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

Глава 11. Кишечные инфекционные заболевания и отравления при употреблении недоброкачественных пищевых продуктов

11.1. Пищевые инфекции: зооантропонозные и антропонозные заболевания

Микробиологические характеристики пищевых продуктов необходимы для объективной оценки их безопасности, а также профилактики инфекционных заболеваний среди населения. Пищевые продукты, как уже неоднократно было отмечено ранее, могут быть контаминированы различными видами патогенов, вызывающих такие заболевания. Важно понимать, что для запуска инфекционного процесса достаточно, чтобы в пищевом продукте имелось небольшое количество возбудителя, который при попадании в организм человека размножается в нем и вызывает соответствующее заболевание. Попавшие в продукты патогены могут некоторое время сохранять в них свою жизнеспособность.

11.1.1. Зооантропонозы

В пищевой микробиологии инфекционные заболевания подразделяются на зооантропонозные и антропонозные. **Зооантропонозами** называются инфекционные заболевания, передающиеся человеку от животных и птиц или через пищевые продукты животного происхождения (см. таблицу 11.1). К ним относятся: *туберкулез, бруцеллез, сальмонеллез, лептоспирозы, кампилобактериоз, листериоз, иерсиниозы, эризипелоид, кулихорадка, пастереллез, туляриемия и ящур.*

Таблица 11.1 – Инфекционные заболевания человека, передающиеся от животных и птиц (по В.А. Доценко)

Заболевание и его источники	Пути и условия заражения человека
<i>Туберкулез</i> (коровы, свиньи, козы, овцы, верблюды, куры, утки)	– воздушно-капельный, при уходе за больными животными, при употреблении пищевых продуктов;

Заболевание и его источники	Пути и условия заражения человека
<i>Бруцеллез</i> (крупный рогатый скот, овцы, козы, свиньи, олени)	– контакт с больными животными во время отела; через предметы, загрязненные выделениями животных; при употреблении молочных продуктов; при обработке сырья животного происхождения;
<i>Сальмонеллез</i> (молодняк крупного и мелкого рогатого скота, свиней, лошадей, птицы (куры, утки))	– пищевой при употреблении пищевых продуктов животного происхождения без достаточной термической обработки (мясо животных вынужденного забоя, птицы, яйца, молоко и молочные продукты);
<i>Лептоспирозы</i> (свиньи, крупный и мелкий рогатый скот, лошади, верблюды (больные или носители))	– пищевой, водный при употреблении пищи и воды, загрязненных выделениями; при купании; уходе за больными животными; убое и переработке продуктов животного происхождения;
<i>Кампилобактериоз</i> (свиньи, овцы, крупный рогатый скот, куры)	– пищевой при употреблении мясных и молочных продуктов, мяса цыплят бройлеров при их недостаточной термической обработке;
<i>Листерия</i> (овцы, козы, крупный рогатый скот, лошади, верблюды и другие животные (больные или носители))	– пищевой при использовании в пищу продуктов от больных животных; контактный при уходе за этими больными животными;
<i>Иерсиниозы</i> (овцы, козы, крупный рогатый скот, свиньи, куры, утки)	– пищевой при употреблении продуктов животного происхождения;
<i>Эризипеллоид</i> (свиньи, ягнята, утки, индейки)	– контактный при обработке мяса животных и птиц;
<i>Ку-лихорадка (риккетсиозы)</i> (крупный рогатый скот, свиньи, козы, овцы, птицы)	– пищевой через молоко и молочные продукты, реже – через мясные продукты; при укусах людей инфицированными клещами, паразитирующими на больных животных;
<i>Пастереллез</i> (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, кролики, кошки, собаки)	– контактный и пищевой при употреблении продуктов животного происхождения;
<i>Туляриемия</i> (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, кролики, птицы, собаки)	– пищевой при употреблении контаминированных продуктов и воды, при укусах людей кровососущими насекомыми;
<i>Ящур</i> (крупный и мелкий рогатый скот)	– контактный, пищевой при употреблении сырого молока и необезвреженных мясных продуктов;

Туберкулез (от лат. *tuberculum* – бугорок) – это инфекционная, хронически протекающая болезнь домашних и диких животных, птиц и человека, характеризующаяся образованием во внутренних органах бессосудистых узелков (туберкулов), склонных к распаду²⁰⁷. Возбудитель – строгий аэроб (температурный оптимум соответствует 37-38 °С, может расти в диапазоне температур 30-42 °С. Оптимальное значение pH 7,0-7,2.) – относится к порядку *Actinomycetales*, семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. К разновидностям возбудителя относят: *Mycobacterium tuberculosis* – человеческий (вызывает 80-85% всех заболеваний); *M. bovis* – бычий (10-15% случаев заболеваний); *M. africanus* (вызывает до 90% всех случаев туберкулеза у жителей Южной Африки); *M. avium* – птичий, вызывает также заболевание у кроликов, белых мышей; *M. paratuberculosis* – патогенен для крупного рогатого скота, коз, овец, верблюдов, северных оленей. Таким образом, в патологии человека наибольшую роль играет возбудитель человеческого типа. Однако следует учитывать и возможность заражения возбудителями бычьего и птичьего типов. Относительно устойчивости, то возбудитель туберкулеза достаточно долгое время остается жизнеспособным вне организма человека и животных. В почве сохраняется до 2 лет, в воде – до 5-8 месяцев, в высушенной мокроте и пыли жилых помещений – до 10 месяцев.

Бруцеллез (лат. *brucellosis*) – это также хроническая инфекционная болезнь, передающаяся от больных животных человеку и характеризующаяся множественным поражением органов и систем организма человека²⁰⁸. У животных это заболевание протекает, как правило, в латентной форме и проявляется абортами. При убое бруцеллезных животных отмечаются изменения в половых органах, в частности, воспаление матки, яичников, иногда обнаруживаются абсцессы в печени и почках. У человека заболевание носит затяжной характер и проявляется в виде длительной лихорадки, озноба, потливости, воспалении суставов. Заражение происходит в результате прямого контакта с больными животными или алиментарным путем, особенно через молоко и молочные продукты, изготовленные из непастеризованного молока.

²⁰⁷ **Прим.:** термин «туберкулез» ввел французский врач *Рене Лаэннек* в 1801 г. Впервые возбудитель туберкулеза был выделен в 1882 г. немецким микробиологом *Робертом Кохом* (бактерия Коха).

²⁰⁸ **Прим.:** название возбудителя – *Brucella melitensis* – произошло от имени автора, впервые открывшего этот микроорганизм. Возбудитель впервые был выделен английским военным врачом *Д. Брюсом* на о. Мальта в 1886 г. из селезенки погибшего солдата.

Бруцеллы подразделяются на несколько видов: *B. melitensis* – вызывает заболевание овец и коз, очень патогенна для человека; *B. abortus bovis* – вызывает заболевание у крупного рогатого скота, патогенна для человека; *B. abortus suis* – возбудитель бруцеллеза у свиней; *B. canis* – собачья бруцелла. Все они довольно долго сохраняются в объектах внешней среды: в моче, фекалиях, сене выживают до 4-5 мес.; во влажной почве – 3 мес.; в шерсти овец – 3-4 мес.; в воде – 3 мес. Кроме того, бруцеллы долго остаются жизнеспособными и в пищевых продуктах: в сливочном масле – до 2-3 мес.; брынзе – до 1,5-2 мес.; в мороженом – до 7 лет; в мороженом мясе – до 2-3 мес. При низких положительных температурах хранения бруцеллы сохраняются до 4-5 мес., однако, они весьма чувствительны к нагреванию: при 70-75 °С погибает через 5-10 мин, при 60 °С – через 30 мин, кипячение убивает его моментально.

Листерриоз – инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением системы мононуклеарных фагоцитов и протекающая у человека как в хронической (бессимптомной) форме, так и в острой форме по типу сепсиса с поражением многих органов и систем. Специфика заболевания отличается разнообразием клинического течения болезни; так, выделяются следующие формы листериоза: *ангинозно-септическая, железистая, нервная (менингиты, энцефалиты), тифоподобная, листериоз беременных, листериоз новорожденных*. Несмотря на относительно длительный инкубационный период в 2-4 недели, заболевание начинается внезапно, с озноба, повышается температура тела, проявляются симптомы общей интоксикации, исчезает аппетит, иногда проявляется сыпь. При нервных формах возникают симптомы менингита, при железистых формах – отмечают увеличение и болезненность лимфатических узлов. Длительность лихорадки варьирует от 3 дней до 2 недель.

Из семи известных видов листерий только вид *Listeria monocytogenes* патогенен для человека, а *Listeria ivanovi* – для животных, однако, все они весьма устойчивы во внешней среде; так, они длительное время сохраняются в фекалиях, почве (до 7 лет), зерне, могут размножаться при низкой температуре (4-6 °С). Возбудитель быстро погибает при нагревании: при 60 °С – через 10 мин, при 75 °С – через 2 мин, при 80 °С – через 3-5 с, а также чувствителен к дезинфицирующим веществам (1 %-ный раствор формалина, 5%-ный раствор фенола), антибиотикам (пенициллин, стрептомицин, рифампицин, эритромицин, тетрациклин).

Лептоспироз – острая инфекционная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, симптомами общей интоксикации, поражением печени, почек, нервной системы, скелетной мускулатуры; в более тяжелых случаях наблюдается желтуха, геморрагический синдром и менингит²⁰⁹. Возбудитель лептоспироза относится к порядку *Spirochaetales*, роду *Leptospira*, открыт японскими исследователями Р. Инада и У. Идо в 1914 г. В 1918 г. Хидэе Ногучи назвал новые микроорганизмы лептоспирами (от греч. leptos – тонкий, нежный; spira – спираль, изгиб). Патогенные лептоспиры представлены двумя видами – *L. interrogans* и *L. biflexa*. Они достаточно устойчивы к воздействию и высоких, и низких температур: при кипячении погибают мгновенно, при нагревании до 56-60 °С – через 20-25 мин, длительное время сохраняют свою жизнеспособность и все биологические свойства при – 30-70 °С. В воде лептоспиры сохраняются в течение 1 месяца, во влажной почве – 280 дней. Сроки выживания лептоспир в пищевых продуктах значительно различаются в зависимости от рН, температуры хранения и степени контаминации микроорганизмами.

Кампилобактериоз (лат. campylobacteriosis) – острое инфекционное зоонозное заболевание, характеризуется синдромом общей интоксикации, поражением желудочно-кишечного тракта²¹⁰. У человека оно имеет инкубационный период 3-5 дней и характеризуется острым лихорадочным началом, повышением температуры, сильными болями в животе, тошнотой и проч. Кампилобактерии относятся к семейству *Campylobacteriaceae*, в состав которого входят три рода: *Campylobacter*, *Helicobacter* и *Artribacter*. Патогенными для человека являются только кампило- и хеликобактеры. Наибольшее значение в патологии человека имеют виды *Campylobacter jejuni*, *C. fetus* и *C. coli*. В 100% случаев кишечные формы заболевания вызывает лишь *C. Jejuni*, остальные виды могут давать и внекишечные формы (пневмонии, абсцессы, септимеции, эндокардиты, менингиты, внутриутробное поражение плода и проч.). Кампилобактеры продуцируют *два типа экзотоксинов* – термолабильный энтеротоксин и цитотоксин. Клеточная стенка содержит эндотоксин, действие которого аналогично токси-

²⁰⁹ **Прим.:** ранее это заболевание имело название иктерогеморрагическая лихорадка, болезнь Васильева – Вейля. В 1883 г. *Н. П. Васильев* выделил это заболевание из всех желтух, в 1886 г. детально описал 4 случая. *Адольф Вейль* описал заболевание в 1886 г., когда он сообщил об «остром инфекционном заболевании с увеличением селезенки, желтухой и нефритом». Впоследствии эта болезнь получила название болезни Васильева-Вейля.

²¹⁰ **Прим.:** в 1906 г. ветеринарный врач *Д. Бутцер* при исследовании заболевания крупного рогатого скота выделил изогнутую палочку, которую сначала приняли за бруцеллу, но впоследствии назвали кампилобактером (от греч. campylos – изогнутый).

ну сальмонелл и иерсиний. Патоген достаточно чувствителен к действию высоких температур. При комнатной температуре сохраняются в воде, навозе до трех недель. При низких температурах сохраняются достаточно долго (из замороженного мяса их выделяют через несколько месяцев).

Иерсиниоз относительно близкое по симптоматике к кампилобактериозу инфекционное заболевание (наиболее распространенный симптом – острый гастроэнтерит). Оно относится к семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Yersinia*, который объединяет 11 видов. Возбудитель кишечного иерсиниоза – *Yersinia enterocolitica*²¹¹; он обнаруживается на многих продуктах, включая сырое и обработанное мясо, морепродукты, молоко и молочные продукты, овощи. Возбудителей, как правило, относят к определенным био-серотипам, поэтому необходимо установить патогенность выделенных из продукта иерсиний перед тем, как продукт будет признан микробиологически опасным. Патогенность иерсиний обусловлена инвазивными свойствами и действием цитотоксинов. Относительно устойчивости, то иерсинии легко уничтожаются при нагревании до 70 °С в течение 1-2 мин. Одновременно с этим, их обнаруживали в мясе, подвергнутом тепловой обработке, морепродуктах и пастеризованных молочных продуктах, что указывает на их контаминацию уже после обработки. В воде при температуре 18-20 °С иерсинии сохраняются более 40 дней, а при температуре до 4 °С – до 250 дней, на свежих овощах и фруктах могут – до 2 месяцев. Пищевые продукты, контаминированные иерсиниями, после холодильного хранения могут представлять опасность.

Пастереллез или *геморрагическая септицимия* встречается людей, но довольно редко (до 1995 г. описано всего 95 случаев)²¹², чаще у животных. Возбудитель пастереллеза – *Pasteurella multocida* – мелкие, грамотрицательные, неспорообразующие, овоидные палочки размером (0,3-0,5) (1,0-1,5) мкм, неподвижные, являются аэробами или факультативными анаэробами. Пастереллы погибают при нагревании до температуры 70–80 °С через 5-10 мин, до 60 °С – через 20 мин, при кипячении – мгновенно, под действием солнечных лучей – через несколько минут. В трупах, воде и почве они сохраняются в течение 1-3 месяцев, иногда до года.

²¹¹ **Прим.:** *Yersinia enterocolitica* впервые был выделен в 1939 г. Д. Шлейфитайном из испражнений больных людей, однако детальное изучение этого микроорганизма началось в 70-х гг. XX в.

²¹² **Прим.:** возбудителя холеры кур открыл в 1879 г. Л. Пастер, поэтому родовое название этих бактерий – *Pasteurella*. Пастереллез у кроликов впервые описал в 1881 г. Гафке.

Эризипеллоид или *рожа свиней* – это септическая инфекционная болезнь, характеризующаяся появлением на коже животных красных пятен, которые при надавливании исчезают²¹³. Заболевание может протекать в трех формах: кожной, суставной и генерализованной; первая – наиболее распространенная и проявляется в виде резко очерченные пятна (эритемы) красно-лилового цвета. Воспаление быстро распространяется по поверхности кожи и сопровождается зудом, чувством жжения и болью. У больных может наблюдаться припухлость и болезненность суставов, увеличение региональных лимфатических узлов, небольшая лихорадка. Возбудитель – *Erysipelothrix insidiosa* – имеет три антигенных типа – *A*, *B* и *N*: серовар *A* обладает высокой вирулентностью и вызывает до 95% случаев заболевания у свиней, серовар *B* – высокими иммуногенными свойствами, поэтому он используется для производства вакцин. Возбудитель чрезвычайно устойчив во внешней среде, что объясняется наличием в клетке большого количества липидов. В воде рожистая палочка сохраняется до 3,5 месяцев; в навозе и почве с щелочной реакцией среды – до 7-9 месяцев. Однако, она достаточно чувствительна к нагреванию: при 50 °С погибает через 15 мин, при 70 °С – через 5 мин.; при высушивании возбудитель также погибает – через три недели. Для обезвреживания возбудителя в кусках мяса толщиной до 15 см необходимо проваривать их в течение 2,5 ч, однако, жарение и тушение мяса не гарантируют полного уничтожения рожистой палочки. В засоленной свинине возбудитель сохраняется до 6 месяцев, в копченых продуктах – до 3 месяцев.

Ку-лихорадка (*Q* – от сокр. англ. query – неопределенный, неясный) (также риккетсиоз, коксифеллез, австралийская болезнь) – это инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией, а также поражением легких. Его возбудителем является *Coxiella burnetii* – риккетсии Бернета (род *Coxiella*, семейство *Rickettsiaceae*)²¹⁴. Ку-лихорадка несколько форм: острая (до 2-3 недель), подострая (до 1 месяца) и хроническая (до 1 года); болезнь, при этом, начинается внезапно с озноба, быстрого повышения температуры до 39-40 °С и развития общетоксического синдрома. С первых дней заболевания отмечаются слабость, сильная головная боль, боли в мышцах. При тяжелом течении болезни появляются бессон-

²¹³ **Прим.:** возбудитель рожи свиней – *Erysipelothrix insidiosa* – был описан *Р. Кохом* в 1878 г., *Ф. Леффлером* – в 1881 г., *Л. Пастером* и *Л. Тюлье* – в 1882 г.

²¹⁴ **Прим.:** *Coxiella burnetii* впервые был выделен в 1937 г. *Э. Дерриком* в Австралии, а в 1939 г. риккетсионную природу возбудителя установил *Ф. Бернет*.

ница, головокружение, гиперемия лица, в легких обнаруживаются очаги пневмонии. Важно отметить, что риккетсии *Coxiella burnetii* довольно устойчивы во внешней среде и к воздействию различных физических и химических факторов. Так, например, они выдерживают УФ-облучение (в течение 5 мин), пастеризацию молока при 90 °С; при кипячении погибают в течение 5 мин. В водопроводной воде они остаются жизнеспособными до 160 дней; в сливочном масле – до 40 дней; в свежем мясе при 4 °С – до 30 дней; в молоке, твороге, кефире – 3-5 дней. Риккетсии устойчивы к воздействию различных дезинфектантов: они выживают при действии 1%-ного раствора фенола в течение 1 суток; 0,5%-ного раствора хлорамина – в течение 4 суток.

Туляриμία или *болезнь Френсиса* – острое инфекционное заболевание, возникающее в определенных природных очагах²¹⁵. В зависимости от путей проникновения возбудителя – *Francisella tularensis* – различают разные клинические формы туляремии: бубонно-легочную, глазную, кишечную, легочную, септическую с поражением лимфатических узлов. Симптомами заболевания являются высокая температура, резкая головная боль, нарушение сна, увеличение лимфатических узлов. Оно сопровождается развитием специфической аллергии, возникающей на 3-5 день заболевания и сохраняющейся после выздоровления в течение многих лет или пожизненно. В окружающей среде возбудитель довольно долго сохраняет жизнеспособность: в воде при температуре 1,0 °С – до 9 месяцев; при 4,0 °С – 4 месяца; при 20 °С – 1-2 месяца. Кроме того, он выживает при температуре – 30 °С, во льду сохраняется до 10 месяцев, в мороженом мясе – до 3 месяцев, в охлажденном молоке и сливках – до 10 дней. Однако, при высокой температуре возбудитель достаточно быстро погибает: при 60 °С – через 5-10 мин, при 100 °С – через 1-2 мин.

Ящур или *рыльно-копытная болезнь* – это острая инфекция, возбудителем которой является вирус, относящийся к риновирусам, семейству пикорнавирусов, роду афтовирусов. Он может размножаться также в мышечной, нервной тканях, лимфатических узлах, костном мозге; часто поражается сердечная мышца, что приводит к гибели животного. У человека болезнь характеризуется лихорадкой, общей интоксикацией, везикулярно-

²¹⁵ **Прим.:** возбудитель туляремии – *Francisella tularensis* – был выделен в 1911 г. Г. Мак-Коем и Ч. Чепиным от больных сусликов. Название микроорганизм получил по наименованию района Туляре в Калифорнии, где исследователи выделили возбудителя. В 1925 г. в Японии Х. О'Хара выделил тот же микроб, а позднее Е. Френсис установил их идентичность. По имени этого исследователя возбудитель получил родовое название – *Francisella* и один из синонимов туляремии – болезнь Френсиса.

эрозивным поражением слизистых оболочек полости рта, носа, кожи между пальцами и у ногтевого ложа. Вирус ящура обладает высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды. Он хорошо переносит высушивание и замораживание, устойчив к эфиру, хлороформу и другим жирорастворяющим веществам, а также к слабым растворам фенола, креолина и лизола. Возбудитель погибает при нагревании до 80 °С в течение 30 мин, при кипячении – через 3-5 мин. В непастеризованном молоке в холодильнике молоко вирус сохраняется до 15 дней, в масле – до 45, в солонине и копченостях – до 50, в замороженной туше – до 680 дней. Он также длительное время сохраняется в навозе – до 400 дней, сене – до 200, на пастбищах – до 180, на одежде – до 100 дней.

11.1.2. Антропонозы

Антропонозы (от др.-греч. ἄνθρωπος «человек» + греч. νόσος «болезнь») – это группа инфекционных заболеваний, возбудители которых являются истинными паразитами человека, адаптированными только к нему в своем эволюционном развитии. Источником инфекции является, таким образом, человек в состоянии болезни или бациллоносительства. Наиболее распространенными антропонозами, передающимися через пищевые продукты и воду, являются *холера, дизентерия, брюшной тиф и паратифы А и В, а также вирусный гепатит.*

Холера (от др.-греч. χολή «желчь» и ῥέω «теку») – это острое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением кишечника, интоксикацией, быстрой потерей организмом жидкости и электролитов с развитием различной степени обезвоживания вплоть до летального исхода²¹⁶. Ввиду тяжелого течения болезни и возможности быстрого эпидемиологического и пандемического распространения, холера, согласно Международным медико-санитарным правилам²¹⁷, относится к особо опасным инфекциям. Возбудитель – *Vibrio cholerae* – относится к семейству *Vibrionaceae*. В зависимости от чувствительности к специфическому фагу различают два биотипа возбудителей – классический холерный вибрион *Vibrio cholerae biovar cholerae* и вибрион Эль-Тор (*Vibrio cholerae biovar*

²¹⁶ **Прим.:** первым описал возбудителя холеры итальянский исследователь *Ф. Пачини* в 1854 г. Немецкий ученый *Р. Кох* в 1883 г. выделил возбудителя в чистом виде, описал его свойства и предложил среды для культивирования холерного вибриона. В 1906 г. немецкий врач *Ф. Готтлих* на карантинной станции Эль-Тор (Синайский полуостров) выделил второго возбудителя холеры – вибрион Эль-Тор.

²¹⁷ Международные медико-санитарные правила (2005) A58/55 // Консорциум Кодекс. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/901947562?section=status>

eltor). Каждый из них по О-антигену подразделяется на три серологических типа: Огава (АВ), Инаба (АС) и редко встречающийся Хикошима (АВС). Кроме холерных вибрионов, в окружающей среде (в кишечнике человека и животных, в воде открытых водоемов и колодцев) находится большое количество патогенных и непатогенных для человека вибрионов (холероподобные, парахолерные, водные), дифференцировать которые крайне сложно. Однако, устойчивость холерного вибриона во внешней среде относительно невелика; он чувствителен к высушиванию, УФ-облучению, дезинфицирующим препаратам, высокой температуре. Во влажной среде при 56 °С возбудитель погибает через 30 мин, при 60 °С – через 10 мин, при кипячении – мгновенно. Вибрион чувствителен к слабым растворам кислот, но устойчив к щелочам. На мясных и рыбных продуктах вибрион Эль-Тор выживает 2-5 сут, на поверхности плодов и овощей – до 8 сут. В открытых водоемах возбудитель сохраняется несколько месяцев, при прямом солнечном свете – до 8 ч.

Дизентерия (от др.-греч. – δυσεντερία; δυσ- (dus-, «плохой») + έντερα (éntera, «кишечник») – также острое кишечное заболевание, характеризующееся поражением желудочно-кишечного тракта, по преимуществу, толстой кишки, и протекающее с явлениями общей интоксикации²¹⁸. Болезнь вызывается одноклеточными паразитами (простейшими) или бактериями. Возбудителем амебной дизентерии являются патогенные варианты амебы *Entamoeba histolytica*, бактериальной дизентерии – относятся к роду *Enterobacteriaceae*, роду *Shigella*. В соответствии с антигенной структурой и биохимическими свойствами, более 50 известных вариантов шигелл разделены на четыре основные подгруппы (А, В, С, D) и 4 вида: *Shigella dysenteriae* (серогруппа А, включает 16 самостоятельных серологических вариантов – сероваров, в том числе хорошо известные бактерии Григорьева-Шига), *Shigella flexneri* (серогруппа В, включает 8 сероваров), *Shigella boydii* (серогруппа С, включает 18 сероваров) и *Shigella sonnei* (серогруппа D, включает лишь один серовар, но делится на три биохимических варианта).

Возбудители дизентерии могут сохраняться в почве, на пищевых продуктах, на различных предметах в течение 10-15 дней. При нагревании до 60 °С они погибают через 10 мин, а при кипячении – мгновенно. Следует

²¹⁸ **Прим.:** впервые возбудитель бактериальной дизентерии был выделен в 1888 г. французскими учеными А. Шантемесом и Ф. Видалем. Позднее (в 1891 г.) русский врач А.В. Григорьев выделил возбудителя в чистом виде, а в 1898 г. К. Шига доказал этиологическую значимость этих бактерий и обнаружил выделяемый ими экзотоксин. В честь К. Шига дизентерийные бактерии получили родовое название *Shigella*. Исследования С. Флекснера (1900 г.), К. Зонне (1915 г.), Дж. Бойда (1932 г.) позволили выделить новые виды шигелл.

отметить, что шигеллы Зонне способны размножаться и накапливаться в пищевых продуктах, особенно в молоке и молочных продуктах. В процессе гибели шигелл в контаминированных пищевых продуктах накапливается термостабильный ЛПС-комплекс (липополисахарид), способный вызывать тяжелые поражения кишечника при отрицательных результатах бактериологического исследования этих продуктов.

Брюшной тиф (лат. typhus от др.-греч. τῆφος – «дым, жар; гордыня») – острая циклически протекающая кишечная инфекция, которая характеризуется лихорадкой, головной болью, симптомами общей интоксикации с развитием тифозного статуса, что проявляется заторможенностью, нарушением сознания, бредом, галлюцинациями. Через 6-7 дней после заболевания циркулирующие в лимфоузлах бактерии погибают и при разрушении освобождают эндотоксин; на 8-10 день у больных появляется розеолезная сыпь с преимущественной локализацией на животе. Во время болезни отмечается значительное повышение температуры, расстройство сердечно-сосудистой деятельности, а также центральной нервной системы. Кроме того, увеличиваются печень, селезенка, поражается лимфатическая система тонкого кишечника. Возможны осложнения в виде его перфорации с последующим перитонитом и кровотечением. Возбудителем брюшного тифа является *Salmonella enterica* (род *Salmonella* включен в отдел *Gracilicutes*, семейство *Enterobacteriaceae*)²¹⁹. Во внешней среде сальмонеллы могут не только сохранять свою жизнеспособность, но и активно размножаться. Так, например, в воде они остаются жизнеспособными от 1 до 5 месяцев, на овощах и фруктах – до 10 дней, в колбасных изделиях – от 60 до 130 дней, в куриных яйцах – до 13 дней. При воздействии 3%-ного раствора хлорамина, 5%-ного раствора фенола, 95%-ного спирта их гибель наступает через несколько минут.

Паратифы (от др.-греч. παρά, около + тиф) – это группа кишечных инфекций, также вызываемых микроорганизмами рода амиранелла сальмонелла. Их возбудители *S. paratyphi A* и *S. paratyphi B* по морфологическим и культуральным свойствам сходны с *Salmonella typhi*. Паратиф «А», в отличие от брюшного тифа, протекает в среднетяжелой форме и в начальном периоде сходен с острыми респираторными заболеваниями. Сыпь, более обильная, чем при тифе, появляется приблизительно на 4-7

²¹⁹ Прим.: серовар *S. typhi* (семейство *Enterobacteriaceae*) был открыт К. Эбертом в 1880 г. Родовое название *Salmonella* дано этим бактериям в честь американского ученого Д. Сальмона, который в 1885 г. описал вид сальмонелл, в настоящее время известный как *Salmonella choleraesuis*.

день болезни. Для паратифа «В» характерны симптомы гастроэнтерита, возникающие с первых дней заболевания. Сыпь может иметь разнообразный характер и располагаться не только на теле, но и на конечностях.

11.2. Пищевые отравления: пищевые токсикоинфекции, пищевые интоксикации и микотоксикозы

Роль микроорганизмов в возникновении пищевых отравлений впервые была изучена в конце XIX – начале XX вв. В 1888 г. немецкий бактериолог *Август Гартнер* выделил из организма человека, умершего от пищевого отравления, и из мяса заболевшего и вынужденно забитого животного один и тот же микроорганизм, названный позднее палочкой Гартнера, отнесенный к роду сальмонелл. К **пищевым отравлениям**, как правило, относят заболевания, которые возникают после употребления пищевых продуктов, содержащих болезнетворные микроорганизмы или их токсины. В отличие от пищевых инфекций, пищевые отравления не передаются от больного человека к здоровому. Их характерными особенностями являются относительно короткий инкубационный период (от 2-4 ч до 48 ч с момента употребления пищи), боль в области живота, тошнота, рвота, диарея, резкая слабость, в тяжелых случаях – потеря сознания. В ряде случаев могут нарушаться водно-солевой баланс, функции сердечно-сосудистой и нервной систем. Само заболевание возникает в виде массовых вспышек, групповых или частных случаев. Контаминация пищевых продуктов микробами и их токсинами, как правило, происходит вследствие нарушения санитарно-гигиенических и технологических режимов производства, правил транспортировки, хранения и реализации.

Пищевые отравления микробной этиологии подразделяются на: *токсикоинфекции, токсикозы и микотоксикозы (см. рисунок 11.1)*.

Токсикоинфекции: род *Salmonella* (*S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. cholerasuis*, *Escherichia coli*), род *Proteus* (*Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. morganii*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*);

Токсикозы (интоксикации): *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*;

Микотоксикозы: *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. parasiticus*, *Penicillium patulum*, *P. expansum*, *P. citrinum*, *P. viridicatum*, *Fusarium sporotrichioides*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *Claviceps purpurea*.

Рисунок 11.1 – Возбудители пищевых отравлений

11.2.1. Пищевые токсикоинфекции и интоксикации (токсикозы)

Токсикоинфекции – это острые заболевания, которые возникают в результате употребления в пищу продуктов, в которых размножились условно-патогенные микроорганизмы. Попадающие с пищей в желудочно-кишечный тракт человека, они разрушаются и, тем самым, высвобождаются эндотоксины, которые и вызывают патологические изменения в стенке кишечника, оказывая токсическое действие на центральную нервную систему. К наиболее популярным токсикоинфекциям относятся бактерии родов *Salmonella*, *Enterococcus* (см. подробнее пп. 3.3.1), *Proteus* (см. подробнее пп. 3.3.2), а также *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* (см. подробнее пп. 3.3.3) и другие. **Сальмонеллезы** – наиболее частые среди пищевых отравлений; их возбудителями, как правило, являются *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. cholerasuis*. Резервуар и источник сальмонелл – больные животные (коровы, овцы, лошади, собаки, мыши, крысы и проч.), однако, нередко контаминированными оказываются гусиные и утиные яйца. На предприятиях пищевой промышленности особую опасность представляют сотрудники, больные сальмонеллезом или являющиеся бактерионосителями. Установлено, что хроническое носительство сальмонелл отмечается у 2-5% переболевших.

Сальмонеллы могут достаточно длительный период времени сохраняться в пищевых продуктах. Так, например, в сливочном масле они сохраняют свою жизнеспособность в течение 4 месяцев при комнатной температуре и в течение 9-10 месяцев в условиях холодильного хранения; в

замороженном меланже при температуре -20 °С сальмонеллы могут выживать до 13 месяцев. В мороженом мясе они обнаруживаются после 2-3 лет хранения, в соленом мясе – до 5-6 месяцев. Как мясных, так и в рыбных, молочных продуктах сальмонеллы хорошо размножаются, не изменяя при этом органолептические свойства продуктов. Интенсивность обсеменения значительно возрастает при измельчении продукта, например, при приготовлении фарша. При такой технологической операции нарушается гистологическая структура мышечной ткани, а вытекающий мясной сок способствует распространению сальмонелл по всей массе фарша и их, соответственно, быстрому размножению.

Особую опасность представляют студни, состав и технология которых также способствует контаминации сальмонеллами. Основной причиной вспышек могут стать и низкосортные колбасы (кровяные, ливерные), зельцы, мясные и печеночные паштеты, макароны «по-флотски» и проч. Молоко и молочные продукты (сыр, сметана, мороженое) находится на втором месте как фактор передачи возбудителя сальмонеллеза (10% случаев). В ряде случаев сальмонеллеза связаны с употреблением яиц, яичного меланжа и майонеза. До 3% отравлений приходится на рыбные продукты, тогда как единичные вспышки могут быть обусловлены употреблением салатов, винегретов, кондитерских изделий с кремом и проч.

Кишечная палочка впервые была выделена в 1885 г. немецким ученым Т. Эшерихом из фекалий человека и описана под названием *Bacterium coli commune* (от лат. colon – кишка и communis – общий). Позднее кишечная палочка получила родовое название по имени ее первооткрывателя. Типовым видом этого рода является *Escherichia coli*, чаще всего обнаруживающийся в мясных и молочных продуктах. Пищевые отравления он вызывает относительно редко, т.к. кишечная палочка обычно не накапливается в продукте в достаточном для этого количестве. Пищевые отравления возникают только в том случае, если содержание клеток *E. coli* в продукте достигнет 10^6 - 10^7 в 1 г или 1 см³ продукта. Кишечная палочка не обладает устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды и погибает при нагревании до 60 °С в течение 15 мин, при воздействии 1 %-ного раствора фенола – в течение 5-15 мин. В свою очередь, *Bacillus cereus*, наоборот, активно размножаются, особенно в измельченных продуктах (фарше, котлетах, паштетах). Это вид грамположительных, спорообразующих почвенных бактерий, однако, их часто обнаруживают в мясных консервах и

колбасных изделиях. Так, например, существуют данные, что от 9 до 86% вареных колбас содержали палочку цереус в количествах от 10^2 до 10^6 КОЕ/г. Безусловно, существуют технологические условия изготовления колбас, обеспечивающие подавление роста клеток и уничтожение спор *B. cereus*. Также установлено, что высокая обсемененность пищевых продуктов палочкой цереус (до 10^3 – 10^4 КОЕ/г) может быть обусловлена высоким содержанием этих бактерий в различных добавках: муке, крахмале, специях, стабилизаторах.

Clostridium perfringens – это вид грамположительных, строго анаэробных (за исключением *C. perfringens* типа А) спорообразующих бактерий рода клостридий. Палочка выделяет различные токсины (экзотоксин, содержащий различные токсические вещества: миотоксин, гемолизин, нейротоксин), которые могут накапливаться в продукте, причем как после тепловой обработки, так и в процессе хранения при температуре 18-22 °С. Этот вид обладает высокой термоустойчивостью: вегетативные клетки погибают при температуре 80 °С через 30 мин, а споры выдерживают кипячение в течение 1-2 ч. Для производства колбас рекомендуется использовать мясо с уровнем обсемененности *Cl. perfringens* не более 10^2 клеток в 1 г. и согласно действующей нормативно-технической документации, которой введен нормативный показатель по содержанию сульфитредуцирующих бактерий в колбасных изделиях.

Интоксикации или *токсикозы* – это пищевые отравления, вызываемые употреблением продуктов, в которых накопились экзотоксины – продукты жизнедеятельности определенных микроорганизмов. Особой способностью продуцировать экзотоксины обладают стафилококки (см. подробнее пп. 3.3.5) и возбудитель ботулизма *Clostridium botulinus*. **Ботулизм** – это тяжелое пищевое отравление, достаточно часто заканчивающееся летальным исходом (40-60%)²²⁰. Пищевым источником, как правило становятся колбасные изделия (чаще в западноевропейских странах) и красная рыба (чаще в России). Сама болезнь начинается остро, появляется тошнота, рвота, приступообразные боли в животе, иногда диарея, далее

²²⁰ **Прим.:** документально заболевание ботулизмом было зафиксировано в 1793 г., когда в Вюртемберге заболели 13 человек, употребивших в пищу кровяную колбасу, из которых 6 умерли. Позднее, в 1817–1822 гг., немецкий врач Ю. Керн сделал клинико-эпидемиологическое описание заболевания. Отравление возникло после употребления в пищу колбасы, поэтому отравление «колбасным» ядом исследователь назвал ботулизмом (от лат. botulus – колбаса). В России эта болезнь была неоднократно описана в XIX веке в связи с употреблением соленой и копченой рыбы, на основании чего получила название «ихтизм». В 1894 г. в Бельгии 34 музыканта отравились ветчиной домашнего приготовления, из которой бактериолог Э. Ван-Эрменгем выделил возбудителя ботулизма.

развивается метеоризм, т.е. парез желудочно-кишечного тракта. Также для ботулизма свойственны такие симптомы, как расстройство зрения (затуманенность, двоение, расширенные зрачки), затрудненное глотание, расстройство речи, мышечная слабость, параличи поперечнополосатой и гладкой мускулатуры.

Возбудитель ботулизма содержит общий О-соматический антиген и Н-антигены, по которым их подразделяют на шесть типов: А, В, С, D, Е, F; наибольшее значение в патологии имеют типы А, В, F. *Clostridium botulinum* продуцирует два основных типа токсинов – нейротоксин и гемолизин; первый считается одним из самых сильных из всех известных в мире биологических ядов. Смертельная доза для человека 0,3 мкг. Споры возбудителя чрезвычайно устойчивы к высоким температурам (нагревание до 100 °С они выдерживают в течение 3-5 ч). Токсин ботулизма (простой белок) также термоустойчив и разрушается в пищевом продукте при нагревании до 80 °С в течение получаса, а при 100 °С – в течение 15 мин.

Clostridium botulinum достаточно широко распространен в природе и часто обнаруживается в почве, навозе, на корнеплодах, в кишечнике теплокровных животных и рыб, в иле водоемов. Продукты, его содержащие, могут иметь запах прогорклого масла, «щиплющий вкус», рыхлую консистенцию и проч., однако, эти признаки не постоянны, поэтому пищевые продукты, содержащие даже большую концентрацию экзотоксина, по своим органолептическим показателям могут не отличаться от доброкачественных. В контаминированных продуктах, он иногда располагается гнездно, поэтому не у всех потреблявших их людей могут проявиться симптомы интоксикации. Наиболее часто *Clostridium botulinum* обнаруживается в баночных мясных, овощных, рыбных консервах, сырокопченых и соленых окороках, соленой рыбке, консервированных грибах, мясе кур и уток. Наиболее опасными считаются консервированные домашние продукты, т.к. в домашних условиях сложно добиться полного уничтожения спор возбудителя. В большей степени это касается грибов, что связано с трудностью их отмывания от частиц земли со спорами.

11.2.2. Микотоксикозы

Микотоксикозы (от др.-греч. μύκης – «гриб» и греч. τοξικός – «ядовитый») – это пищевые отравления, вызываемые попаданием в организм микотоксинов, которые образуются в процессе жизнедеятельности некото-

рых мицелиальных грибов. В настоящее время известно более 300 микотоксинов, продуцируемых представителями 350 видов мицелиальных грибов, однако, практическое значение как контаминанты пищевых продуктов имеет всего 20. Наиболее опасными среди них являются афлатоксины В₁, В₂, G₁, G₂, М₁, продуцируемые грибом вида *Aspergillus flavus*. В таблице 11.2 представлены наиболее хорошо изученные микотоксины, их продуценты и предельно-допустимые концентрации. Микотоксины, как правило, обнаруживаются в растительных продуктах, в т.ч. животных корм, а следовательно, и в мясе, молоке, молочных продуктах и яйцах.

Таблица 11.2 – Наиболее важные микотоксины, продуцируемые мицелиальными грибами

Микотоксины и их продуценты	Основной эффект воздействия, ПДК (мг/кг)
Афлатоксины В ₁ , В ₂ , G ₁ , G ₂ , М ₁ (<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>)	– некроз печени, жировая инфильтрация печени, иммуносупрессия (ПДК составляет 0,005 мг/кг);
Охратоксин А (<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>)	– нефротоксичное, тератогенное, иммунодепрессивное (ПДК составляет 0,005 мг/кг);
Токсин Т-2 дезоксиниваленон (ДОН) (<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fusarium solani</i>)	– тератогенное, иммунодепрессивное, цито- и дермато-токсическое (ПДК составляет 0,1;0,5 мг/кг);
Патулин (<i>Penicillium patulum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus terreus</i>)	– гепато-, нейро- и нефротоксичное, канцерогенное, отек легких (ПДК составляет 0,005 мг/кг);
Зеараленон (<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium roseum</i>)	– тератогенное, иммунодепрессивное (ПДК составляет 1,0 мг/кг);
Фумонизин (<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Fusarium proliferatum</i>)	– канцерогенное, гепато-токсичное (ПДК составляет 2,0 мг/кг);

Афлатоксины относятся к группе наиболее опасных из существующих токсинов²²¹. В природе их встречается довольно много, включая представителей В₁, В₂, G₁, G₂, М₁, М₂. При остром афлатоксикозе, в первую очередь, поражается печень, далее нарушаются функция нервной системы,

²²¹ **Прим.:** первое исследование микотоксинов было проведено в 1961 г. для выяснения причины массового падежа 100 тыс. индюшек в Великобритании. Причиной этой болезни явился токсин плесневых грибов *Aspergillus flavus*, попавший в корм с заплесневелой мукой из арахиса. Выделенный токсин был назван афлатоксином.

сопровождающиеся судорогами, параличом и атаксией. В хронической форме афлатоксикоз характеризуется повреждением печени, причем отмечается образование аденокарцином, как в печени, так и в желудке, иногда с метастазами в легких и почках, а также фибросарком. Подобное токсическое действие афлатоксинов обусловлено их взаимодействием с ДНК, РНК и белками.

Охратоксины – это органические соединения, производные кумарина, продуцируемые некоторыми видами микроскопических плесневых грибов рода *Penicillium* и *Aspergillus*. Так, обнаружение токсичности гриба *Aspergillus ochraceus* привело к выделению трех химически родственных токсических метаболитов – охратоксинов А, В и С. Охратоксин А является производным кумарина и продуцируется преимущественно грибом *A. ochraceus*, а также грибами рода *Penicillium*: *P. viridicatum*, *P. variable*, *P. cyclospium*. Охратоксины ингибируют синтез белка и нарушают обмен гликогена.

Трихотецены являются также широко распространенными микотоксинами, продуцируемыми грибами родов *Trichothecium*, *Stachibotris*, *Trichoderma*, *Fusarium* (*Fusarium sporotrichiella*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*). В группу трихотеценов входят более 80 разновидностей, подразделяемых на 4 типа: А, В, С и D. Представителем микотоксинов типа А является *токсин Т-2* (наиболее токсичен), типа В – *дезоксиниваленон (ДОН)*, типа С – *поридин*, типа D – *критоцин*. Трихотецены ингибируют синтез белков в эукариотической клетке и, таким образом, оказывают негативное воздействие на организм человека или животного, проявляемое в анемии, иммуносупрессии, кровотечении, рвоте, а также некрозах слизистых оболочек и дерматитов. Микотоксины действуют на кроветворные органы, центральную нервную систему, вызывают лейкопению и геморрагический синдром.

Патулин – второй по частоте встречаемости микотоксин, обладает высокими мутагенными и канцерогенными свойствами²²². Он продуцируется грибами *Penicillium patulum*, *Penicillium expansum* и чаще всего обнаруживается в плесневелых яблоках (до 17,5 мг/кг), облепихе, других фруктах, ягодах, также овощах (грушах, абрикосах, персиках, вишне, винограде, бананах, клубнике, голубике, бруснике, облепихе, айве, томатах и

²²² **Прим.:** патулин открыт в 1941 г. *Глистром* во время поиска новых антибиотиков. Однако он оказался слишком токсичным для всех подопытных животных при терапевтическом применении. В 1954 г. в Японии от потребления кормов, содержащих патулин, погибли 100 коров.

проч.). В достаточно высоких концентрациях патулин обнаруживается и в продуктах переработки фруктов и овощей, в частности, в соках, компотах, пюре и джемах. Патулин ингибирует синтез белка, ДНК, РНК и ферментов, содержащих в активной центре группу SH.

К группе **зеараленона** и его производных относятся 15 микотоксинов, основным продуцентом является гриб *Fusarium graminearum*. Как правило, он обнаруживается в кукурузе, иногда в пшенице, ячмене, овсе, сорго, а также масле и крахмале, полученном из кукурузного сырья, содержащего зеараленон. Употребление продуктов, им контаминированных, приводит к общему отравлению организма.

Наконец, к **фумонизинам** относится группа микотоксинов, продуцируемых плесневыми грибами *Fusarium moniliform* и *Fusarium proliferatum*, обладающих канцерогенным действием и вызывающих цирроз печени. Фумонизин препятствует синтезу жиров из группы сфинголипидов, что нарушает метаболизм жиров в организме.

Относительно содержания микотоксинов, то, например, афлатоксина В, дезоксиниваленона, зеараленона, токсина Т-2, патулина, фумонизина регламентируется в продовольственном сырье и пищевых продуктах растительного происхождения; афлатоксина М – в молоке и молочных продуктах. В пищевых продуктах предельная допустимая доза афлатоксина В составляет 0,005; патулина – 0,05; токсина Т-2 – 0,1; дезоксиниваленона – 0,5 и 1,0; зеараленона – 1,0; фумонизина – 0,2 мг/кг.

11.3. Обеспечение микробиологической безопасности пищевых продуктов на предприятиях: основные принципы системы ХААСП

Проблема контроля безопасности пищевых продуктов, как на стадиях технологического процесса, так и на стадии выпуска готовой продукции по-прежнему остается актуальной и практически значимой. Для ее решения в прошлом столетии была разработана **система анализа рисков – ХААСП** (англ. Hazard Analysis and Critical Control Point – HACCP)²²³. Ее авторство принадлежит экспертам американской компании Pillsbury (1960), где система применялась для контроля качества и безопасности продуктов питания для космонавтов для выявления и контроле критиче-

²²³ См. подробнее: *Леонов О.А., Шкаруба Н.Ж.* Метрологическое обеспечение контроля качества и безопасности при производстве варено-копченых колбас на предприятиях АПК // Известия ТСХА. 2018. №3. С. 95-110; *Новиков В.А., Иванова Т.И., Шапагатов С.Р., Цыплов Е.А.* Проблемы внедрения системы ХАССП на предприятиях пищевой промышленности // Форум молодых ученых. 2018. №10 (26). С. 908-911; *Пономарева Е.С.* Элементы системы ХАССП при производстве полукопченых колбас // Вестник науки. 2022. №2 (47). С. 247-254.

ских точек технологического процесса или параметров, влияющих на качество которой продукции. В 1985 г. Национальная академия наук США рекомендовала ХААСП для внедрения на пищевых предприятия для обеспечения безопасности пищевых продуктов. В нашей стране основные требования по ее интеграции были установлены государственным стандартом **ГОСТ Р 51705.1-2001** «Управление качеством пищевых продуктов на основе принципа ХАССП», разработанным в соответствии с директивами Совета Европейского Сообщества²²⁴.

Основная идея системы ХААСП заключается в том, что на всех стадиях производства, начиная с приемки сырья и заканчивая реализацией продукции, на каждой технологической линии и на каждой операции необходимо выявлять и управлять опасными факторами – микробиологическими, токсикологическими, механическими и проч., – которые могут угрожать безопасности продукции. Таким образом, ХААСП – это система, которая определяет такие факторы в критических точках контроля и является руководством для профилактики контроля пищевых продуктов, обеспечивающей их безопасность. *Структурно*, она объединяет: документацию, разработанную для конкретного юридического лица (приказы, журналы, инструкции, формы, бланки и проч.), подготовку предприятия и производственных помещений к соответствию требованиям государственных и международных стандартов, на основе которых внедряется система ХАССП на предприятии выполнение сотрудниками инструкций, процедур и прочих действий, утвержденных и закрепленных в документации ХАССП анализ рисков и выявление критических контрольных точек процессов. **Критические контрольные точки (ККТ)** – это те факторы, которые несут в себе недопустимые риски для безопасности конечного продукта. Ими могут быть этапы и стадии производственного процесса, а также процедуры осуществляемые во время него. Для выявления критических контрольных точек при разработке ХАССП используется **дерево принятия решений** (ДПР, блок-схема).

Система включает в себя **восемь основных принципов** (см. рисунок 11.2).

²²⁴ **Прим.:** систему ХАССП можно отнести к системе менеджмента безопасности пищевой продукции (СМБПП) начального уровня. ХАССП не является всеобъемлющей, не учитывает большое количество биологических, химических, физических угроз при производстве пищевой продукции, в отличии от СМБПП на основе стандарта ГОСТ Р ИСО 22000, ISO 22000, FSSC 22000 или BRC.

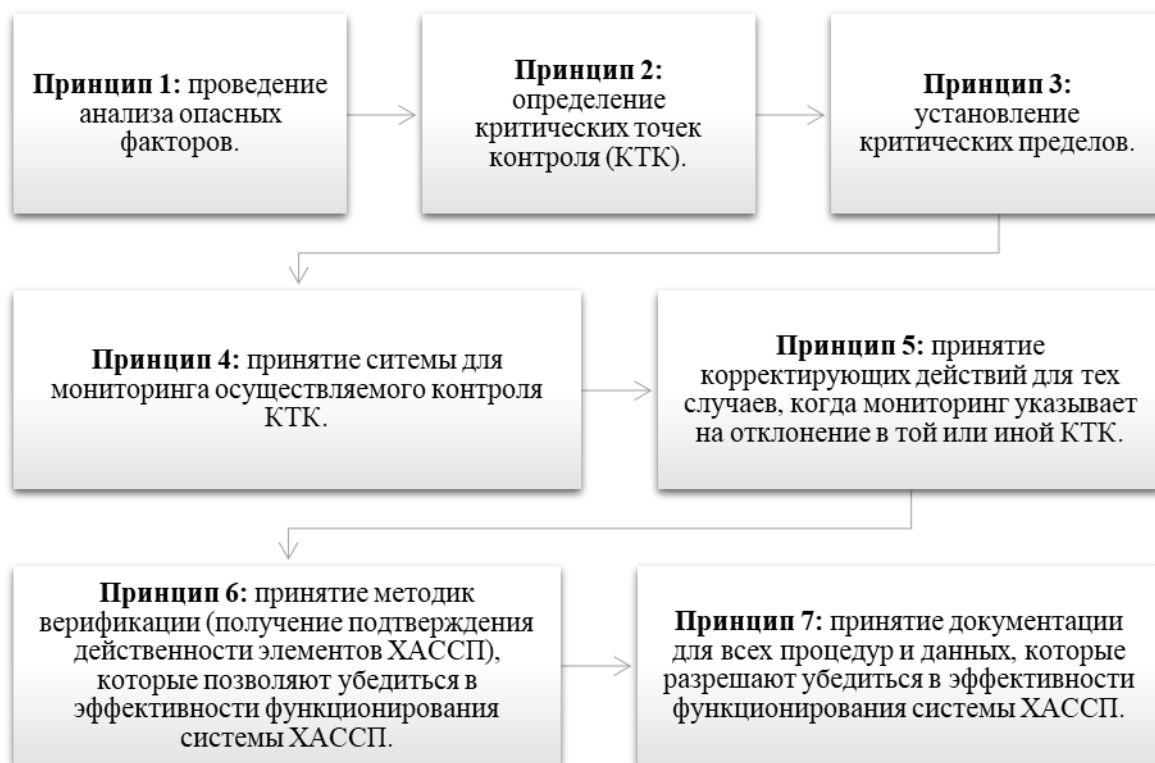


Рисунок 11.2 – Основные принципы системы ХААСП

Обращаем внимание уважаемого читателя на то, что внедрение и поддержание системы ХААСП на предприятии по производству пищевой продукции, а также в сфере общественного питания является *обязательной мерой*. Законодательство Российской Федерации предусматривает крупные штрафы за отсутствие системы менеджмента безопасности пищевой продукции на предприятии. Кроме прохождения проверок Роспотребнадзора, внедрение ХАССП на пищевом производстве снижает количество брака, повышает безопасность продуктов питания, дает возможность поставлять продукцию в торговые сети и на экспорт, повышает устойчивость производства к внешним шокам.

При **выборе микробиологических показателей** для оценки качества пищевых продуктов необходимо учитывать: *во-первых*, эпидемиологическую роль данного вида продукта при выявлении причин возникновения заболеваний у человека; *во-вторых*, технологический режим приготовления пищевого продукта, рекомендуемые режимы его хранения и способы подготовки к употреблению; *в-третьих*, эпидемиологическую восприимчивость к инфекции потребителя, для которого предназначается данный продукт. *Нормирование микробиологических показателей безопасности пище-*

вых продуктов осуществляется по альтернативному пути, т.е. нормируется масса продукта, в которой не допускаются бактерии группы кишечной палочки (для детских продуктов также отдельно *E. coli*), патогенные микроорганизмы, в частности, сальмонеллезы, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*.

Для внедрения системы ХААСП на производстве необходимо решение ряда задач. *Первая* – создать рабочую группу из специалистов, отвечающих за качество выпускаемой продукции. В нее могут быть включены: заместитель директора по качеству и производству (координатор); начальник производственно-контрольной лаборатории; специалист по производству, который контролирует технологический процесс заданного продукта; специалист по микробиологии, санитарии и гигиене; специалист по обслуживанию технологического оборудования; специалист по обслуживанию приборов (метролог). Если на предприятии нет таких специалистов, целесообразно привлекать внешних экспертов. *Вторая задача* – собрать действующую документацию, которая относится к выпускаемой продукции, включая государственные стандарты, санитарные нормы и правила, справочники, необходимые для выбора потенциально опасных факторов технологического процесса.

Третьей задачей является составление подробной характеристики продукта, которая должна включать: состав; физико-химические показатели, включая рН, активность воды (a_w), содержание сухих веществ и проч.; технологические операции, направленные на снижение микробной обсемененности (тепловая обработка, замораживание, засаливание, копчение, использование консервантов); упаковочный материал; сроки и температурный режим хранения; условия реализации. На *следующем этапе* рабочей группой ХААСП строится блок-схема – описание технологического процесса (всех его стадий)²²⁵.

Пятой задачей идет непосредственный анализ рисков и выбор учитываемых потенциально опасных факторов (принцип №1). На основании всей доступной информации и практического опыта членов рабочей группы, следуя фреймворку, оценивается вероятность реализации каждого конкретного фактора на основании четырех возможных вариантов: 1 – практически равна нулю, 2 – незначительная, 3 – значительная, 4 – высокая.

²²⁵ См. подробнее: Дерево принятия решений в ХАССП // Эксперт гарант. – URL: <https://garantx.ru/haccp/decision-tree/>

Также дается экспертная оценка тяжести последствий опасного фактора по следующим вариантам:

- 1 – легкое, наблюдается общее легкое недомогание (для взрослого человека потеря трудоспособности);
- 2 – средней тяжести (возможны диагностика заболевания и необходимость медикаментозного лечения в течение нескольких дней);
- 3 – тяжелое (здоровью может быть нанесен серьезный ущерб; взрослый человек теряет трудоспособность на длительный период времени и может получить легкую степень инвалидности);
- 4 – критическое (приводит к летальному исходу или получению инвалидности I группы);

Далее (*шестая задача*), согласно полученным результатам по каждому фактору определяется степень его учета для установки критических точек контроля при помощи диаграммы анализа рисков (см. рисунок 11.3). Линия на ней является границей, разделяющей области допустимого и недопустимого рисков. Если точка лежит на границе или выше ее, то фактор учитывается, если ниже – не учитывается. На пищевых предприятиях основными **микробиологическими факторами риска**, по которым необходим обязательный учет, являются: КМАФАнМ (см. подробнее пп. 2.3), бактерии группы кишечной палочки (БГКП), патогенные микроорганизмы (включая сальмонеллы), *Staphylococcus aureus*; *Listeria monocytogenes*, психротрофные микроорганизмы (*Pseudomonas*, микрококки, дрожжи, мицелиальные грибы).

Седьмой задачей является выбор и составление перечня критических контрольных точек (принцип №2). Еще раз повторим, что эти точки представляют собой идентифицированные места проявления опасных факторов, которые устанавливаются в зависимости от вида продукта, технологии его производства, используемого оборудования, типа упаковочного материала и проч. На данном этапе крайне важно тщательно обосновать выбор каждой контрольной точки, т.к. неучтенные позиции повышают риск выпуска потенциально опасного продукта, а излишние ККТ не несут заметного вклада в повышение качества продукта и повышают стоимость производственных затрат.



Рисунок 11.3 – Пример диаграммы анализа рисков

Источник: <https://garantx.ru/haccp/decision-tree/>

Восьмая задача – установление критических границ для любой критической контрольной точки (принцип №3). Для каждой из них устанавливаются и подтверждаются критические границы. Сюда входят температурные и временные параметры, содержание влаги, значения рН, активности воды, титруемой кислотности, установление органолептических параметров и проч. Для каждой ККТ составляется рабочий лист согласно требованиям, предъявляемым ГОСТ Р 51705.1-2001. На следующем этапе (*девятая задача*) осуществляется внедрение системы мониторинга для любой ККТ (принцип №4). Под мониторингом в данном случае понимается постоянное наблюдение за каким-либо процессом или параметром для выявления его соответствия желаемого результату; данный процесс должен давать своевременную и актуальную информацию для внесения коррективов в тех случаях, когда наблюдается превышение критических границ. По итогу мониторинга происходит принятие корректирующих действий (*десятая задача*) (принцип №5). В системе ХААСП в отношении любой критической контрольной точки необходимо особое внимание уделять вопросу исправлений, которые позволят устранить нарушения предельных значений контролируемых параметров. Данные действия должны быть направлены на восстановление параметров в КТК, а также на возможность

утилизации продукции, в которой возникли не подлежащие коррекции отклонения. Все изменения должны быть задокументированы, оформлены и учтены в системе ХААСП.

Согласно шестому принципу, следующим шагом является принятие методик верификации (*одинадцатая задача*). Отметим, что для определения правильности функционирования системы ХААСП целесообразно применять как методы верификации, так и соответствующие методики и испытания, включая выборочный отбор проб и анализ. Верификация должна проводиться с определенной периодичностью и подтверждать эффективность действия системы ХААСП.

Наконец, на последнем этапе принимается документация и вводится регистрация данных (*двенадцатая задача*) (принцип №7).

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение понятию «зооантропонозы».
2. Какие зооантропонозы Вы знаете?
3. Каков путь и условия заражения пастереллезом?
4. Дайте краткую характеристику листериозу.
5. Дайте определение понятию «антропонозы».
6. Перечислите известные Вам антропонозы.
7. Какие возбудители вызывают токсикозы?
8. Дайте определение понятию «интоксикации».
9. Какой эффект воздействия патулина на организм человека?
10. Дайте краткую характеристику ХААСП.

Глава 12. Санитарно-микробиологическое исследование молока и молочных продуктов

12.1. Общие сведения, химический состав, нормальная и а нормальная микрофлора молока

Молоко как пищевой продукт было известно человеку еще до нашей эры; промышленное производство, направленное на снабжение им широких слоев населения, было запущено в конце XIX в., в России – в 1893 г. предпринимателем Александром Васильевичем Чичкиным²²⁶, который построил первым молочный завод в Москве, а затем и в других городах. К 1990 г. производство молока в нашей стране составило 56 млн. тонн., что в среднем на 40% больше, чем в наше время (к примеру, в 2022 г. объем молочного производства составил 32,6 млн. тонн)²²⁷.

Молоко – это секрет, вырабатываемый железой самок млекопитающих животных. Продукт образовывается в вымени коров из питательных веществ кормов, которые расщепляются в преджелудках и кишечнике животного, при этом образуются предшественники молока. Из желудочно-кишечного тракта они попадают в кровеносные капилляры молочной железы и эпителиальные или секреторные клетки альвеол вымени. В этих клетках происходит синтезирование множества питательных веществ, необходимых для производства молочных продуктов (сметаны, кефира и проч.). Среди продуктов питания оно занимает ведущие позиции, т.к. по своей химической и биологической ценности превосходит многие другие продукты природного происхождения; в нем содержится более 200 различных питательных веществ, в т.ч. 20 аминокислот и 50 жирных кислот, усвояемость составляет 95-97%. Оно является незаменимым продуктом питания детей, а также молодняка животных. Еще античные философы из-за благотворного воздействия молока на организм человека называли его белой кровью, источником здоровья и соком жизни.

По своему **химическому составу** молоко коров состоит из 87,5% воды и 12,5% сухих веществ, в состав которых входит жир – 3,9%. Белки – 2,3%, углеводы – 4,7% и микровещества – 0,7%. *Вода* служит для растворения одних веществ, например, молочного сахара, и для взвешивания

²²⁶ См. подробнее: Александр Чичкин: как сын волжского лоцмана стал молочным королем. – 15.04.206 // Секрет фирмы. – URL: <https://secretmag.ru/trends/players/chichkin.htm>

²²⁷ Производство молока в России в 2022 году достигло 32,6 млн тонн. – 24.01.2023 // ТАСС. – URL: <https://tass.ru/ekonomika/16869899>

других, например, молочного жира. Однако, в условиях молочной промышленности, поскольку вода является балластом, все усилия направляются на ее удаление, а вместе с ней и многочисленной микрофлоры. По этому признаку воду, содержащуюся в молоке, подразделяют на свободную (97%), т.е. легко удаляющуюся, и связанную (3%) с белками, углеводами, которая не выделяется при обычном нагревании.

Молочный жир – самая важная часть молока, особенно для маслоделия. Он состоит из триглицеридов, насыщенных (стеариновая, пальмитиновая и проч.) и ненасыщенных (олеиновая, линолевая и проч.) жирных кислот, содержащихся в виде жировых шариков (в 1 мл молока их количество может достигать 3 млн). Также в молочном жире содержатся такие вещества, как холестерин и лецитин. В свою очередь, *белки* молока подразделяются на три основные фракции: казеин, лактоальбумин и глобулины. Первый придает молоку белый цвет и является основным сырьем для производства сыра и содержится в молоке в виде казеинофосфатного комплекса. Под действием сычужного фермента в сыром молоке казеин переходит в параказеин, на чем и основано производство сыра. Однако, его возможно приготовить только из ненагретого молока, т.к. при нагревании происходит разрушение казеинофосфатного комплекса и свертывания казеина не происходит. Из альбумина изготавливают альбуминовые сырки, а глобулины являются носителями иммунных тел.

Молочный сахар или лактоза находится в молоке в растворенном состоянии, достаточно быстро расщепляются под действием молочнокислых микроорганизмов, на чем и основано производство различных видов кисломолочных продуктов, вкус которых зависит помимо лактозы, также и от других видов углеводов, и с жирной однородной консистенцией продуктов (сметаны, кефира и проч.). Наконец *минеральные вещества*, которые содержатся в молоке – это все элементы, которые встречаются в земной коре, в частности, золота и платины (в ультрамикродозах). Из макроэлементов в нем находятся хлориды, фосфаты, кальций, из микроэлементов – железо, медь, цинк, йод, марганец и проч.

Помимо перечисленных веществ, в молоке также содержится много витаминов, ферментов, имеющих большое значение как для питания человека, так и для развития в молоке полезной микрофлоры. По своим органолептическим показателям, доброкачественное молоко, представляет собой однородную жидкость белого цвета (от присутствия казеина) с желтова-

тым оттенком (от каротина), со специфическим запахом, зависящим от карбонильных и прочих соединений, со слегка сладким вкусом.

В свежесвыдоенном молоке коров, содержащихся с соблюдением строгих санитарных условий, а также при соблюдении санитарных правил его добычи можно получить стерильное или асептическое молоко, не содержащее микроорганизмов, или довести микробную обсемененность с содержанием в 1 мл от 100 до 100 тыс./мл микробных клеток. В иных, не отвечающих санитарным требованиям, условиях при получении молока происходит его обсеменение не только **нормальной** (молочнокислые микробы, *Str. lactis* – основной), но и **анормальной**, т.е. вредной микрофлорой, содержание которой на 1 мл достигает от 100 тыс. до 20 млн и более (см. подробнее пп. 4.2.1). Их представителей в зависимости от роли микроорганизмов в формировании качества молочных продуктов, можно разделить на три группы: *технически важная микрофлора, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы и микроорганизмы – показатели санитарного состояния* (бактерии группы кишечной палочки)²²⁸. **Технически важная микрофлора**, в свою очередь, подразделяется на *полезную* (микрофлора заквасок: молочнокислых и пропионовокислых бактерий, бифидобактерий, дрожжей, уксуснокислых бактерий) и *технически вредную микрофлору* (микрофлору, вызывающую пороки молочных продуктов). Некоторые представители данной группы микрофлоры могут играть и положительную, и отрицательную роль в формировании качества молока и молочных продуктов.

Так, многочисленные бактерии участвуют в процессе сквашивания молока, однако, могут вызывать и прокисание продукта; дрожжи участвуют в созревании кефира и кумыса, ацидофильно-дрожжевого молока, однако их развитие в других продуктах, а также излишнее размножение в вышеперечисленных продуктах приводит к их вспучиванию; уксуснокислые бактерии входят в состав микрофлоры кефирного грибка и способствуют образованию типичного вкуса кефира, но при этом они могут вызывать пороки вкуса и консистенции творога. Другие представители технической важной микрофлоры играют только отрицательную роль в производстве молочных продуктов (например, микроскопические грибы, психрофильные и спорообразующие бактерии).

²²⁸ См. подробнее: Зарицкая В.В. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие. – Благовещенск: Изд-во Дальневосточного гос. аграрного ун-та, 2017. – 89 с.

Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, как уже знает уважаемый читатель, являются причиной пищевых заболеваний. *Патогенные микроорганизмы* – это, напомним, возбудители инфекционных заболеваний (бруцеллеза, туберкулеза, ящура и проч., см. подробнее пп. 11.1), которые в молоке и молочных продуктах не размножаются, однако, могут длительное время сохранять свою жизнеспособность. Из патогенов во всех кисломолочных продуктах нормируется наличие сальмонелл и шигелл. *Условно-патогенные микроорганизмы* – это возбудители пищевых отравления – токсикоинфекций и интоксикаций (см. подробнее пп. 11.2). Многие из них (например, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*) способны размножаться в молочных продуктах, влияя на их органолептические показатели и накапливая токсины. Во многих молочных продуктах для оценки их качества определяется наличие золотистого стафилококка (см. подробнее пп. 12.3).

Основными путями контаминации молока микроорганизмами являются *эндогенный* и *экзогенный*; в первом случае молоко обсеменяется микробами непосредственно в вымени животного, во втором – из внешних источников – кожи животного, подстилочных материалов, кормов, воздуха, воды, доильной аппаратуры и посуды, рук и одежды работников молочной фермы. Так, в молоке вымени всегда содержится определенное количество микроорганизмов. В железистой части они могут находиться непостоянно и в единичном количестве клеток. В выходных протоках и молочной цистерне количество бактерий может достигать уже нескольких десятков или сотен клеток в 1 см³. Это микроорганизмы – *комменсалы вымени*; к ним относятся энтерококки, микрококки, иногда маститные стрептококки и другие микробы.

Молоко вымени, получаемое стерильно не через сосковый канал, называется *асептическим*; оно содержит незначительное количество микроорганизмов – от нескольких десятков до нескольких сотен клеток на 1 см³. Здоровый сосковый канал защищает вымя от внешней среды благодаря его анатомическому строению. Более того, свободные жирные кислоты, синтезируемые его слизистой, оказывают бактерицидное действие, а фосфолипиды, содержащиеся в секрете соскового канала, убивают маститные стрептококки и другие микроорганизмы. При нарушении защитных функций, микробы, находящиеся в сосковом канале, могут попадать в вымя и размножаться. Активна их жизнедеятельность и в каплях молока,

оставшихся от предыдущей дойки у его входа; микроорганизмы образуют т.н. бактериальную пробку, в которой количество бактерий может достигать нескольких сотен тысяч в 1 см³ молока, поэтому перед дойкой первые струйки молока сдаивают в отдельную посуду.

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

Важнейшим источником экзогенной контаминации сырого молока является кожа животного, особенно *кожа вымени и сосков*, на которые надевают доильные стаканы. Молочная пленка, образующаяся в процессе доения между кожей сосков и доильными стаканами, наличие на коже грубых и мелких складок, а также относительно высокая температура создают благоприятные условия для развития микрофлоры (микрококков, энтерококков, кишечных палочек и других сапрофитов, патогенных и нежелательных для производства молока микробов). Одной из основных задач, таким образом, является минимизация концентрации микроорганизмов на коже вымени после обмывания и дезинфекции перед доением – не более 10³ на 1 см². Также существенным источником загрязнения кожного покрова животного, а следовательно и молока кишечными палочками, маслянокислыми бактериями, энтерококками, гнилостными спорообразующими дрожжами, плеснями, молочнокислыми бактериями являются *подстилочные материалы* из соломы и сена. Не рекомендуется использовать в качестве подстилки торфяную крошку.

Множество разнообразных микроорганизмов содержится в кормах; в свежескошенной траве больше всего молочнокислых бактерий, в грубых кормах – гнилостных спорообразующих аэробных бацилл. В них также содержатся пропионовокислые, уксуснокислые бактерии, актиномицеты, дрожжи и проч. Кормление коров прокисшим или смешанным с землей кормом, плохим силосом или кисло бардой в сочетании с имеющимися недостатками в гигиене содержания животных также ведет к загрязнению молока маслянокислыми и другими бактериями. Недоброкачественный корм может вызывать у коров понос; молоко, при этом, загрязняется бактериями через содержимое кишечника, в 0,1 г которого содержится от 10 до 100 тыс. бактерий. В нем также возможно наличие патогенных и нежелательных для молочнокислого производства микроорганизмов (например, сальмонелл – в сыром молоке.

Поскольку молоко в настоящее время получают и хранят, по преимуществу, в замкнутых пространствах, сырье быстро загрязняется в основном при ручном доении. Однако, и при смене молокопроводов всегда подсасывается *наружный воздух*, в котором среднее количество микроорганизмов составляет 300-1500 клеток в 1 м³. В течение дня их содержание, безусловно, значительно меняется, достигая максимума во время операций раздачи и приема кормов. Качественный состав микрофлоры воздуха представлен микрококками, сарцинами, клетками дрожжей и плеснями спор (**см. подробнее пп. 8.1**). Вода, используемая для мытья молочной посуды соответствует требованиям ГОСТ к питьевой воде и содержит незначительное количество микроорганизмов. В свою очередь, вода водоемов или загрязненная может содержать флюоресцирующие палочки, кокковую микрофлору, кишечные палочки, гнилостные бактерии и проч. (**см. подробнее пп. 9.1**).

Еще одним значимым источником микробиологической контаминации молока являются доильные установки и резервуары для хранения молока, в частности, психротрофными бактериями, преимущественно *Pseudomonadaceae*. Они размножаются в молочно-водяной среде на плохо вымытых и продезинфицированных установках, находясь в активной фазе размножения (у них отсутствует период адаптации – лагфаза). В плохо вымытой и непросушенной аппаратуре размножаются также молочнокислые бактерии, кишечные палочки, гнилостные микробы и проч. Безусловно, и руки, и одежда работников ферм также являются источниками контаминации молока возбудителями различных болезней (кишечными палочками, стафилококками, стрептококками и проч.).

12.2. Фазы изменения микрофлоры молока; микробиологическая порча молока

12.2.1. Общий ход молочнокислого процесса в молоке

В зависимости от формы клеток молочнокислые бактерии делятся на две основные группы – *молочнокислые стрептококки* и *молочнокислые палочки*. Эти микроорганизмы имеют также и неодинаковые физиологические признаки. По отношению к температуре они подразделяются на *мезофильные* и *термофильные молочнокислые бактерии*; по характеру сбраживания молочного сахара – на *гомоферментативные* (образуют практи-

чески одну молочную кислоту) и *гетероферментативные* (наряду с молочной кислотой также образуют значительное количество побочных продуктов). После внесения небольшого количества молочнокислых стрептококков, в молоке при оптимальной температуре их развития (30 °С) начинают размножаться бактерии. Если культура находится в состоянии полной активности (молодая), уже в самом начале процесса будет наблюдаться максимальная скорость ее размножения. Если же культура менее активная (старая), потребуется некоторое время, прежде чем бактерии начнут размножаться с такой скоростью.

Во время хранения молока изменяется количество содержащихся в нем микроорганизмов, равно как и соотношение между отдельными группами и видами бактерий. Характер таких изменений зависит от температуры и продолжительности хранения молока, а также от степени контаминации и состава микрофлоры. Размножающаяся и накапливающаяся в процессе хранения молока микрофлора называется *вторичной*; ее изменение происходит по определенным закономерностям, т.е. проходит через определенные фазы развития: *бактерицидную, смешанной микрофлоры, молочнокислых бактерий и фаза дрожжей и плесеней*.

12.2.2. Бактерицидная фаза

Время, в течение которого микроорганизмы не развиваются в свежесвыдоенном молоке и даже частично отмирают, называется **бактерицидной фазой**. Бактерицидные свойства молока обусловлены присутствием в нем лизоцимов, нормальных антител, лейкоцитов и проч. Так, *лизоцимы* или лактенины, представляют собой вещества белковой природы (ферменты), образующиеся в организме животного и обладающие бактерицидным и бактериостатическим действием по отношению к многим видам бактерий. Большинство таких веществ находится в слезной жидкости, слюне, спинномозговой жидкости, молоке и особенно в молозиве и околоплодной жидкости животного. В молоке коров находится четыре группы лизоцимов: лизоцим М (молока), лизоцим В (вымени), лизоцим О (основной) и лизоцим Т (термостабильный). Все они вырабатываются молочной железой или поступают в молоко из крови. При пастеризации все, за исключением термостабильного, лизоцимы инактивируются. Наибольшей бактерицидной активностью, при этом, обладает лизоцим М; он губительной действует на патогенных стафилококков, маститного стрептококка, сальмо-

нелл, кишечных палочек, возбудителя сибирской язвы и других, в особенности грамположительных микроорганизмов. Отсутствие этого лизоцима в свежесвыдоенном молоке будет говорить о заболевании молочной железы животного; такое молоко является биологически неполноценным, т.к. в нем беспрепятственно могут размножаться различные виды патогенных микроорганизмов. В молоке, которое содержит большое количество микроорганизмов, лизоцимы быстро расходуются и довольно скоро утрачивают свое бактерицидное действие.

В ответ на введение в макроорганизм микроорганизмов, их продуктов обмена или других чужеродных белковых веществ, образуются *антитела* – *гамма-глобулины*; они являются термолабильными, т.е. разрушаются при пастеризации. Наконец, *лейкоциты (фагоциты)* – клеточные элементы крови макроорганизма, способны активно поглощать и растворять живые и убитые микроорганизмы. Они всегда содержатся в небольшом количестве в молоке, выполняя защитную антибактериальную функцию. При воспалении молочной железы количество лейкоцитов в молоке многократно увеличивается, что является диагностическим признаком ранних форм маститов. При пастеризации они уничтожаются.

Таким образом, наличие бактерицидной фазы молока обусловлено присутствием биологически защитных факторов, созданных самой природой. Ее продолжительность, соответственно, имеет важное значение в сохранении хорошего качества молока. Преимущественно, это зависит от температуры его хранения, степени контаминации, состава микрофлоры и индивидуальных особенностей дойных животных. Наиболее важным моментом является температура хранения; чем она выше, тем короче бактерицидная фаза. Зависимость ее продолжительности от степени обсеменения молока также обратная: чем больше микроорганизмов в молоке, тем менее продолжительна данная фаза. С увеличением концентрации бактерий в молоке на несколько тысяч при одной температуре хранения ее продолжительность сокращается вдвое. Из всего этого следует, что увеличение продолжительности бактерицидной фазы возможно двумя путями: *получением бактериально чистого молока и немедленным его охлаждением до низких плюсовых температур.*

12.2.3. Фаза смешанной микрофлоры

По окончании бактерицидной фазы начинается ничем не задерживаемое размножение всех групп микроорганизмов, находящихся в молоке и способных в нем размножаться при таких условиях. **Фаза смешанной микрофлоры** является периодом наиболее быстрого ее размножения, длительность которого составляет от 12 часов до 1-2 суток. Кратное увеличение темпа объясняется тем, что в молоке еще не накопились продукты жизнедеятельности микроорганизмов, задерживающие их дальнейшее развитие. Так, например, только к концу фазы смешанной микрофлоры продукты обмена в виде повышения кислотности будут задерживать развитие многих групп микроорганизмов, чем, фактически, и определяется разница между ней и последующими фазами.

Качественный состав микрофлоры в рассматриваемой фазе определяется составом первичной микрофлоры молока, скоростью размножения различных видов микроорганизмов, а также температурными условиями его хранения. Так, в зависимости от температуры в молоке может развиваться микрофлора следующих видов: *криофлора* (флора низких температур), *мезофлора* (флора средних температур) и *термофлора* (флора высоких температур). Кривофлора развивается при хранении молока в охлажденном состоянии при 0 – 10°C; в таких условиях микроорганизмы размножаются медленно. Если такая температура поддерживается, микрофлора не выходит за пределы фазы, которая может продолжаться достаточно долго, не давая резких видимых изменений молока.

Однако, количество микрофлоры в молоке априори растет и постепенно накапливаются продукты ее жизнедеятельности. Даже при нулевой или околонулевой температуре в течение двух недель количество бактерий может увеличиваться в несколько десятков тысяч раз и составлять сотни миллионов клеток на 1 см³. Активное развитие же микрофлоры происходит при 10 – 35°C, т.е. при хранении молока без охлаждения, с характерно быстрым размножением микробов и неуклонным нарастанием молочно-кислой флоры, которая в итоге получает решительный перевес над прочими микроорганизмами, чем и обуславливается переход к следующей стадии – фазе молочных бактерий. Одновременно с этим, в составе микрофлоры, особенно на начальной стадии изучаемой фазы, развиваются бактерии группы кишечных палочек, флюоресцирующие и другие гнилостные бактерии, ухудшающие качество молока. В связи с этим, необходимо

стремиться к тому, что молоко вообще не находилось в фазе смешанной микрофлоры. В неконтролируемых условиях она может продолжаться от суток до двух (в редких случаях).

Термофлора развивается при 40 – 45°C; подобные условия наблюдаются в сыроделии и производстве твердых сыров с высокой температурой второго нагревания. Во время же хранения молока при искусственно созданных высоких температурах (в термостате) развитие микрофлоры идет в сторону обогащения молочнокислыми термофильными палочками и стрептококками.

12.2.4. Фаза молочнокислых бактерий

Фаза молочнокислых бактерий начинается с момента заметного нарастания кислотности и преобладания таких бактерий в молоке (кислотность около 60 °Т и свыше 50% молочнокислых стрептококков от общего количества бактерий). В дальнейшем с накоплением молочной кислоты бактерии замедляют темп своего размножения, тогда как остальные группы микроорганизмов постепенно отмирают. Наиболее чувствительными являются флюоресцирующие бактерии; за ними погибают гнилостные микробы, далее – микрококки, а также бактерии группы кишечной палочки, которые дольше всех выдерживают нарастание кислотности среди немолочнокислых бактерий. Важно заметить, что молочная кислота не является губительным фактором для спор дрожжей и плесеней, находящихся в молоке. Из этого следует, что в течение молочнокислой фазы происходит как бы самоочищение молока практически от всех групп микроорганизмов, кроме молочнокислых бактерий, количество которых к концу фазы приближается в 100% всей микрофлоры.

Количество этих бактерий в первичной микрофлоре оказывает определенное воздействие на скорость вытеснения остальных микроорганизмов, однако, на конечный результат практически не влияет. Изначально в фазе молочнокислых бактерий преобладают молочнокислые стрептококки, максимальное количество которых (до 2 млрд. в 1 см³) накапливается через одни – двое суток. Одновременно с этим, предельная кислотность может достигать 120 °Т и наблюдаться массовое отмирание стрептококков. Молочнокислые палочки как более кислотоустойчивые, в свою очередь, продолжают размножаться и уже на четвертые сутки их количество будет превышать количество стрептококков, на седьмые – увеличение достигнет

100%. В дальнейшем, после возрастания кислотности до 250-300 °Т происходит отмирание и молочнокислых палочек.

Продолжительность фазы молочнокислых бактерий достаточно велика; она может длиться месяцами без каких-либо заметных изменений в микрофлоре. Подобное объясняется наличием молочной кислоты, которая подавляет развитие микроорганизмов, включая дрожжи и плесени. Молочнокислую фазу можно также назвать фазой консервирования молока, путь оно и не является абсолютным, т.к. по истечению некоторого времени возникают новые микробиологические процессы. В целом, она охватывает то состояние молока, в котором оно перестает быть собственно молоком, а является уже кисломолочным продуктом.

12.2.5. Фаза дрожжей и плесеней

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

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

Плесени, развиваясь во время продолжения молочнокислой фазы, разлагаются на белки и подщелачивают субстрат, что на время активизирует развитие отмирающих молочнокислых бактерий.

12.2.6. Признаки микробной порчи молока

Основными признаками микробной порчи молока является изменение его консистенции, вкуса, запаха, цвета или смешанный вид порчи (см. также пп. 6.1.1). В первом случае будут наблюдаться: *во-первых*, преждевременное свертывание при нагревании молока нормальной или незначительно повышенной кислотности. В первом случае оно будет свертываться из-за развития гнилостных бактерий, а во втором – из-за развития микрококков. Все эти бактерии образуют фермент сычужного типа, который и обуславливает свертывание молока. *Во-вторых*, ослизнения, или тягучесть: молоко становится тягучим, однако, сгусток не образуется. Такой вид порчи возникает без нарастания кислотности молока, а вызывает его палочка *Bact. lactis viscosum*, или палочка тягучего молока. Молочнокислые стрептококки *Sir. cremoris* и палочки *Lact. Acidophilum* обладают способностью образовывать слизь.

Изменение вкуса может проявляться в:

- *горьком вкусе*, которые может возникнуть в уже пастеризованном молоке при длительном хранении в результате развития гнилостных спорообразующих бактерий, споры которых не погибают при нагревании, а также микрококков и других бактерий, образующих протеолитические экзоферменты, которые разлагают белки с образованием пептонов и горьких пептидов;
- *прогорклом вкусе*, что является результатом образования и накопления в молоке масляной кислоты, альдегидов и кетонов (возбудителями являются, как уже было отмечено выше, флюоресцирующие бактерии, образующие фермент липазу, которая гидролизует молочный жир;
- *мыльный щелочной вкус*, который появляется при образовании щелочных продуктов белкового распада и омыления молочного жира (возбудителями являются *Bact. lactis saponacei* и *Bact. sapolacticum*, образующие экзопротеазы²²⁹).

²²⁹ Экзонептидазы (экзопроteinазы) – это ферменты, гидролизующие белки, отщепляя аминокислоты от конца пептида: карбоксипептидазы – от С-конца, аминопептидазы – от N-конца, дипептидазы расщепляют дипептиды.

Изменение запаха вызывают бактерии группы кишечной палочки и *Pseudomonas fluorescens*, разлагающие азотистые вещества и образующие летучие продукты с разнообразными запахами: навозным, травяным, репным, сырным, тухлым. Относительно изменения цвета, то: красный, проявляющийся на поверхности молока в виде пятен, является результатом развития аэробных пигментообразующих бактерий *Bact. prodigiosum*; синий – в результате развития аэробной палочки *Pseudomonas pyocyanea*, образующей синий и зеленый пигменты; желтый вызывается бактериями *Bact. Sinxantum* только при длительном хранении молока в условиях, затрудняющих развитие молочнокислого процесса.

Смешанный вид порчи (бродящее молоко) характеризуется выделением газов, образованием пены, появлением различных запахов (дрожжевого, спиртового, навозного, масляной кислоты). Возбудителями являются также бактерии группы кишечной палочки, образующие CO_2 и H_2 в результате брожения лактозы и H_2S (индол) при разложении белковых веществ, и дрожжи, которые выделяют CO_2 и этиловый спирт. В пастеризованном молоке этот вид порчи вызывают маслянокислые бактерии, которые при брожении лактозы образуют масляную кислоту, CO_2 и H_2 .

12.3. Способы сохранения и консервирования молока

Молоко, поступающее на молочные заводы, как правило, содержит значительное количество микроорганизмов, особенно в жаркое время года. Бактериальное загрязнение может быть снижено, если на всем пути молока от коровы до потребителя будут соблюдаться санитарные гигиенические нормы и оно будет своевременно охлаждаться. Особенно эффективно действует глубокое охлаждение непосредственно после удоя, т.к. этим удлиняется бактерицидная фаза, поэтому хранить молоко на ферме оптимально при температуре не выше $4\text{ }^\circ\text{C}$. *Замораживание* – ограниченная мера сохранения молока, которая предпринимается в определенных географических зонах. Холод, при этом, не вызывает гибель микроорганизмов, а переводит их в анабиотическое состояние, поэтому при оттаивании молока их жизнедеятельность начинается вновь. Таким образом, с помощью холода можно сохранить только бактериально чистое молоко. В свою очередь, *кипячение* также не является оптимальным решением для молочной промышленности, несмотря на высокий стерилизующий эффект, т.к. в процессе будут разрушаться витамины, денатурироваться белки, кальций ося-

дет на стенки посуды, а гомогенность жировой эмульсии полностью нарушится. По этой причине вместо кипячения применяется пастеризация, после которой сохраняется биологическая ценность продукта (**см. подробнее пп. 6.2**).

Пастеризация – это процесс уничтожения вегетативных форм микроорганизмов (кроме термофильных) в жидких средах, пищевых продуктах путем однократного и непродолжительного их нагрева до температур ниже 100 °С. В настоящее время используются *три основных режима пастеризации молока* от здоровых животных: длительная (при температуре + 65°С в течение 30-40 минут), кратковременная (при температуре + 75-85 °С в течение 15-60 секунд) и моментальная (при температуре 90-98 °С без выдержки). При нагревании молока на несколько секунд до температуры выше 100 °С принято говорить об *ультрапастеризации*. При правильно проведенной пастеризации погибает до 99% бактерий, содержащихся в молоке, в т.ч. бесспорные патогены (возбудители туберкулеза и бруцеллеза, сальмонеллеза, гноеродные кокки), кишечная палочка и молочнокислые бактерии. В последствии молоко охлаждается до 4 °С для предотвращения прорастания спор и размножения сохранившейся в продукте термофильной микрофлоры. Таким образом, хранение даже пастеризованного молока при комнатной температуре дает возможность беспрепятственного размножения гнилостных и патогенных бактерий, если они в нем остались, т.к. бактерицидные свойства в пастеризованном молоке под действием высоких температур инактивируются. Такое молоко не скисает, но может подвергнуться пептонизации, т.е. гнилостному разложению и стать ядовитым при хранении в холодильнике.

Стерилизация молока, в свою очередь, предусматривает полное уничтожение вегетативных и споровых форм бактерий, что позволяет хранить продукт в течение длительного времени. Для этого, как правило, используется ультравысокотемпературная обработка (УВТ), проще говоря *ультрапастеризация*, в трубчатых аппаратах в условиях закрытого автоматизированного процесса, смысл которого заключается во введении химически чистого пара непосредственно в молоко и нагревании его до +135-150 °С в течение 1-2 секунд. Таким образом устраняются окислительные процессы, приводящие к разрушению витамина С, уничтожаются летучие вещества кормового и стойлового происхождения. При изготовлении такого молока используется высококачественное сырье, т.к. молоко I и II сор-

тов (по ГОСТ Р 52054-2003) просто свернется. Специально для ультрапастеризованного молока была разработана асептическая разновидность тонкой упаковки с полиэтиленовым покрытием (81-84 С/РАР), в которой молоко сохраняется при комнатной температуре.

При **консервировании молока** (сгущении, высушивании, добавлении осмотически деятельных веществ) происходит уничтожение микроорганизмов, вызывающих порчу продуктов, или же создаются неблагоприятные условия для их жизнедеятельности. Так, для приготовления сгущенного молока в банках его стерилизуют при температуре +115-118 °С в течение 15 минут. При такой температуре погибают вегетативные микробы, однако, часто спорообразующих все же остается; сохранившиеся споры в благоприятных условиях могут прорасти и начать разлагать продукт с образованием газов, которые вызывают бомбаж консервных банок (**см. подробнее пп. 16.3**). Для проверки качества стерилизации банки выдерживают в течение 10 суток при температуре 37°С.

При производстве *сгущенного молока с сахаром* сырье сперва подвергают очистке и приводят содержание жира и сухих веществ к уровню, соответствующему требованиям ГОСТ; далее молоко доводят до момента закипания и выдерживают в таком состоянии 20 минут, в течение которых практически все микроорганизмы погибают, за исключением термофильных. Пастеризованное молоко сгущают до 1/3 первоначального объема, при этом в нем должно сохраниться не более 25,5% влаги, после чего в него добавляют 43,5% сахара. При таком соотношении создается высокое осмотическое давление – неблагоприятное условие для развития эшерихий, молочнокислых бактерий, дрожжей и большинства плесневых грибов. При наличии шоколадно-коричневой плесени и цветных микрококков, обладающих протеолитическими свойствами, происходит порча продукта; в этом случае срок хранения сокращается. Соблюдение технологии и санитарных условий в процессе производства позволит обеспечить сохранность сгущенного молока до двух лет.

12.4. Микробиология молочных продуктов

Закваска – основная и наиболее важная часть первичной микрофлоры кисломолочных продуктов; с ее внесением молоко обогащается микроорганизмами в 10-100 раз, поэтому микробиология заквасок является одним из важнейших разделов микробиологии таких продуктов. От качества за-

квасок в значительной мере зависит весь ход процесса выработки кисломолочных продуктов и их качество.

12.4.1. Количество компонентов, входящих в состав микрофлоры заквасок

В мировой практике существует *два основных тренда установления количества компонентов, входящих в состав заквасок*: из одного и из нескольких штаммов. В нашей стране и некоторых западноевропейских странах практически с самого начала применения был установлен принцип составления многоштаммовых заквасок. Применяя данный принцип, можно создать закваску более разностороннего качества путем введения штаммов, повышающих активность, улучшающих аромат, консистенцию продукта и проч. Более того, использование нескольких штаммов одного вида способствует большей устойчивости закваски к неблагоприятным условиям, т.е. если под их влиянием один-два штамма утратят свою активность, сквашивание будет осуществлено остальными штаммами. В настоящее время многоштаммовые закваски применяют, например, при производстве сыра и масла – в Англии, Германии, Франции и других европейских странах, в России, также кисломолочных продуктов. При производстве йогурта, как правило используют двухштаммовые.

Одноштаммовые закваски используются при производстве масла и сырка в Австралии и Новой Зеландии, что обусловлено сложностью подбора нескольких штаммов с учетом взаимодействия и возможным изменением первоначального состава микрофлоры при их пересадках в производственные условия. Поэтому, у данного принципа есть одно значимое преимущество – возможность тщательного изучения штаммов, их подбора к условиям производства и при подборе заквасок не требуется вносить коррективы на возможные изменения в метаболизме бактерий при совместном культивировании. Однако, заметим, что такие закваски обладают и некоторыми недостатками; например, невозможно сочетать в одной культуре свойства активных кислото- и ароматообразователей, а в случае ее поражения бактериофагом произойдет быстрый и полный лизис культуры, что, соответственно, приведет к прекращению производственного процесса. Последнее обстоятельство вынудило микробиологов разработать меры, предотвращающих развитие этих вирусов. Однако, в последние годы наиболее актуальным стал подбор заквасок из двух, максимум трех штам-

мов, проверенных по всем свойствам и способности к совместному развитию в промышленных условиях.

При подборе культур следует учитывать *специфические свойства*, которые желательно получить у готового продукта. Так, например, составляя закваски для творога, необходимо учесть, что ее микроорганизмы должны активно повышать кислотность в начале цикла производства, однако, способность их к дальнейшему кислотообразованию должна быть ограничена. Таким требованиям удовлетворяют молочнокислые стрептококки. При этом, из молочнокислых стрептококков нужно выбрать культуры, которые обладали бы хорошим вкусом и ароматом. Поэтому оптимально наряду с культурами *Str. lactis* вводить *Str. acetiniicus* или *Str. diacetylactis*. Для продуктов, в процессе производства которых предусмотрено отделение части сыворотки от сгустка (творог и проч.), подбирают культуры, образующие сгустки, легко отделяющие сыворотку. Для продуктов, в производстве которых нужно предотвратить отделение сыворотки, рекомендуется подбирать культуры, дающие при свертывании молока сгустки сметанообразной консистенции. Для получения продуктов с лечебными свойствами в состав закваски вводят ацидофильные бактерии, специально подобранные дрожжи и проч. Подобным же образом учитывают свойства культур и при подборе заквасок для других кисломолочных продуктов.

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

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

го действия разницы в скорости восстановления не наблюдается. Далее из отобранных культур, преобладающих в данной закваске, составляют основы, проводят их органолептическую оценку и устанавливают энергию кислотообразования. Она не должна быть ниже энергии кислотообразования самого активного штамма из входящих в основу. После этого к основе добавляют культуры стрептококков – ароматообразователей, снова проводят органолептическую оценку и устанавливают наличие аромата. Удачно подобранные закваски могут в течение ряда лет сохранять свои первоначальные свойства. Сочетаемость культур термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской палочки выявляют путем ежедневных пересевов составленных комбинаций в течение 15 дней. Если после такого длительного культивирования в закваске сохраняются оба вида микроорганизмов, считают, что между ними сложились симбиотические взаимоотношения.

Поведение микроорганизмов заквасок в производственных условиях во многом зависит от *микробиоты*, содержащейся в пастеризованном молоке или сливках. В свою очередь и микробы закваски могут сильно влиять на развитие посторонней микрофлоры незаквасочного происхождения. Поэтому изучение взаимоотношений между микрофлорой заквасок и микрофлорой пастеризованного молока представляет исключительный практический интерес, т.к. результаты его можно использовать при подборе культур для заквасок, а также для выбора оптимального количества вносимой закваски. Так, исследования последних лет доказывают, что при применении закваски, состоящей, например, из *Str. lactis*, в молоке накапливаются продукты их обмена в концентрациях, стимулирующих развитие термоустойчивых молочнокислых палочек. В таких случаях необходимо снижать количество вносимой закваски с 5 до 2-3%. Подбор заквасок *по их способности подавлять постороннюю микрофлору* позволяет повысить их стойкость в производственных условиях. Также установлена возможность подбора заквасок, состоящих из антагонистов по отношению к термоустойчивым палочкам. Отметим, что в настоящее время подбор микрофлоры заквасок по признаку подавления термоустойчивой молочнокислой палочки введен как обязательный в практику работы специальных лабораторий.

Не менее важна и способность молочнокислых бактерий, *противостоять влиянию на них посторонней микрофлоры*. В связи с этим молоч-

нокислые бактерии принято проверять на их устойчивость к фенолу – продукту метаболизма некоторых посторонних бактерий молока. Если культуры подобраны по энергии кислотообразования, сочетаемости, стойкости при пересадках они, как правило, устойчивы к фенолу в используемых дозах. При культивировании молочнокислые стрептококки быстро утрачивают первоначальную активность, поэтому в лабораториях проводят большую работу по их проверке и отбору наиболее стойких культур для пополнения коллекций. Так, культуру высевают на плотную питательную среду и выделяют в чашки 100 колоний. Все колонии проверяют на энергию кислотообразования. Если на протяжении года (особенно весной) у большинства культур, выделенных из колоний, установлена близкая по величине и значительная энергия кислотообразования, считают, что культура обладает компактной популяцией и сохранит свои свойства при пастеризации. Если же среди выделенных из колоний культур обнаруживается много культур с разной энергией кислотообразования, считают, что в исследуемой культуре большой разброс клеток по данному признаку, и она может быстро утратить активность в процессе пересевов. Путем поддерживающего отбора (выделения наиболее активных культур после посева) можно сохранять ценные культуры молочнокислых бактерий на протяжении длительного времени.

12.4.2. Морфология заквасок кисломолочных продуктов

В закваски для **творога** входят чистые культуры мезофильных молочнокислых стрептококков (*Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. acetoinicus*). Культуры подбирают те, которые сквашивают молоко с образованием сгустка колющейся консистенции, хорошо выделяющего сыворотку. При производстве **сметаны** используют закваски, состоящие из культур *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis* или *Str. acetoinicus*, образующих при сквашивании молока сгустки сметанообразной консистенции, а при производстве любительской сметаны закваску мезофильных и термофильных стрептококков, которую вносят в равных количествах. Для приготовления обыкновенной **простокваши** применяют закваску мезофильных молочнокислых стрептококков (*Str. lactis*, *Str. acetoinicus*) с добавлением или без добавления культур болгарской палочки; для мечниковской и южной простокваши, йогуртов – культуры болгарской палочки и термофильных стрептококков или симбиотическую закваску, состоящую из этих микроорганиз-

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

В свою очередь, при производстве **ацидофилина** используют культуры мезофильных молочнокислых стрептококков, ацидофильной палочки и кефирной закваски в равных количествах. Закваска ацидофильных палочек состоит из слизистых (10-20%) и неслизистых (80-90%) культур; в зависимости от местных условий эти соотношения можно изменять. Для **ацидофильной простокваши** применяют чистые культуры мезофильных молочнокислых стрептококков и ацидофильной палочки. При выработке **ацидофильного молока** и **ацидофильной пасты** в качестве закваски применяют чистые культуры ацидофильной палочки (в том числе до 20% слизистых культур к общему количеству закваски), а при производстве *ацидофильно-дрожжевого молока* в качестве закваски используют ацидофильную палочку и дрожжи, сбраживающие лактозу и обладающие антибиотическими свойствами. Наконец, при производстве **кумыса** используют чистые культуры болгарской и ацидофильной палочек и дрожжи, сбраживающие и не сбраживающие лактозу. Те же культуры применяют и для кумыса из коровьего молока. Закваска для *диетической простокваши* состоит из культур ацидофильной палочки и молочнокислых стрептококков кишечного происхождения.

12.5. Методы санитарно-микробиологического исследования молока и молочных продуктов

12.5.1. Микробиологический контроль пастеризованного и стерилизованного молока

В питьевом молоке и сливках выборочно от одной-двух партий не реже одного раза в пять дней определяют общее количество бактерий и наличие бактерий группы кишечной палочки.

Микробиологическое исследование **пастеризованного молока** начинается с *отбора проб*. Пастеризованное молоко во флягах после тщательного перемешивания стерильной мутовкой отбирают черпаком в количестве 50-60 см³ в стерильную посуду с пробкой. Продукты, расфасованные в потребительскую тару, отбирают по одному-два образца от партии. Кон-

чик пакета протирают ватой, смоченной спиртом, и отрезают ножницами, предварительно профламбированными в пламени спиртовки. При контроле молока из секции охлаждения пастеризатора обжигают пробный кран и наливают молоко в стерильную посуду с пробкой. *Эффективность пастеризации молока и сливок* контролируют вне зависимости от качества готового продукта не реже одного раза в декаду. Для этого 10 см³ молока, отобранного после секции охлаждения, засевают в 50 см³ среды Кесслера. Бактерии группы кишечной палочки не должны обнаруживаться, и проба на фосфатазу должна быть отрицательной. Общее количество бактерий в 1 см³ молока, отобранного после секции охлаждения пастеризатора, не должно превышать 10 тыс.

На следующем этапе определяют *КМАФАнМ*. Метод основан на способности мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов размножаться на плотном питательном агаре при температуре (30±1) °С в течение 72 ч. Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения. При исследовании молока в питательную среду засевают его разведения от 10⁻⁴ до 10⁻⁶ см³. По 1 см³ каждого разведения засевают в две чашки Петри с заранее маркированной крышечкой и заливают 10⁻¹⁵ см³ расплавленного и остуженного до 40-45 °С мясопептонного агара. Сразу после его заливки содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой (30±1) °С на 72 ч.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз. При большом числе колоний и равномерном их распределении в питательном агаре дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых секторов, подсчитывают число колоний в двух-трех секторах, но не менее чем на 1/3 поверхности чашки, находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 см³ молока X вычисляют по формуле:

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

где: n – количество колоний, подсчитанных на чашке Петри; m – число десятикратных разведений.

Для определения бактерий группы кишечной палочки делают посев одного, двух и трех разведений продукта в среду Кесслера. Бродильный метод основан на способности этих бактерий сбраживать в питательной среде лактозу с образованием кислоты и газа при температуре (37 ± 1) °С в течение 24 ч. В среду Кесслера в качестве углевода вносят лактозу; в качестве вещества, ингибирующего рост других групп бактерий, – бычьей желчь, а в качестве индикатора – генцианвиолет. Бродильный титр в сыром молоке определяют следующим образом. В пять пробирок со средой Кесслера вносят по 1 см³ соответствующего разведения молока (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) и ставят их в термостат при температуре (37 ± 1) °С на 18-24 ч. По окончании инкубации пробирки просматривают; при отсутствии газообразования в поплавке в пробирке с наименьшим из засеваемых объемов дают заключение об отсутствии в продукте бактерий группы кишечной палочки. При наличии газообразования в поплавке в пробирке с наименьшим из засеваемых объемов считается, что бактерии обнаружены в этом количестве.

Микробиологические показатели молока и сливок пастеризованных приведены в таблице 12.1.

Таблица 12.1 – Допустимые уровни содержания микроорганизмов в продуктах переработки молока при выпуске их в обращение²³⁰

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются		Примечание
		БГКП (ко-лиформы)	патогенные, в т.ч. сальмонеллы	
<i>Молоко сырое</i>				
Высший сорт	$1 \cdot 10^5$	-	25	Соматические клетки, не более $4 \cdot 10^5$ в 1 см ³
Первый сорт	$5 \cdot 10^5$	-	25	Соматические клетки, не более $1 \cdot 10^6$ в 1 см ³
Второй сорт	$4 \cdot 10^6$	-	25	Соматические клетки, не более $1 \cdot 10^6$ в 1 см ³

²³⁰ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 09.10.2013 № 67 (ред. от 15.07.2022) «О техническом регламенте Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (вместе с ТР ТС 033/2013. Технический регламент Таможенного союза. О безопасности молока и молочной продукции) // СПС Консультант Плюс.

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются		Примечание
		БГКП (ко-лиформы)	патогенные, в т.ч. сальмонеллы	
<i>Молоко, сыворотка, пахта пастеризованные</i>				
В потребительской таре	$1 \cdot 10^5$	0,01	25	<i>S. aureus</i> в 1 см ³ не допускаются, <i>L. monocytogenes</i> в 25 см ³ не допускаются
Во флягах и цистернах	$2 \cdot 10^5$	0,01	25	<i>S. aureus</i> в 0,1 см ³ не допускаются, <i>L. monocytogenes</i> в 25 см ³ не допускаются
<i>Сливки пастеризованные</i>				
В потребительской таре	$1 \cdot 10^5$	0,01	25	<i>S. aureus</i> в 1 см ³ не допускаются, <i>L. monocytogenes</i> в 25 см ³ не допускаются
Во флягах и цистернах	$2 \cdot 10^5$	0,01	25	<i>S. aureus</i> в 0,1 см ³ не допускаются, <i>L. monocytogenes</i> в 25 см ³ не допускаются
Молоко топленое	$2,5 \cdot 10^3$	1,0	25	<i>S. aureus</i> не допускаются, <i>L. monocytogenes</i> в 25 см ³ не допускаются
Молоко и сливки стерилизованные	Требования промышленной стерильности: (1) после термостатной выдержки при температуре 37 °С в течение трех-пяти суток – отсутствие видимых дефектов и признаков порчи (вздутие упаковки, изменение внешнего вида и другие), отсутствие изменений вкуса и консистенции; (2) после термостатной выдержки допускаются изменения: (а) титруемой кислотности – не более чем на 2 °Т; (б) КМАФАнМ – не более 10 КОЕ/см ³ (г)			

Для контроля **стерилизованного** в потоке молока отбирают для исследования по одному пакету через каждый час работы с каждого фасовочного автомата. Контроль готовой продукции осуществляют не реже двух раз в неделю. Отобранные образцы должны соответствовать требованиям промышленной стерильности. Для определения промышленной стерильности отобранные упаковки со стерилизованным молоком выдержи-

вают при температуре 37 °С в течение трех суток, а со сливками – в течение пяти суток. После термостатной выдержки проводят осмотр образцов продукта; при наличии вздутия упаковки или изменения внешнего вида молока в бутылках (наличия сгустка, отстоя сыворотки, наличия хлопьев молока и др.) упаковки считают не отвечающими требованиям промышленной стерильности. Упаковки без внешних дефектов вскрывают, стерилизованное молоко и сливки анализируют органолептически.

Продукт отвечает требованиям промышленной стерильности, если не установлено изменений консистенции и вкуса, кислотность молока увеличилась не более чем на 2 °Т, в микроскопическом препарате отсутствуют клетки бактерий, а общее количество микроорганизмов в 1 см³ не превышает 10 (см. таблицу 12.1).

12.5.2. Микробиологический контроль кисломолочных напитков, творога и сметаны

Обор проб для исследования **кисломолочных напитков** производится так же, как и при исследовании пастеризованного молока: после розлива отбирают по одному-два образца в упаковке от партии. Готовую продукцию контролируют на наличие бактерий группы кишечных палочек и по микроскопическому препарату не реже одного раза в пять дней. Для определения их наличия кисломолочные продукты предварительно нейтрализуют. Для этого отбирают стерильной пипеткой 10 см³ исследуемого продукта в стерильную колбочку и добавляют 1 см³ 10%-ного раствора двууглекислого натрия. Содержимое колбочки перемешивают и засевают в три пробирки со средой Кесслера по 1 см³ самого продукта, а также его первого и второго разведений. Для контроля состава микрофлоры готовых кисломолочных напитков просматривают микроскопические препараты, окрашенные метиленовым синим. В поле зрения препарата, приготовленного из йогурта, ряженки, простокваши «Мечниковской», «Южной», «Болгарской», должны находиться цепочки кокков и длинные тонкие палочки; из ацидофильно-дрожжевого молока – ацидофильные палочки и дрожжи; из кефира – стрептококки, короткие палочки, изредка единичные дрожжевые клетки и проч.

Микробиологические показатели кисломолочных напитков приведены в **таблице 12.2**.

Таблица 12.2 – Допустимые уровни содержания микроорганизмов в кисломолочных напитках и сметане при выпуске их в обращение

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи (Д), плесени (П), КОЕ/г, не более
		БГКП (ко-лиформы)	S. aureus	патогенные, в т.ч. сальмонеллы	
Жидкие кисломолочные продукты, в том числе йогурт, со сроками годности не более 72 ч	МКБ не менее $1 \cdot 10^7$	0,01	1,0	25	-
Жидкие кисломолочные продукты, в том числе йогурт, со сроками годности более 72 ч:					
без компонентов	МКБ не менее $\cdot 10^7$	0,1	1,0	25	Д – 50*, П – 50
с компонентами	МКБ не менее $\cdot 10^7$	0,01	1,0	25	Д – 50*, П – 50
Жидкие кисломолочные продукты, обогащенные бифидобактериями, со сроками годности более 72 ч	МКБ не менее $1 \cdot 10^7$; бифидобактерии не менее $1 \cdot 10^6$	0,1	1,0	25	Д – 50*, П – 50
Ряженка	-	1,0	1,0	25	-
Сметана и продукты на ее основе	МКБ не менее $\cdot 10^7$	0,001***	1,0	25	Д – 50***, П – 50***
Термически обработанные сквашенные молочные и молочные составные продукты без и с компонентами**	-	1,0	1,0	25	Д – 50, П – 50

Примечание: * кроме напитков, изготавливаемых с использованием заквасок, содержащих дрожжи; ** для термически обработанных продуктов – 0,01; *** для продуктов со сроками годности более 72 ч.

При отборе **творога** из крупной тары (бочек, фляг) верхний слой продукта зачищают. Пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3-5 см от края, направляя щуп к противоположной стороне и опуская примерно на 3/4 его длины. Из столбика творога на щупе отбирают стерильным шпателем 15-20 г творога и помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой. От расфасованных продуктов отбирают один-два образца в упаковке. Для микробиологического анализа отвешивают 10 г продукта на стерильном часовом стекле (или чашке Петри) и тщательно растирают его в стерильной или профламбированной ступке. К навеске добавляют 90 см³ стерильного физиологического раствора, подогретого до 40-45 °С, и получают разведение продукта 1:10, из которого готовят все последующие разведения. Готовый творог анализируют на присутствие бактерий группы кишечной палочки в определенной массе и просматривают микроскопический препарат. Их определяют посевом по 1 см³ разведений продукта от 10⁻¹ до 10⁻⁵ в пробирки со средой Кесслера. Пробирки с посевами выдерживают в термостате при температуре 37 °С в течение 18-24 ч, после чего их просматривают и определяют бродильный титр по наличию газообразования в поплавках. В микроскопическом препарате творога должны обнаруживаться молочнокислые стрептококки. Обнаруженные в препарате дрожжи, палочки, молочная плесень являются посторонними микроорганизмами. Микробиологические показатели творога приведены **таблице 12.3**.

Таблица 12.3 – Допустимые уровни содержания микроорганизмов в твороге и творожных изделиях при выпуске их в обращение

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи (Д), плесени (П), КОЕ/г, не более
		БГКП (ко-лиформы)	S. aureus	патогенные, в т.ч. сальмонеллы	
Творог и творожные изделия со сроками годности не более 72 ч	МКБ не менее 1·10 ⁶	0,0001	0,1	25	-

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи (Д), плесени (П), КОЕ/г, не более
		БГКП (колиформы)	S. aureus	патогенные, в т.ч. сальмонеллы	
Творог и творожные изделия со сроками годности более 72 ч, в том числе замороженные	МКБ не менее -	0,01	0,1	25	Д – 100, П – 50
Творожные изделия термической обработки	-	0,1	1,0	25	Д + П – 50
Творог зерненный	-	0,01	0,1	25	Д – 100, П – 50

Отбор пробы **сметаны** производится в стерильную посуду после тщательного перемешивания из двух-трех мест партии при крупной расфасовке (фляги, бочки), а при мелкой расфасовке отбирают два образца от партии. Сметану нейтрализуют добавлением 10%-ного раствора двууглекислого натрия до рН 6,5-6,8, а затем готовят десятикратные разведения продукта от 10^{-1} до 10^{-4} см³ для определения бактерий группы кишечной палочки. Для этого делают посев по 1 см³ указанных разведений сметаны в четыре пробирки со средой Кесслера. Бактерии группы не должны обнаруживаться в 0,01-0,001 см³ продукта (см. таблицу 12.2).

В сметане со сроком годности более 72 ч определяют количество дрожжей и плесеней путем посева 1 г продукта и его первого разведения в чашки Петри с сушлом-агаром или средой Сабуро. При просмотре микроскопических препаратов сметаны в поле зрения должны находиться молочнокислые стрептококки (в препаратах бифидосметаны – дополнительно единичные клетки бифидобактерий). Наличие посторонних микроорганизмов (термоустойчивых молочнокислых палочек, дрожжей, молочной плесени) свидетельствует о низком санитарно-гигиеническом уровне производства.

Вопросы для самоконтроля

1. Каков химический состав молока?
2. На какие виды подразделяется технически важная микрофлора?
3. Каковы основные пути контаминации молока микроорганизмами?
4. На какие группы подразделяются молочнокислые бактерии?
5. Назовите фазы изменения вторичной микрофлоры молока.
6. Какая фаза является заключительной в процессе микробиологических изменений молока?
7. Перечислите основные признаки микробной порчи молока.
8. Какие способы сохранения и консервирования молока Вы знаете?
9. Дайте определение понятию «закваска».
10. Перечислите основные этапы микробиологического исследования молока.

Глава 13. Санитарно-микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов

13.1. Общие сведения о первичной переработке туш и влияние ее на бактериальную обсемененность мяса

Мясо и мясопродукты имеют большое значение в питании человека, т.к. они содержат значительное количество полноценных белков, незаменимых аминокислот и ненасыщенных жирных кислот, а также большое количество макро-, микроэлементов и витаминов. Одновременно с этим, они считаются скоропортящимися продуктами, чему способствует проникновение вглубь их различных видов микроорганизмов. Проникающие при жизни и после убоя животных в толщу мяса они быстро размножаются и обуславливают его преждевременную порчу. Во избежание этого полученные после убоя животных туши необходимо подвергать различным видам консервирования. Снижению содержания различных видов микроорганизмов также способствует соблюдение *предубойной подготовки* и всех необходимых санитарно-гигиенических условий на различных этапах технологической переработки туш. Убой животных и переработку туш производят на типовых мясокомбинатах и убойных пунктах²³¹. После оформления соответствующих документов (ветеринарного свидетельства, товарно-транспортной накладной и взвешивания) животные направляются на мясокомбинаты.

При кормлении животных в мясе увеличивается количество связанной воды, которая становится недоступной для микробов, благодаря чему значительно снижается их количество. При использовании кормов с примесью патоки мясо приобретает не только нежность, но и высокую бактерицидность и стойкость при хранении. То есть еще при жизни животного можно создавать условия, препятствующие размножению микроорганизмов и тем самым повышающие стойкость мяса при хранении.

При транспортировке скота необходимо соблюдать правила перевозки, не допускать перегрузки животных и скорости движения, т.к. не выполнение соответствующих нормативов значительно увеличивает волне-

²³¹ См. подробнее: Приказ Минсельхоза России от 28.04.2022 «Об утверждении Ветеринарных правил убоя животных и Ветеринарных правил назначения и проведения ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и продуктов убоя (промысла) животных, предназначенных для переработки и (или) реализации» // Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru, 02.06.2022, N 0001202206020029.

ние животных и проницаемость слизистой кишечника к проникновению микробов по кровеносным сосудам отсюда вглубь мышечной ткани. Для исключения транспортного стресса, волнения, страха, беспокойства и сохранения качества мяса животным вводят *успокаивающие препараты*: аминазин – крупному рогатому скоту из расчета 1 мг на 1 кг живой массы в виде 2,5 % раствора; феназепам – свиньям вместе с кормом в пределах 0,2-0,3 мг на 1 кг корма. В этих же целях после поступления на убойные предприятия животным предоставляется предубойный отдых, который у крупного рогатого скота составляет 24 часа, а у свиней – 10 часов²³². Если у отдохнувших животных перед убоем микрофлора во внутренних органах не обнаруживается, то у не отдохнувших перед убоем животных и убитых сразу же после транспортировки степень обсемененности тех же органов кишечными микробами составляет – 40-60%, а мяса – 10-20 %. По этой причине у неотдохнувших животных мясо оказывается плохо обескровленным, и в связи с высоким содержанием крови в последующие дни хранения мяса содержание микроорганизмов еще более увеличивается. По окончании сроков предубойного отдыха, во время которого животных не кормят, а только поят, их направляют в убойный цех, который состоит из следующих основных операций:

1. *Мойка животных перед убоем.* После предубойной выдержки кожный покров освобождают от грязи, так как грязная кожа является одним из основных источников загрязнения мяса. На 1 см² грязной кожи может содержаться до нескольких сот миллионов микробов, поэтому перед убоем животных следует вымыть с помощью душевых установок или водой из шланга. При освобождении кожи от грязи и микробов к воде добавляют 0,5-1% хлорной извести.

2. *Оглушение животных.* Эту операцию производят в специальных металлических боксах, куда загоняют животных. Она позволяет получать хорошо обескровленное мясо, не являющееся благоприятной питательной средой для размножения микробов. Однако, при убое животных без оглушения туша представляется плохо обескровленной, она содержит

²³² См. подробнее: Загаевский И.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии переработки продуктов животноводства: [для спец. «Ветеринария»] / И. С. Загаевский, Т. В. Жмурко. – 4-е изд., доп. и перераб. – М.: Колос, 1983. – 223 с.; Ежкова М.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза: в 2 ч. Ч. 2. Биологическая безопасность сырья и продуктов животного происхождения: учебное пособие / М.С. Ежкова, В.О. Ежков, А.М. Ежкова. – Казань: Изд-во КНИТУ, 2013. – 188 с.; Готовский Д.Г. Ветеринарно-санитарная экспертиза и технология продуктов животноводства. Ветеринарно-санитарная экспертиза. Ветеринарно-санитарная экспертиза молока: учеб.-метод. пособие / Д. Г. Готовский [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2022. – 48 с.

много крови, способствующей развитию гнилостной микрофлоры и быстрой порче мяса. На убойных предприятиях в нашей стране оглушение животных чаще всего производят электротоком, а на небольших бойнях в сельской местности – деревянным молотком, оглушение проводят с целью более полного извлечения крови из туши, так как кровь является весьма благоприятной средой для развития гнилостных микробов. У оглушенного электротоком животного напряжением в 70-120 вольт с силой тока в 1-1,5 ампер с экспозицией 10-20 секунд теряется сознание, но продолжает работу сердце и сохраняется тонус кровеносных сосудов, что и способствует более полному удалению крови из мышечной ткани. После обескровливания туша животного подвешивается за задние конечности вниз головой к подвесным путям.

В условиях убойных пунктов в сельской местности, когда животных убивают нередко без оглушения, получают плохо обескровленное мясо, что способствует быстрому размножению микробов. При этом в значительной степени сокращаются сроки сохранения мяса от порчи. После оглушения проводят обескровливание туш животных, осуществляют перерезание сонной артерии и яремной вены в нижней части шеи. При нормальном обескровливании из туши крупного рогатого скота вытекает 45% крови от живой массы или 60% от ее общего объема, и обсеменение мяса микробами при этой операции обычно не происходит, но в случае нарушения технологии ее выполнения и перерезания пищевода содержимое его загрязняет области шеи туши животного.

3. Следующая операция состоит в *снятии кожи животного*; ее проводят при вертикальном или горизонтальном расположении туши животного. При этом во избежание загрязнения мяса не следует допускать контакта поверхностных частей кожи с частями туши, свободными от шкуры. При нарушении этого условия происходит сильное загрязнение мяса с единичного количества на 1 см² чистой туши до 2 млн на 1 см² загрязненной туши.

4. *Нутровка* – извлечение из брюшной полости туш животных вручную преджелудков и кишечника. При этом следует соблюдать осторожность и не допускать разреза прямой кишки, преджелудков, мочевого и желчного пузырей, так как в случае нарушения целостности происходит очень сильное загрязнение туши их содержимым с внутренней и наружной частей туши.

5. Туалет туши разделяется на сухой и мокрый. При сухом загрязнение удаляется без использования воды ножом. При этом с поверхности быстрее подсыхают мышцы и фасции, исключается возможность передвижения и размножения микробов и повышается стойкость продукта при хранении. При мокром туалете через щетки душа водой можно удалить 90% микробов, но при этом разрыхляется подкожная клетчатка, повышается ее влажность, загрязняются более глубокие участки, снижается сохранность мяса. На отдельных убойных пунктах вместо душевых щеток используют мокрые тряпки, что в значительной степени увеличивает содержание микроорганизмов, количество которых достигает 1 млн на 1 см² поверхности туш.

При разделке туш животных необходимо соблюдать на должном уровне санитарно-гигиенические правила, т.е. содержать в чистоте руки, инструменты, спецодежду рабочих, что способствует снижению количества микроорганизмов на 80-90%. После разделки туши животных из убойно-разделочного цеха направляют в камеры охлаждения, в которых при температуре 1-3 °С они подвергаются охлаждению и созреванию.

13.2. Микробиология свежего, охлажденного и мороженого мяса

Микрофлора организма животных состоит из *постоянной (нормальной)* микрофлоры и *случайной*. Первая сформировалась в процессе эволюции и состоит из микроорганизмов, приспособившихся к условиям существования в различных системах организма. Микробы обитают в системах организма, соприкасающихся с внешней средой: в желудочно-кишечном тракте, кожно-шерстных покровах, в дыхательных путях и проч. **Микрофлора кожи и шерстного покрова** представлена различными микробами, попадающими из воздуха, почвы, выделений животных, подстилки и других объектов, с которыми соприкасаются животные. Постоянными микроорганизмами кожи являются в основном кокковые формы бактерий, а также некоторые палочковидные бактерии: *кишечная, синегнойная, сенная палочки*. Кокки обитают в волосяных мешочках, в протоках сальных и потовых желез. При снижении иммунитета животного они могут вызывать гнойные воспалительные процессы. Количество микроорганизмов на коже зависит от условий содержания животных и составляет от нескольких сот тысяч до 1-2 млрд. клеток на 1 см². **Микрофлора пищеварительной системы** наиболее обильная и разнообразная. Ее количественный и каче-

ственный состав зависят от состава кормов, их микрофлоры, от условий в разных отделах пищеварительного аппарата.

В рубце жвачных животных находятся сотни миллионов микроорганизмов в 1 г содержимого. Основную микрофлору составляют возбудители различных брожений, под действием которых происходит переработка кормов. Микроорганизмы рубца участвуют в разложении клетчатки, расщеплении белков, мочевины и других веществ, и эти же микроорганизмы синтезируют витамины и другие соединения, полезные для организма животных. Они передвигаются в нижележащие отделы желудочно-кишечного тракта, перевариваются и существенно пополняют белковый баланс животных. *Микрофлора желудка и тонкого кишечника*, наоборот, немногочисленная, что объясняется неблагоприятными условиями для развития микроорганизмов. Она представлена кишечными палочками, энтерококками и бациллами, среди которых нередко встречаются штаммы, обладающие токсигенными свойствами. Толстый кишечник густонаселен микроорганизмами. Так, в 1 г содержимого толстого кишечника находятся сотни миллионов микроорганизмов, что обусловлено длительным пребыванием в кишечнике остатков пищи и отсутствием бактерицидных факторов. В его микрофлоре преобладают бактерии группы кишечной палочки, энтерококки, возбудители брожений, гнилостные бактерии. Постоянная микрофлора толстого кишечника обладает антагонистическим действием в отношении патогенных и гнилостных бактерий, участвует в обеспечении организма животных витаминами группы В, С и К. Среди постоянных обитателей имеются условно-патогенные штаммы, способные вызывать заболевания при ослаблении иммунитета. Кроме того, могут присутствовать патогенные микроорганизмы, носителями которых являются животные: сальмонеллы, палочка ботулизма.

При заболевании животных, при длительном лечении антибиотиками происходит *изменение состава микрофлоры кишечника* – дисбактериоз, при этом уменьшается количество или совсем исчезают кишечные палочки, молочнокислые бактерии, что влечет за собой снижение полезного влияния облигатной микрофлоры. В кишечнике увеличивается количество гнилостных бактерий, появляются токсигенные штаммы кишечной палочки, создаются условия для размножения грибов и патогенных бактерий. При дисбактериозе отмечается истощение животных, отставание в росте, появляются желудочно-кишечные заболевания.

13.2.1. Количественный и качественный состав микрофлоры охлажденного мяса

Мясо, полученное при убойе здоровых, упитанных, неутомленных животных с соблюдением санитарных и технологических требований, обычно содержит микроорганизмы *только на поверхности*, что связано с экзогенным обсеменением в процессе разделки туши. Их количество зависит от уровня санитарного состояния производства. Так, при должном санитарном состоянии на поверхности мяса обнаруживают от нескольких тысяч до десятков тысяч микробных клеток. При низком уровне санитарного состояния количество микроорганизмов на 1 см² поверхности мясных туш может достигать 500 тысяч клеток и более.

Качественный состав микрофлоры свежего мяса многообразен. Большую часть микрофлоры составляют микроорганизмы кожных покровов и желудочно-кишечного тракта, которые являются основными источниками микробного обсеменения мяса в процессе его выработки. Обнаруживаются кокковые формы бактерий, бактерии группы кишечной палочки, гнилостные спорообразующие бактерии, неспорообразующие грамотрицательные палочки, плесневые грибы, дрожжи. Иногда можно обнаружить сальмонеллы и другие патогенные микроорганизмы.

Мясо хранят в *охлажденном и замороженном виде*. В охлажденном и мороженом мясе в процессе хранения происходят изменения количественного и качественного состава микрофлоры. **Охлажденным** считается **мясо**, сохраняемое непродолжительное время (до 3 недель) при температуре 0-4 °С. Температура 4-2 °С свидетельствует о среднем охлаждении, 2-0 °С – о хорошем. Низкая температура охлажденного мяса влияет на микроорганизмы разных температурных групп неодинаково. К примеру, на термофильные и мезофильные микроорганизмы низкие температуры оказывают значительное угнетающее действие. Термофилы и часть мезофильных микробов погибают, однако большое число мезофилов замедляют свое развитие и остаются в мясе в состоянии анабиоза. Таковыми являются многие виды бактерий из семейства *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*. Психрофильные микроорганизмы развиваются и проявляют ферментативную активность в охлажденном мясе при температуре 0 °С и ниже. Кроме них обнаруживаются психротрофные микроорганизмы, способные развиваться при низкой температуре, хотя оптимальная температура их роста 20-30 °С.

Развитие как психрофильных, так и психротрофных микроорганизмов при низких температурах происходит по тем закономерностям, что и при умеренной температуре, однако, все фазы развития значительно удлиняются. В начальном периоде хранения микрофлора охлажденного мяса остается постоянной в течение некоторого времени. Этот период называется **лаг-фазой** (фазой задержки размножения), и характеризуется адаптацией микроорганизмов к условиям среды. Продолжительность этой фазы зависит от качества мяса, первоначальной микробной обсемененности, температуры мяса и воздуха, скорости охлаждения мяса. И чем ниже уровень микробной обсемененности мяса, тем длительнее будет лаг-фаза. В охлажденном мясе, полученном при убое здоровых, упитанных животных с соблюдением санитарно-гигиенических правил и содержащих незначительное количество микроорганизмов, лаг-фаза длится 3-5 суток. При несоблюдении этих условий и высокой микробной обсемененности мяса лаг-фаза сократится, и микроорганизмы начинают размножаться уже в первые сутки. Удлинение фазы задержки размножения наблюдается также при быстром охлаждении мяса, при наличии хорошей корочки подсыхания. По истечении лаг-фазы микробы, способные к росту при низкой температуре, начинают размножаться, количество психрофильных и психротрофных микроорганизмов увеличивается. Микроорганизмы, не способные к росту, отмирают.

В установленном температурно-влажностном режиме хранения в охлажденном мясе активно размножаются и становятся преобладающими неспорообразующие грамотрицательные палочки родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*, а также плесневые грибы и дрожжи. Наиболее активно размножаются бактерии род *Pseudomonas*, которые обладают антагонистическими свойствами в отношении других микроорганизмов. Через несколько недель бактерии рода *Pseudomonas* составляют уже 90% микрофлоры охлажденного мяса. Эти бактерии выделяют активные ферменты, расщепляющие белки и жиры, а также вырабатывают слизь. Они являются возбудителями гниения охлажденного мяса, которое хранится сверх допустимого срока. Другие патогенные микроорганизмы, например, золотистый стафилококк, сальмонеллы, возбудитель ботулизма, сохраняют жизнеспособность в охлажденном мясе.

В настоящее время охлаждение мяса производят непосредственно после убоя животных. Быстрое охлаждение в морозильных установках тун-

нельного типа предотвращает размножение микроорганизмов в мясе, что особенно важно в случаях плохих санитарно-гигиенических условий производства. Сроки хранения охлажденного мяса при температуре $-1,5-0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности 85-90% следующие: телятины – 4-5 недель; баранины – 10-15 дней; свинины – 1-2 недели; говядины – 3 недели. Для удлинения срока хранения охлажденного мяса разрабатываются и внедряются дополнительные методы, например, частичная замена воздуха углекислым газом, полная замена воздуха азотом, вакуумная упаковка мяса. Все они позволяют удлинить сроки хранения охлажденного мяса в 2-3 раза до 60-70 суток. В таких условиях хранения в мясе развиваются преимущественно психрофильные факультативно анаэробные бактерии. Для обеспечения высокого качества охлажденного мяса также необходимо соблюдать следующие профилактические требования: *получение мяса с низкой первоначальной обсемененностью; тщательная санитарная обработка холодильных камер, инструментов и оборудования; быстрое охлаждение мяса; поддержание параметров температуры и влажности воздуха в камерах охлаждения.*

13.2.2. Количественный и качественный состав микрофлоры замороженного мяса

Мороженое мясо – это свежее мясо, подготовленное для длительного хранения. В соответствии с действующими технологическими инструкциями замороженное мясо рекомендуется хранить при температуре не выше $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ при относительной влажности воздуха 90-95%. Срок хранения говядины и баранины первой категории при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ равен 6 месяцам; при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 12 месяцам. Температура $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ для хранения замороженного мяса является наилучшей, т.к. прекращаются размножение и ферментативная активность любых микроорганизмов, а при температуре выше $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ качество мяса снижается. В некоторых случаях мороженое мясо хранят при температуре $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, однако его качество значительно ниже. Мясо замораживают целыми тушами (овцы, козы, телята), полутушами (свиньи), четвертями (крупный рогатый скот), а также кусками.

В процессе замораживания и хранения в мясе происходит отмирание большей части микроорганизмов. Губительное действие на микроорганизмы оказывает низкая температура, увеличение концентрации растворенных веществ и понижение влажности продукта. При замораживании мяса

вода превращается в кристаллы льда. При быстром замораживании образуются мелкие кристаллы льда внутри и вне клеток; при медленном замораживании – крупные кристаллы, которые повреждают оболочку мышечных клеток. В результате вымерзания воды в мясе снижается влажность и повышается концентрация растворенных веществ, способствующие отмиранию микроорганизмов

Отмирание микроорганизмов происходит по мере понижения температуры; скорость находится в прямой зависимости от температуры. То есть ниже температура замораживания, тем выше скорость отмирания микроорганизмов. Например, при быстром замораживании до температуры $-18-20$ °С погибает значительно больше микробов, чем при медленном замораживании до температуры -12 °С. При хранении мороженого мяса происходит отмирание сохранившихся при замораживании микроорганизмов. При этом скорость отмирания находится в обратной зависимости от температуры хранения. В процессе замораживания и хранения в мясе микроорганизмы только отмирают. Однако, исследования и практика показывают, что мороженое мясо даже при длительном хранении не становится стерильным. Более того, на нем увеличивается количество некоторых групп микроорганизмов в результате оседания из воздуха и при соприкосновении с загрязненными поверхностями. Так, в замороженном мясе к концу хранения можно обнаружить жизнеспособных сапрофитных микроорганизмов – возбудителей порчи, а также токсигенных и патогенных микроорганизмов, отличающихся высокой устойчивостью к низкой температуре. Отметим, что в мороженом мясе к концу срока хранения изменяется и соотношение между разными группами микробов. Преобладающими могут стать не психрофильные сапрофиты, а холодоустойчивые мезофиллы и среди них патогенные и токсигенные бактерии.

Существенное значение в увеличении микробиальной обсемененности мяса имеет процесс оттаивания – **дефростация**. При оттаивании температура на поверхности мяса повышается, происходит выделение мышечного сока, т.е. создаются благоприятные условия для размножения микробов. Сохранившиеся микроорганизмы начинают интенсивно размножаться; активность во многом зависит от способа замораживания мяса. При медленной заморозке, когда образуются крупные кристаллы льда, повреждающие мышечные клетки, при дефростации выделяется много мышечного сока, что способствует размножению микроорганизмов; при быстром заморажи-

вании образуются мелкие кристаллы льда, не травмирующие мышечные клетки, поэтому выделяющийся мышечный сок всасывается обратно.

Большое влияние на интенсивность размножения микроорганизмов во время дефростации оказывает температура. Рекомендуется медленное размораживание при температуре 1-8 °С. При этом температура на поверхности мяса повышается медленно, одновременно происходит реабсорбция выделяющегося мышечного сока, т.е. размножение микроорганизмов не стимулируется. Быстрое размораживание при комнатной температуре способствует резкому повышению температуры на поверхности мяса и интенсивному размножению микроорганизмов.

Сказанное позволяет заключить о том, что начальной микробиальной обсемененности мяса перед поступлением на замораживание. Предохранение мяса от влияния микроорганизмов следует начинать с момента убоя животного и до поступления на оттаивание. В целях предотвращения порчи мороженого мяса нужно поддерживать постоянную температуру -18 °С при относительной влажности воздуха 90-95%, производить санитарную обработку помещения. В этом случае достигается максимальная продолжительность хранения мяса, равная для говядины и баранины 10-12 месяцам, телятины – 5-6 месяцам, свинины – 6-9 месяцам.

13.2.3. Микробиологическая порча мяса

Порча мяса следующих видов наступает в результате деятельности микроорганизмов в процессе хранения:

1. *Ослизнение* – это вид порчи охлажденного мяса к концу периода хранения. На поверхности мяса появляется сплошной слизистый налет серого и серо-зеленого цветов. Возбудителями порчи являются в основном бактерии рода *Pseudomonas* – грамотрицательные неспорообразующие палочки, обладающие высокой ферментативной активностью. Они накапливаются на поверхности и проникают вглубь мяса по соединительной ткани. При ослизнении происходит распад белков и жира, в результате чего качество мяса снижается. Скорость развития ослизнения зависит от влажности воздуха, температуры хранения и уровня исходной микробной обсемененности. И чем ниже температура и меньше относительная влажность воздуха, тем дольше сохраняется мясо без признаков порчи. Чем выше первоначальная обсемененность мяса микроорганизмами, тем быстрее появляются признаки ослизнения.

2. *Гниение* наступает при длительном хранении охлажденного мяса с признаками ослизнения. Его вызывают различные аэробные, факультативно- и облигатно анаэробные бактерии. При низкой температуре хранения, близкой к 0 °С, возбудителями гниения в основном являются психрофильные бактерии рода *Pseudomonas*; при повышенных температурах хранения в мясе развиваются мезофильные гнилостные бактерии: палочка протей, бациллы картофельно-сенной группы, клостридии. В процессе гниения происходит разрушение белковых молекул и накопление продуктов распада: аммиака, сероводорода, фенола, скатола, индола, меркаптанов, первичных аминов, которые обладают очень неприятным запахом и ядовитыми свойствами.

3. *Кислое брожение* развивается, как правило, в субпродуктах, богатых гликогеном (печень, сердце), реже в мышечной ткани. Продукт приобретает неприятный кислый запах, серый или зеленоватый цвет, понижается упругость ткани. Возбудителями порока являются психротрофные молочнокислые бактерии и дрожжи, которые сбраживают углеводы с образованием органических кислот.

4. *Пигментация* характеризуется появлением на поверхности мяса пигментных пятен, которые появляются при накоплении пигментообразующих аэробных бактерий. Например, палочка *Ps. prodigiosum* образует пятна красного цвета, синегнойная палочка *Ps. aeruginosa* – синего, флюоресцирующая палочка *Ps. fluorescens* – зеленого. Появление такого порока свидетельствует о серьезных нарушениях санитарно-гигиенического режима на предприятии.

5. *Плесневение* обычно наблюдается при относительно низкой температуре хранения (-5-10 °С) и пониженной влажности, т.к. плесневые грибы способны расти при данных температурах и менее требовательны к влаге, чем психрофильные бактерии. На поверхности мяса обычно наблюдается рост колоний плесневых грибов родов *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*. Плесени вызывают распад белков и жиров, повышение щелочности, мясо приобретает своеобразный затхлый запах. Обычно появление плесени наблюдается на тех участках туши, где интенсивнее движение воздуха и происходит увлажнение поверхности. При плесневении создаются благоприятные условия для последующего развития в мясе гнилостных бактерий.

13.3. Микробиология мясных продуктов: колбасные изделия

13.3.1. Динамика микрофлоры в процессе изготовления колбас

Колбасы относятся к продуктам, употребляемым в пищу без предварительной термической обработки, поэтому они должны отвечать высоким санитарным требованиям. Технологические процессы направлены на придание им соответствующих вкусовых свойств и на обезвреживание патогенных микроорганизмов. Источниками микрофлоры колбасных изделий является сырье и технологические операции подготовки и переработки сырья: разрубка туш, обвалка, жиловка, посол, составление колбасного фарша, наполнение фаршем колбасной оболочки. Таким образом, *сырье* является основным источником микробного обсеменения колбас. Для их производства допускается мясо, полученное от здоровых упитанных животных. Условногодное мясо можно применять для изготовления вареных колбас с разрешения ветеринарно-санитарного надзора после предварительной проварки и с обязательным микробиологическим исследованием готовой продукции; мясо пониженной свежести (с признаками ослизнения, плесневения) и имеющее загрязнение на поверхности разрешается использовать после санитарной обработки (промывки и зачистки) и микробиологическим контролем готовых колбас.

В процессе *разрубки туш, обвалки и жиловки* резко увеличивается количество микроорганизмов в мясе, т.к. все эти операции производятся вручную. В неповрежденной мышечной ткани микроорганизмы развиваются с трудом, т.к. она является препятствием для распространения микробов с поверхности в толщу мышц. При разрубке, обвалке и жиловке мышечная ткань измельчается, обнажаются внутренние участки, увеличивается площадь соприкосновения мяса с внешней средой. Микроорганизмы вносятся в мясо с рук рабочих, с инструментов, со столов, со спецодежды, из воздуха производственных помещений. Кроме того, происходит перераспределение микроорганизмов с поверхности на внутренние участки мышечной ткани. Степень микробного обсеменения находится в зависимости от величины кусков мяса: чем мельче куски и чем больше отношение поверхности к объему кусков, тем больше уровень их микробного обсеменения. Известно, что содержание микробов в мелких кусках почти в 100 раз превышает количество их в крупных кусках массой 1-2 кг. Микроорганизмы также размножаются на обвалочных столах, ножах, руках рабочих,

так как там накапливается кровь, мышечный сок, являющиеся благоприятной средой для развития микробов.

Качественный состав микрофлоры, обсеменяющей мясо, весьма разнообразен и складывается из различных сапрофитных и условно-патогенных микроорганизмов: гнилостных, кишечных, кокковых бактерий, плесневых грибов, дрожжей и проч.; возможно попадание и патогенных микроорганизмов (сальмонелл и проч.). Для уменьшения степени микробного обсеменения сырья на этом этапе необходимо сократить его продолжительность и выполнять подготовительные операции при пониженной температуре в цехе. Кроме того, следует соблюдать санитарно-гигиенический режим, заключающийся в тщательной санитарной обработке столов, ножей, спецодежды, тары, соблюдении личной гигиены работниками. В конце смены и перед началом работы обвалочные столы и ножи моют горячим содовым раствором, затем раствором хлорной извести. Руки необходимо мыть в течение смены несколько раз.

При *посоле* количество микроорганизмов в мясе увеличивается за счет обсеменения из посолочной смеси или рассола, с оборудования. В мясе возрастает количество различных солелюбивых и солеустойчивых микроорганизмов (аэробные споровые палочки, пигментные бактерии, микрококки, молочнокислые бактерии, дрожжи, плесени). Для уменьшения микробного загрязнения мяса при посоле рекомендуется применять стерильную посолочную смесь, рассолы хорошего качества, соблюдать температурный режим и сроки посола. Продолжительность посола для вареных колбас составляет 1-3 суток, для сырокопченых - 5-10 суток при температуре не выше 3-5 °С.

Для *изготовления фарша* производят измельчение мяса на волчке и куттере, фарш обрабатывают в смесильной машине, и при этом происходит дальнейшее обсеменение фарша микроорганизмами с оборудования, из воздуха и с рук рабочих. Кроме того, температурный режим на данной операции (температура 18-22 °С) способствует быстрому размножению микроорганизмов. При добавлении шпига и специй фарш обсеменяется микроорганизмами дополнительно. Со специями, особенно с перцем, в фарш попадает огромное количество спорообразующих бактерий. Так, лабораторными исследованиями установлено, что в 1 г черного перца содержится 10-12 млн. микробных клеток. В его микрофлоре преобладают бактерии картофельно-сенной группы, грибовидные палочки, капустные па-

лочки, могут быть и анаэробные бактерии. После внесения специй количество спор в колбасном фарше возрастает в 50-100 раз, поэтому их необходимо стерилизовать горячим воздухом. Использование стерильных специй позволяет значительно уменьшить микробное загрязнение колбасного фарша. Доказано, что стойкость в хранении колбас, изготовленных с добавлением стерильных специй, примерно в 4 раза выше, чем стойкость колбас, выработанных с нестерильными специями.

Для уменьшения уровня микробного загрязнения колбас фарш следует готовить с соблюдением необходимых санитарных правил. Машины для измельчения мяса и мешалки перед работой и в конце рабочего дня нужно промывать горячей водой и обрабатывать паром. Решетки, ножи, валы необходимо прочистить, тщательно вымыть горячим содовым раствором и просушить. Рабочие, обслуживающие машины, должны перед сменой и в процессе работы мыть и дезинфицировать руки 0,2%-ным раствором хлорной извести или хлорамином, следить за чистотой спецодежды. Важно регулярно проводить микробиологический контроль качества мойки оборудования, рук рабочих, состояния спецодежды

В процессе *набивки колбасной оболочки фаршем* микроорганизмы попадают с оборудования, с колбасных оболочек, с рук рабочих. Шприцевание является более гигиеничным методом набивки по сравнению с ручной набивкой колбас. Для уменьшения их микробного обсеменения нужно производить тщательную санитарную обработку шприцев перед началом работы. Источником загрязнения колбасного фарша микроорганизмами также служит и сама колбасная оболочка. Сравнивая естественные и искусственные колбасные оболочки, оптимально отдать предпочтение последним, т.к. при соблюдении санитарных требований хранения и транспортировки они содержат очень небольшое количество микроорганизмов. Естественные кишечные оболочки загрязнены разными микроорганизмами, многие из которых являются возбудителями порчи мяса и мясопродуктов. Качественная санитарная обработка (очистка, дезинфекция) позволяет существенно снизить содержание микроорганизмов на естественных колбасных оболочках. Очень важно, чтобы набивку колбасных батонов производили плотно и равномерно. При неплотной набивке внутри батона образуются пустоты (фонари), в которых скапливается влага и создаются благоприятные условия для развития микроорганизмов.

13.3.2. Влияние тепловой обработки на микрофлору вареных колбас

После наполнения колбасных оболочек фаршем микробное обсеменение колбас прекращается. При дальнейших технологических операциях происходят определенные изменения микрофлоры продукта. Так, осадка **вареных колбас** продолжается 2-4 часа при температуре не выше 2 °С и относительной влажности 85-95%. При соблюдении технологических параметров состав микрофлоры колбас в процессе осадки существенно не меняется. Повышение температуры и удлинение продолжительности осадки способствует размножению и накоплению микроорганизмов, в том числе токсигенных бактерий, например, *Cl. perfringens*.

Обжарка – обработка горячим дымом, имеющим температуру 80-110 °С в течение 1-1,5 часов. Ей подвергают все вареные колбасы, полукопченые и твердокопченые колбасы, сосиски. Под действием дыма оболочка и частично фарш с поверхности подсушиваются и уплотняются, в результате чего микроорганизмы в них частично погибают, а сохранившиеся перестают размножаться. Внутри колбасных батонов фарш нагревается. Внутри колбасных батонов диаметром 3-5 см температура в центре достигает 40-50 °С, и количество микробов уменьшается; в батонах диаметром 8-15 см температура в центре не превышает 40 °С, и микробы размножаются. Поэтому следует соблюдать сроки обжарки, т.к. при удлинении их количество микроорганизмов в колбасах увеличивается.

Варка колбас производится для придания продукту соответствующих вкусовых качеств и уничтожения в нем микроорганизмов. Во время варки должны погибнуть все патогенные микроорганизмы и большинство сапрофитных – возбудителей порчи. Колбасы варят паром при температуре 85-90 °С в течение от 10 мин до 2,5 часов. Температура внутри батонов достигает 70-72 °С. В колбасах отмирают 99-99,9% содержащихся в них микроорганизмов. Сохраняются лишь споры бактерий и небольшое количество термоустойчивых неспорообразующих бактерий, в основном кокков. Микробиальная обсемененность **сырых колбас** колеблется в широких пределах в зависимости от сорта колбас. Общее количество микроорганизмов в 1 г составляет десятки тысяч клеток в колбасах высших сортов, сотни тысяч и даже миллионы микробных клеток в колбасах низших сортов. После варки обсемененность резко снижается и составляет сотни клеток в колбасах высших сортов или несколько тысяч бактерий в низкосортных изделиях. В глубине батонов количество микробов больше, чем в по-

верхностных слоях за счет разной интенсивности прогрева. Готовые колбасы должны соответствовать высоким микробиологическим требованиям.

В них нормируется содержание патогенных, условно-патогенных и общее количество бактерий. Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов не должно превышать $1-2,5 \times 10^3$ КОЕ; сальмонеллы должны отсутствовать в 25 г продукта; облигатные анаэробы (сульфитредуцирующие клостридии) не допускаются в 0,01 г. Наличие бактерий группы кишечной палочки, протей, *Cl. Perfringens* свидетельствует о недостаточной термической обработке – недоваре. Высокая микробиальная обсемененность готового продукта может быть связана с нарушением санитарных норм или несоблюдением технологических режимов осадки, варки, а также зависит от первоначальной обсемененности сырья микроорганизмами. После варки колбасы охлаждают под душем до температуры 30-35 °С и далее в камере охлаждения до 4 °С для предотвращения быстрого размножения сохранившихся бактерий. Вареные колбасы относятся к скоропортящимся изделиям и должны быть реализованы в течение 72 часов.

При производстве **ливерных колбас** в качестве сырья используют субпродукты, печень, кровь, которые являются отличной питательной средой для развития микроорганизмов. В них кроме высокой температуры на микроорганизмы оказывают действие высушивание и антисептические вещества при холодном копчении, в кровяных колбасах - горячее копчение. При нарушении технологии горячего копчения в кровяных колбасах может увеличиться содержание микроорганизмов, что приводит к появлению органолептических изменений, особенно запаха.

13.3.3. Микробиология копченых и сыровяленых колбас

Копченые колбасы подразделяются на *сырокопченые* и *варенокопченые*. Технология изготовления сырокопченых колбас включает следующие этапы: осадку в течение 5-7 суток, копчение при температуре 18-25 °С, сушку продолжительностью до 1,5 месяцев. Разновидностью сырокопченых колбас являются *сыровяленые колбасы*, которые сушат без предварительного копчения. Важнейшим фактором консервирования является закисание (созревание) колбасного фарша и сушка колбасы. Вкус и запах готовой сырокопченой колбасы обуславливают различные добавки, ком-

поненты копильного дыма, а также значительное количество микроорганизмов, образующих полезную микрофлору этих изделий.

В ходе технологического процесса микрофлора сырокопченых колбас изменяется в количественном и качественном отношении. На начальных этапах количество микроорганизмов увеличивается, достигая миллионов клеток в 1 г. Состояние колбасного фарша оценивают как гигиенически удовлетворительное, если общая бактериальная обсемененность составляет не более 10^6 КОЕ, а клостридий не более 10 КОЕ в 1 г. К концу сушки количество микроорганизмов уменьшается в несколько раз. Качественный состав микрофлоры фарша в процессе созревания колбас также претерпевает изменения. Так, в составе первоначальной микрофлоры преобладают бактерии группы кишечной палочки, гнилостные бактерии, стафилококки. В небольшом количестве обнаруживают молочнокислые бактерии, микрококки, дрожжи. В процессе созревания колбас увеличивается количество молочнокислых бактерий, микрококков и дрожжей, они становятся преобладающими. По мере созревания в колбасах отмирают грамотрицательные палочки, гнилостные бактерии.

Изменение микрофлоры сырокопченых колбас связано с комплексным воздействием ряда факторов: повышение концентрации соли, антисептических копильных веществ, обезвоживание среды, снижение рН, микробный антагонизм. Молочнокислые бактерии, микрококки и дрожжи являются устойчивыми к повышенной концентрации поваренной соли, к копильным веществам, поэтому они активно размножаются в процессе сушки изделий. Они обладают антагонистическим действием на гнилостные бактерии, кишечные бактерии, стафилококки. Антагонистическое действие молочнокислых бактерий и микрококков обусловлено изменением рН колбасного фарша в кислую сторону, что неблагоприятно влияет на гнилостные бактерии. Кроме того, микробы-антагонисты вырабатывают антибиотические вещества.

Таким образом, под влиянием комплекса бактерицидных и бактериостатических факторов микрофлора сырокопченых колбас существенно меняется. Микрофлору готовых сырокопченых и сыровяленых колбас составляют молочнокислые бактерии видов *Lbs. plantarum*, *Lbs. brevis*, *Pediococcus cerevisiae*, *Leuconostoc dext.*, микрококки, дрожжи рода *Debariomycetes*. Она является полезной и оказывает существенное влияние на формирование специфических органолептических свойств сыровяленых

и сырокопченых колбас. В некоторых странах чистые культуры вышеуказанных микроорганизмов используют в качестве заквасок, которые вводят в колбасный фарш для получения высококачественных колбасных изделий. Положительные результаты получены при использовании дрожжей рода *Debariomycetes* для обработки поверхности сырокопченых колбас с целью предохранения от плесневения.

Варено-копченые колбасы изготавливаются по иной технологии, которая включает осадку в течение 1-3 суток, горячее копчение при температуре 50-60 °С, варку, вторичное копчение при температуре 32-45 °С, сушку в течение 5-7 суток. Изменение их микрофлоры происходит по тем же закономерностям, что и в сырокопченых колбасах. Однако, при варке большая часть микроорганизмов отмирает, в т.ч. кишечные палочки, протей, гнилостные бактерии, большинство молочнокислых бактерий и микрококков. В ходе последующих технологических этапов (вторичное копчение, сушка) происходит размножение сохранившихся после варки микроорганизмов, главным образом, молочнокислых бактерий и микрококков. Однако, общее количество микроорганизмов в варено-копченых колбасах значительно меньше, чем в сырокопченых. Микробиологические показатели копченых и сыровяленых колбас такие же, как и вареных. В тех случаях, если изделия не соответствуют нормативным показателям, то их направляют на повторную сушку в течение 7-10 суток. Если микробиологические показатели и после сушки остаются хуже нормативных, то колбасу перерабатывают в вареную.

13.3.4. Изменение микрофлоры колбасных изделий при хранении

Стойкость колбасных изделий при хранении определяется рядом факторов: *количественным и качественным составом остаточной микрофлоры, степенью обезвоженности, содержанием поваренной соли, значением рН, концентрацией коптильных веществ, консистенцией продукта.* Самыми устойчивыми в хранении являются сырокопченые колбасы, что объясняется наиболее низким содержанием влаги, наибольшей концентрацией соли и антисептических коптильных веществ, кислой реакцией фарша (рН 6,2-6,4), плотной консистенцией продукта. Большое значение для стойкости этих колбас имеет остаточная микрофлора, обладающая антагонистическим действием в отношении гнилостных микроорганизмов. Хранить сырокопченую колбасу рекомендуется при 4-6 °С; продолжитель-

ность сохранения качества колбасы колеблется от 1-2 недель до 6 месяцев в зависимости от сорта и метода изготовления. Допускается непродолжительное хранение при комнатной температуре.

Варено-копченые колбасы менее стойкие в хранении. Продолжительность сохранения качества продукта при температуре 4-6 °С составляет 3-5 дней; в замороженном состоянии варено-копченые колбасы могут сохраняться до 6 месяцев. После такого хранения возможно возникновение такого порока как размягчение и потеря коптильного аромата. Наименее стойкими в хранении являются вареные колбасы, что связано с довольно высоким содержанием влаги (около 60%) и менее плотной консистенцией изделий. Самой меньшей стойкостью в хранении обладают субпродуктовые колбасы, в которых условия для размножения микроорганизмов самые благоприятные, что обусловлено составом сырья (субпродукты), рыхлой консистенцией фарша, наличием пористой оболочки, которую не подвергают обжарке, проницаемой для микробов, более высокими значениями рН (6,7-6,9). Вареные колбасы можно хранить при температуре 2-4 °С в течение 1-2 недель.

13.3.5. Микробиологическая порча колбасных изделий

При длительном или неправильном хранении в колбасах происходит размножение сохранившихся микроорганизмов и попавших с поверхности, что приводит к их **порче**. Различают следующие ее виды:

1. *Кислое брожение* – наблюдается в вареных мясных и ливерных колбасах, имеющих высокую влажность, содержащих муку и растительные примеси. Возбудителями порока являются молочнокислые бактерии, кишечные палочки, дрожжи и проч. Микроорганизмы разлагают углеводы с образованием молочной и других органических кислот, в результате чего продукт приобретает кислый вкус и запах, цвет и консистенция колбас не изменяется. При доступе кислорода фарш приобретает серо-зеленый цвет.

2. *Гниение* – обусловлено деятельностью гнилостных бактерий, которые попадают в колбасы при нарушении санитарного и технологического режимов производства. Оно отличается тем, что гнилостное разложение происходит во всей массе батона, сопровождается размягчением и выделением дурно пахнущих газов. В копченых колбасах обнаружить гнилостную порчу трудно, т.к. запах маскируется запахом коптильных веществ.

3. *Прогорклость* – наблюдается при длительном хранении копченых колбас. Возбудителями порока являются микроорганизмы, обладающие липолитическими свойствами: бактерии рода псевдомонас, плесневые грибы. В колбасах происходит глубокое разложение жира с накоплением альдегидов и кетонов, в результате чего продукт приобретает прогорклый вкус и едкий запах.

4. *Плесневение* – является наиболее частым пороком копченых колбас при длительном хранении в условиях повышенной влажности. Как правило, плесени развиваются на оболочке колбасных батонов, образуя сухие и влажные налеты. При неплотной набивке плесени прорастают внутрь батона. Колбасы с обильным ростом плесеней подвергаются санитарной обработке и перерабатываются в низшие сорта колбас. Налеты плесени с оболочки удаляют протиранием, мойкой с последующим подсушиванием.

13.4. Методы санитарно-микробиологического исследования мяса и мясных продуктов

13.4.1. Методы санитарно-микробиологического исследования свежего мяса

Бактериологическое исследование мяса и мясопродуктов проводится для предупреждения: заражения рабочих, занимающихся убоем скота и переработкой мяса; допуска в пищу мяса и мясопродуктов, полученных от животных, имевших инфекционные заболевания; выпуска в реализацию продуктов, употребление которых может вызвать у людей пищевые токсикоинфекции или токсикозы, а также распространение инфекций. Микробиологические анализы осуществляют в бактериологической лаборатории предприятия в соответствии с действующими ГОСТами или нормативно-технической документацией. Микробиологическое исследование свежего мяса начинают с микроскопического исследования мазков-отпечатков (*бактериоскопический метод*), а затем проводят бактериологический анализ.

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

бирскую язву направляют лимфатический узел, собирающий лимфу с места локализации пораженного очага, отечную ткань, а у свиней, кроме того – подчелюстной лимфатический узел. Для исследования на листериоз направляют головной мозг, долю печени и почку. При исследовании полу-туши и четверти туши берут кусок мышцы, лимфатические узлы и трубчатую кость. Каждый образец упаковывают отдельно в пергаментную бумагу, ставят дату, место взятия проб, вид животного, номер туши, причину и цель исследования и отправляют в лабораторию.

Бактериоскопический метод – это совокупность способов обнаружения и изучения морфологических и тинкториальных свойств бактерий (микробов) в лабораторных условиях. В лабораторной практике используют следующие типы микроскопических препаратов: препарат-отпечаток, висячую каплю, раздавленную каплю, тонкий мазок, фиксированный окрашенный препарат. Такое исследование мяса проводят в случае *расхождения результатов между биохимическими и органолептическими методами оценки*. Необходимость в бактериоскопическом исследовании свежести мяса отпадает в случае отрицательного результата при органолептическом анализе.

Итак, из каждой пробы мяса необходимо приготовить *не менее двух мазков-отпечатков*. Для приготовления одного мазка-отпечатка из поверхностного слоя (на глубине 2-3 см) стерильными ножницами или скальпелем вырезают кусочек мяса массой 2-3 г, прикладывают его внутренней срезанной стороной к предварительно профламбированной поверхности предметного стекла. Для приготовления мазков-отпечатков из глубоких слоев поверхность пробы мяса необходимо сначала простерилизовать (смочить спиртом и обжечь на пламени или прижечь нагретым металлическим шпателем). Затем стерильным инструментом вырезать из глубины небольшие кусочки мяса размером $2 \times 1,5 \times 2,5$ см и сделать мазки-отпечатки. Приготовленные на предметных стеклах мазки-отпечатки необходимо высушить на воздухе, зафиксировать в пламени горелки или спиртовки и окрасить по методу Грама. Каждый из них просмотреть под микроскопом с иммерсионным объективом не менее чем в 25 разных полях зрения.

При микроскопировании подсчитывают отдельно число клеток бактерий (кокков и палочек) и дрожжей в каждом просмотренном поле зрения, результатом является среднее значение общего количества клеток по два-

дцати пяти полям зрения. Отмечают также наличие или отсутствие следов распада мышечной ткани в поле зрения микроскопа. Результаты микроскопирования оценивают в соответствии с данными, представленными в **таблице 13.1**. При отсутствии бактерий, похожих на сибиреязвенные, из образцов мяса и субпродуктов проводят посевы на питательные среды для выявления в них возбудителей пищевых токсикоинфекций (бактерий родов *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*), возбудителей зооантропонозов (бацилл сибирской язвы, бактерий листериоза, рожи свиней и проч.) и анаэробов (патогенных и токсикогенных клостридий).

Таблица 13.1 – Оценка результатов бактериоскопического анализа мяса²³³

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

При **бактериологическом исследовании** каждую пробу освобождают от жировой и соединительной тканей, погружают в спирт, затем вырезают стерильными ножницами из глубины различных мест кусочки размером 2,0×1,5×2,5 см. Затем все вырезанные кусочки измельчают стерильными ножницами. Для посева составляют пробы по 15 г. Одна проба состоит из кусочков мышц и лимфатических узлов, а другая - из кусочков паренхиматозных органов. Из каждой пробы готовят в стерильной ступке взвесь с содержанием в 1 см³ 0,5 г продукта.

²³³ **Прим:** при обнаружении в мазках-отпечатках грамположительных палочек с обрубленными концами последние окрашивают 2 %-ном раствором сафранина. Наличие в мазках, окрашенных сафранином, палочек или цепочек с капсулами свидетельствует о присутствии возбудителя сибирской язвы.

На следующем этапе определяется *общее количество микроорганизмов (КМАФАнМ)*. Метод основан на способности мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов размножаться на плотном питательном агаре при температуре 37 ± 1 °С в течение 72 ч. Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения. При исследовании свежего мяса в питательную среду засевают разведения от 10^{-1} до 10^{-3} . Для посева 0,1 г продукта (разведение 10^{-1}) готовят первое десятикратное разведение взвеси: стерильной пипеткой набирают 1 см³ взвеси, переносят ее в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора (1 см³ полученного раствора содержит 0,1 г продукта); для посева 0,01 г продукта (разведение 10^{-2}) готовят второе десятикратное разведение: стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки с первым разведением, набирают 1 см³ и переносят в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора (1 см³ полученного раствора содержит 0,01 г продукта); для посева 0,001 г продукта (разведение 10^{-3}) готовят третье десятикратное разведение: стерильной пипеткой перемешивают содержимое пробирки со вторым разведением, набирают 1 см³ и переносят в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора (1 см³ раствора содержит 0,001 г продукта).

По 1 см³ каждого разведения засевают в чашки Петри с заранее маркированной крышкой и заливают 10-15 см³ расплавленного и остуженного до температуры 40-45 °С мясопептонного агара. Сразу после заливки агара содержимое чашек Петри тщательно перемешивают путем легкого покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде на 72 ч в термостат с температурой 37 °С.

По окончании культивирования подсчитывают количество выросших на чашках с мясопептонным агаром колоний. При этом используют лупу с увеличением в 4-10 раз или пользуются специальным прибором для подсчета колоний. При большом числе колоний и их равномерном распределении в агаре на дно чашки Петри наносят четыре или более одинаковых секторов, подсчитывают число колоний в двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в 1 см³ свежего мяса вычисляют по формуле:

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

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

Следующим этапом является определение *бактерий группы кишечной палочки*. Метод основан на обнаружении образования газа или кислоты в элективной питательной среде, содержащей лактозу (среды Кесслера, Хейфеца, Кода). Метод учета этих бактерий получил уже известное уважаемому читателю название бродильного метода, смысл которого заключается в посеве определенного количества продукта или его разведений в жидкую питательную среду с последующим инкубированием при температуре 37 °С и обнаружении в поплавках газа с изменением цвета среды. При обнаружении газа в пробирках на втором этапе исследования, производят пересев материала из забродивших пробирок на среду Эндо. Пересев делается бактериологической петлей густым штрихом для получения изолированной колонии. Чашки Петри с посевами инкубируют при температуре 37 °С в течение 24 ч, затем посеvy просматривают. На среде Эндо бактерии группы кишечной палочки вырастают, образуя ярко красные блестящие колонии с металлическим блеском (или без него). При отсутствии на ней характерных для этих бактерий ярко красных колоний с металлическим блеском или без него дают отрицательный ответ на наличие кишечных палочек и исследование прекращают. При обнаружении на среде Эндо типичных для бактерий группы кишечной палочки колоний устанавливается принадлежность выросших микроорганизмов к семейству кишечных бактерий. Для этого проводят тест на оксидазу (для БГКП она должна быть отрицательной). Затем из колоний, характерных для кишечных палочек, готовят фиксированный препарат, окрашивают его по Граму и микроскопируют. Под микроскопом должны обнаруживаться мелкие граммотрицательные палочки с закругленными концами. В этом случае ответ на присутствие БГКП в продукте считается положительным.

Далее определяют *бактерии рода Proteus*. Присутствие их в свежем мясе в больших количествах свидетельствует о наличии гнилостного разложения мясных белков. Для обнаружения протей проводят посев по Шу-

кевичу: соскоб с поверхности свежего разреза исследуемого образца вносят в конденсационную воду свежескошенного мясопептонного агара в пробирках, не касаясь поверхности среды. Пробирки в вертикальном положении помещают на 18-24 ч в термостат с температурой 37 °С. Наличие на среде в пробирках вуалеобразного налета, при микроскопировании которого обнаруживают подвижные палочки, отрицательно окрашивающиеся по Граму, указывает на присутствие протей в исследуемых образцах. Биохимические свойства видов бактерий рода *Proteus* приведены в **таблице 13.2**.

Таблица 13.2 – Биохимические свойства бактерий рода *Proteus*

Вид микроорганизма	Сбраживание углеводов					Разжижение желатина	Выделение H ₂ S	Образование индола	Расщепление мочевины
	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза				
<i>P. vulgaris</i>	-	кГ ²³⁴	-	кГ	кГ	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	кГ	-	к	-	+	+	-	+
<i>P. morganii</i>	-	кГ	-	-	-	-	+	+	+

При микробиологическом контроле проводят суммарное определение всех видов бактерий рода *Proteus*. К общим их свойствам относят положительные реакции с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра, образование индола и сероводорода, способность расщеплять мочевину и неспособность сбраживать лактозу и маннит.

Бактерии рода Salmonella занимают первое место среди микроорганизмов, вызывающих пищевые отравления. Для их выявления навеску продукта массой 25 г объединенной пробы вносят во флакон, содержащий 100 см³ среды накопления (Кауфмана, Мюллера, Киллиана, хлористомagneзиевой «М» или селенитового Ф-бульона), и помещают в термостат для культивирования при температуре 37 °С. На селенитовом Ф-бульоне оптимальная температура для накопления сальмонелл 43±1 °С. Через 16-24 ч делают посев из среды накопления на среду Эндо, Левина, Плоскирева или висмут-сульфитный агар (ВСА), распределяя материал микробиологиче-

²³⁴ Прим.: кГ – при сбраживании углеводов образуются кислота и газ; к - при сбраживании углеводов образуется кислота.

ским шпателем по поверхности среды. Посевы культивируют при температуре 37 ± 1 °С в течение 20-24 ч. Сальмонеллы не ферментируют лактозу и дают типичный рост на селективно-дифференциальных средах: Эндо сальмонеллы растут в виде круглых бесцветных или слегка розоватых прозрачных или полупрозрачных колоний; Левина сальмонеллы образуют прозрачные, бледные, нежно-розовые или розовато-фиолетовые колонии; Плоскирева колонии сальмонелл бесцветные, среда при обильном их росте желтеет; на висмут-сульфитном агаре сальмонеллы формируют черные или коричневые колонии с характерным металлическим блеском. При этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией. При обнаружении на чашках подозрительных колоний из части колонии готовят фиксированный препарат, окрашивают по Граму и микроскопируют.

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

Для бактериологического исследования берут навеску мяса массой 10 г и растирают ее в ступке, добавляя двойное количество стерильного физиологического раствора для получения взвеси. На одну пробу необходимо четыре пробирки со средой Китта-Тароцци, которые предварительно прогревают (регенерируют) на кипящей водяной бане в течение 20-30 мин и быстро охлаждают до температуры 50 °С. В каждую пробирку засевают по 3-5 см³ приготовленной взвеси, после чего посевы в двух пробирках прогревают при температуре 80 °С в течение 30 мин для уничтожения вегетативной микрофлоры и выявления спорных форм анаэробов, а две другие не прогревают. Посевы помещают в термостат с температурой 37 ± 1 °С на 5-10 сут.

При исследовании на присутствие возбудителей ботулизма типа E (*Clostridium botulinum*) посев также делают в четыре пробирки со средой Китта-Тароцци, но перед термостатированием одну пробирку подогревают

при температуре 80 °С в течение 30 мин, а другую - при температуре 60 °С в течение 15 мин (при этом сохраняются споры *C. botulinum* типа E). Две другие пробирки с посевами оставляют непрогретыми. Прогретые пробирки выдерживают в термостате с температурой 28±1 С, а две другие - в термостате с температурой 37±1 °С. Посевы просматривают ежедневно. Рост *C. botulinum* характеризуется газообразованием и помутнением среды. При обнаружении роста производят микроскопию мазков, окрашенных про Граму.

Микробиологические показатели мяса и мясных полуфабрикатов приведены в **таблице 12.3**.

Таблица 12.3 – Микробиологические показатели мяса и мясных полуфабрикатов

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи и плесени, КОЕ/г
		БГКП	Proteus	Сульфит- редуцирующие бактерии	
1. Мясо парное и охлажденное: парное в тушах и полутушах	10	1,0	-	-	-
– охлажденное в ту- шах, полутушах, чет- вертинах, отрубях	$1 \cdot 10^3$	0,1			
– охлажденное в от- рубях, упакованное под вакуумом или в МГС	$1 \cdot 10^4$	0,01	0,1	0,01	Дрожжи не более 1×10^3
2. Мясо заморожен- ное: в тушах, полу- тушах,	$1 \cdot 10^4$	0,01	-	-	
– четвертинах, отру- бах блоки из мяса	$5 \cdot 10^5$	0,0001			
– мясо механической обвалки	$5 \cdot 10^6$	0,0001	-	-	Плесени не более
3. Полуфабрикаты рубленые, фарш (охлажденные, замо- роженные)					500

13.4.2. Методы санитарно-микробиологического исследования колбасных изделий

Колбасные изделия, как было отмечено выше, являются достаточно благоприятной средой для развития микроорганизмов различных групп, вызывающих их порчу. **Микробиологический контроль колбасных изделий** проводят: периодически для проверки соблюдения санитарного и технологического режимов производства, но не реже одного раза в 10 дней; по требованию контролирующих организаций; в случаях установления использования подозрительного по доброкачественности сырья и вспомогательных материалов; нарушения температурного или санитарно-гигиенического режима производства.

Периодические исследования по предупредительному контролю соблюдения санитарного и технологического режимов колбасного производства проводят в *следующие сроки*: для колбас фаршированных, ливерных, кровяных высшего, I и II сортов, зельцев высшего, I и II сортов – не реже одного раза в 15 дней; для колбас вареных высшего, I и II сортов, мясных хлебов, сосисок, сарделек – не реже одного раза в 15 дней; для колбас ливерных и кровяных III сорта, зельцев III сорта, студней и паштетов – не реже одного раза в 5 дней; для колбас полукопченых, варено-копченых и сырокопченых - не реже одного раза в месяц; для продуктов из свинины, говядины, баранины, мяса птицы и других видов убойных животных: вареных, запеченных, жареных - не реже одного раза в 15 дней; копчено-вареных, копчено-запеченных, сырокопченых - не реже одного раза в месяц.

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

Пробы для микробиологического исследования отбирают согласно нормативной документации от каждой партии (одного вида, сорта, наименования, выработанных в одной смене и проч.). Их хранят при температуре от 4 до 6 °С не более 4 ч с момента отбора. Для микробиологического исследования составляют объединенную пробу массой 50 г. Объединенную пробу готовят следующим образом: отобранные для исследования изделия помещают в эмалированный тазик, который протирают тампоном,

смоченным спиртом, и обжигают над пламенем. Батоны разрезают стерильным скальпелем на две половины, не рассекая оболочки противоположной стороны батона. Пробу отбирают из нескольких участков центральной части и из-под оболочки обеих половин батона. Из объединенной пробы каждого образца берут в стерильную посуду навеску массой $20 \pm 0,1$ г, которую помещают в стерильный стакан гомогенизатора, добавляют 80 см^3 стерильного физиологического раствора и гомогенизируют. При отсутствии гомогенизатора для приготовления взвеси используют стерильную ступку, растирая 20 г продукта с 2-3 г стерильного песка, постепенно приливая 80 см^3 стерильного физиологического раствора. Взвесь отстаивают при комнатной температуре в течение 15 мин. В 1 см^3 взвеси содержится 0,2 г исследуемого продукта.

Для *определения КМАФАнМ* навеску исследуемого продукта (масса 10 г) помещают в стерильную фарфоровую ступку и тщательно растирают стерильным пестиком, постепенно приливая 90 см^3 стерильного физиологического раствора с учетом разведения материала в соотношении 1:10. После отстаивания при комнатной температуре в течение 15 мин 1 см^3 приготовленной взвеси высевают на питательные среды. Определение общего количества микробов (КМАФАнМ), титра бактерий группы кишечной палочки, выявление бактерий родов *Salmonella* и *Proteus* проводятся по методике, приведенной в предыдущем параграфе.

Для выявления *коагулазоположительных стафилококков* из первого разведения колбасных изделий делают посев по методу Дригальского на желточно-солевой агар (ЖСА), содержащий 6,5 % NaCl, для выявления лецитиназной активности коагулазоположительных стафилококков. Посевы термостатируют при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Колонии токсикогенных стафилококков образуют на среде ЖСА «радужный венчик». Из подозрительных колоний готовят мазки и окрашивают их по Граму. Для подтверждения патогенности стафилококков ставят реакцию плазмокоагуляции. Наличие грамположительных стафилококков, давших положительную реакцию плазмокоагуляции и реакцию на лецитиназу, свидетельствует о присутствии токсикогенных стафилококков.

Определение *сульфитредуцирующие клостридии* основано на учете специфического роста клостридий в средах, содержащих железа сульфит. При взаимодействии натрия сульфита с железа хлоридом образуется железа сульфат, вызывающий почернение среды. Выявление вегетативных кле-

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

Для выявления сульфитредуцирующих клостридий в пробирки, содержащие по 9 см³ расплавленной и охлажденной до 45 °С среды Вильсона-Блера, вносят по 1 см³ десятикратных разведений (от 10⁻¹ до 10⁻⁷) взвеси исследуемого продукта. Тщательно перемешивают посевной материал, помещают в термостат и культивируют при температуре 46 °С в течение 8-12 ч или при температуре 37 °С в течение 20 ч. Появление на среде черных колоний или почернение среды свидетельствует о присутствии в исследуемом продукте сульфитредуцирующих клостридий.

За положительный титр клостридий принимают то максимальное количество взвеси, в посеве которой произошло почернение среды. Например, если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10⁻², то считают, что в 1 г исследуемого продукта содержится 1 х 10² микробных клеток. В случае отсутствия роста на элективных средах и при наличии роста на средах обогащения посеvy из этих сред пересевают в чашки Петри со средой Эндо и инкубируют в термостате с температурой 37 °С в течение 24 ч. В дальнейшем исследование проводят по методике бактериологического исследования мяса.

В **таблице 13.4** приведены микробиологические показатели колбасных изделий.

Таблица 13.4 – Микробиологические показатели колбасных изделий

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

Вопросы для самоконтроля

1. Какие операции осуществляются в убойном цехе?
2. Из чего состоит микрофлора организма животных?
3. Что такое лаг-фаза. Что на ней происходит?
4. Каковы сроки хранения охлажденного мяса при температуре $-1,5-0$ °С и относительной влажности 85-90%?
5. Дайте определение понятию «дефростация».
6. Назовите основные виды микробиологической порчи мяса.
7. Какие виды тепловой обработки вареных колбас Вы знаете?
8. Какие факторы влияют на стойкость колбасных изделий при хранении?
9. Назовите основные виды микробиологической порчи колбас.
10. Дайте краткую характеристику бактериологического метода исследования колбас.

Глава 14. Санитарно-микробиологическое исследование плодов, овощей и продуктов переработки

14.1. Микрофлора свежих плодов и овощей

На поверхности **плодов и овощей** (кожице) постоянно присутствуют различные микроорганизмы, большая часть которых не участвует в процессах заболеваний и порчи и находится в неактивном состоянии (**см. подробнее пп. 14.2**). Если кожица не повреждена и на поверхности находится незначительное количество питательных веществ, на ней могут существовать и размножаться самые разные виды микроорганизмов, которые называются **эпифитной микрофлорой**. Видовой состав и численность этой микрофлоры зависят от вида растений, географических, климатических и других условий их произрастания. Микроорганизмы, развивающиеся на плодах и овощах, по времени и месту их наибольшей активности могут быть подразделены на *три группы*.

К **первой группе** относятся микроорганизмы, которые развиваются на плодах, клубнях и других запасающих органах растений исключительно во время хранения и не поражают растения в период вегетации; это типичные сапрофиты, распространенные повсеместно. Их споры в больших количествах могут встречаться в почве, воздухе, в помещениях овоще- и плодохранилищ. Сапрофиты способны вызывать заболевания только ослабленных растений через поврежденные покровы. Микроорганизмы этой группы, используя питательные вещества растительных тканей, вызывают серьезные нарушения во всех звеньях обмена веществ и ферментов, а затем развиваются на мертвой ткани, как и на любом другом органическом субстрате. Весь цикл их развития может проходить в хранилище. Так, споры, находящиеся в воздухе, а также занесенные с частицами почвы и растительных остатков, вызывают заражение поврежденных при уборке и транспортировании плодов и овощей. Далее быстро наступает новое спороношение, и большое число пылевидных спор разносится по хранилищу, вызывая вторичные заражения. Неблагоприятными условиями хранения являются слишком высокая температура и влажность, способствующие заражению.

К микроорганизмам первой группы относятся: *Rhizopus nigricans* – возбудитель черной плесневидной гнили многих плодов; *Aspergillus niger* –

возбудитель черной плесневидной гнили цитрусовых; *Penicillium digitatum* – возбудитель оливковой плесневидной гнили цитрусовых; *Erwima carotovora* – возбудитель мокрой бактериальной гнили овощей.

Ко **второй группе** относятся микроорганизмы, которые заражают растения на поздних стадиях вегетации в поле, в основном при неблагоприятных погодных условиях, однако, их активность особенно сильно проявляется при хранении. Важно отметить, что эти микроорганизмы обладают более развитыми паразитическими свойствами по сравнению с микроорганизмами первой группы. Их можно назвать *факультативными паразитами*, т.е. микроорганизмами, способными переходить к паразитическому образу жизни только при определенных условиях. В почве они обычно не развиваются, т.к. не выдерживают конкуренции с почвенными сапрофитами; они нуждаются в растительных остатках, на которых проходят ряд стадий своего развития. Эти микроорганизмы способны заражать только ослабленные и поврежденные плоды и овощи, и патогенность их высока: проникнув в растение, они быстро вызывают нарушение жизнедеятельности и гибель клеток. Также микроорганизмы этой группы в своем развитии более тесно связаны с растениями, чем представители первой группы.

К представителям второй группы микроорганизмов относятся: *Fusarium* – возбудитель фузариоза картофеля; *Phytophthora infestans* – возбудитель фитофтороза картофеля; *Sclerotinia libertiana* – возбудитель белых гнилей многих плодов и овощей, особенно моркови; *Botrytis cinerea* – широко распространенный возбудитель серой гнили многих плодов и овощей; *Phoma* – возбудитель фомоза моркови и свеклы; *Rhizoctonia* – возбудитель гнили корнеплодов.

Наконец, к **третьей группе** относятся микроорганизмы, которые поражают лишь вегетирующие растения. Плоды и овощи, зараженные ими еще во время вегетации, гораздо легче поражаются при хранении микроорганизмами первой и второй группы. Например, кочаны капусты, зараженные в поле ложномучнистой росой, сильнее подвержены повреждению серой плесенью и бактериальными гнилями в процессе хранения. Микроорганизмы третьей группы обладают хорошо выраженными паразитическими свойствами и способны заражать сильные растения. Непосредственная их активность проявляется, по преимуществу, в поле и выражается в снижении активности фотосинтеза, увеличении транспирации и ослаблении

растений, что приводит к снижению урожая. Некоторые из микроорганизмов не влияют существенно на качество продукции, однако, снижают ее товарную ценность путем ухудшения внешнего вида (например, парша яблок и груш). Представители третьей группы микробов заканчивают весь цикл развития за период вегетации. Зимующие стадии паразитов развиваются на растительных остатках в поле и прорастают там весной, заражая новые растения.

14.2. Болезни плодов и овощей, вызываемых микроорганизмами

Болезни плодов и овощей вызываются *фитопатогенными микроорганизмами*, которые могут вызвать инфекционные заболевания не только плодов и овощей, но и вегетативных растений. К ним относятся:

– *фузариоз*; вызывается грибами рода *Fusarium*. Эта болезнь характерна для клубней картофеля, лука. Так, например, на поверхности клубней картофеля появляются выпуклые, различной окраски подушечки, представляющие собой мицелий гриба. В дальнейшем клубни сморщиваются, высыхают, приобретают темно-бурую окраску. В свою очередь, пораженные чешуи лука буреют и размягчаются. Луковица с поверхности покрывается белым налетом;

– *фитофтороз*; наиболее распространенная болезнь клубней картофеля, вызываемая грибом фитофторой. На поврежденных клубнях образуются свинцово-сероватые, а затем бурые вдавленные пятна с покрывающим их беловатым налетом. В них обнаруживаются побуревшие участки загнившей ткани в виде зубчиков на границе со здоровой тканью. Фитофтороз бывает также у томатов, причем болезнь поражает незрелые плоды, при этом пораженная ткань становится светло-коричневой;

– *фомоз* (черная сухая гниль или гниль сердечка); вызывается грибом *Phoma* и поражает различные органы свеклы. На листьях появляются желтовато-бурые пятна с концентрическими зонами, на стеблях образуются белые пятна. Пораженная ткань корнеплода становится черной, сухой и твердой. Болезнь продолжается и при хранении овоща;

– *монилиоз* (плодовая гниль плодов и овощей); заболевание, вызываемое грибом рода *Monilia*. На коже плодов появляются характерные буровато-коричневые пятна, которые быстро разрастаются и захватывают весь плод. Мякоть плода буреет, размягчается и становится губчатой. На поверхности пораженных участков появляются желтовато-серые борода-

вочки, располагающиеся концентрическими кольцами. При понижении температуры плоды чернеют, твердеют, поверхность их становится блестящей, как бы лакированной. Монилия поражает и косточковые плоды (абрикосы, персики, вишню);

– *парша картофеля*; вызывается различными формами почвенных актиномицетов, чаще рода *Streptomyces*. На коже появляются раскрывающиеся небольшие выпуклости – коростинки коричневого цвета. Клубень приобретает неприятный землистый запах;

– *сосудистый бактериоз*; вызывается палочковидной холодоустойчивой бактерией рода *Xanthomonas* (ксантомонес). Поражает капусту, при этом жилки листьев чернеют. Бактериозы чаще бывают у овощей, у которых реакция среды сока близка к нейтральной;

– *мокрая бактериальная гниль овощей*; вызывается бактериями родов *Pseudomonas* и *Erwinia*. Как правило, она начинается с кончика корнеплода. Пораженная ткань быстро размягчается и превращается в слизистую кашицеобразную массу с неприятным запахом. Помимо моркови и свеклы гниль поражает картофель, томаты, лук при их хранении;

– *черная сухая гниль (альтернариоз)*; вызывается грибом рода *Alternaria*. Он поражает морковь, томаты, капусту, плоды, лимоны, мандарины. Ткани плодов и овощей при этом буреют, затем чернеют и уплотняются. На срезе растительная ткань угольно-черного цвета, резко ограничена от здоровой ткани;

– *серая гниль*; вызывается грибом рода *Botrytis*, который поражает морковь, лук (шейковая гниль лука). Пораженные участки мякоти приобретают коричневую окраску и размягчаются. При поражении лука чешуи приобретают желтовато-розовую окраску, становятся водянистыми, как бы вареными;

– *белая гниль моркови и других корнеплодов*; вызывается грибом рода *Sclerotinia*. Его мицелий внедряется в ткани корнеплодов, образуя местами белые пушистые налеты. Мякоть корнеплодов размягчается, становится кашицеобразной массой бурого цвета;

– *гниль цитрусовых* в период хранения вызывают преимущественно грибы рода *Penicillium*.

14.3. Микрофлора овощей и плодов при квашении, солении, мариновании

Микрофлора квашеных, соленых, моченых овощей и плодов представлена различными молочнокислыми бактериями. В активной фазе брожения их количество в 1 г продукта может достигать 500 млн. В готовых продуктах выживают лишь анаэробные и факультативно-анаэробные, кислотоустойчивые, малочувствительные формы бактерий – плантарум, бреввис и некоторые другие; последние относятся к гетероферментативным. Образуя значительные количества уксусной и молочной кислот, этилового спирта, углекислого газа, эфиров, диацетила, они придают квашеным овощам приятный вкус.

В глубинных слоях квашеных овощей (в дошниках, бочках) при повышенной температуре хранения могут развиваться маслянокислые бактерии, вызывающие размягчение консистенции, придающие тяжелый запах и неприятный вкус. Поверхностные слои могут заселяться дрожжами, плесневыми грибами, в результате чего рассол опресняется, а консистенция размягчается. При обильном развитии в поверхностном слое плесневых грибов создаются благоприятные условия для гнилостных бактерий, вызывающих глубокую порчу.

Квашение (соление) – распространенный способ консервирования, основанный на образовании молочной кислоты в результате сбраживания сахаров продукта молочнокислыми бактериями, имеющимися на поверхности сырья и в воздухе. Кислота подавляет жизнедеятельность гнилостных бактерий. Для ускорения процесса ее накопления более оптимально использовать сырье со значительным количеством сахара (в капусте – 4-5 %, в огурцах – 2,0-2,5%). Повышению качества продуктов квашения и ускорению процесса квашения способствуют закваски из чистых культур молочнокислых бактерий.

Помимо молочнокислого брожения, при квашении происходит и спиртовое брожение, вызываемое дрожжами. Спирт в соединении с молочной и другими кислотами образует сложные эфиры, которые придают квашеным продуктам специфический аромат. При квашении добавляют соль, влияющую на вкус квашеных продуктов, повышает плотность их тканей. Кроме того, благодаря разности между концентрацией соли в тканевой жидкости и в растворе соли возникает осмотическое давление, вызывающее диффузию клеточного сока из продукта и проникновения соли в

него. Вместе с клеточным соком продукта в рассол переходят сахара и другие вещества.

Для квашения используют *белокачанную капусту* средних и поздних сортов. Овощ, очищенный от загрязнений и зеленых листьев, шинкуют или рубят. Для улучшения качества к капусте добавляют нарезанные морковь, яблоки, клюкву, бруснику, тмин, лавровый лист. Все компоненты закладывают в тару (бочки, дощники, контейнеры), плотно утрамбовывают и оставляют на брожение. По способу приготовления квашеную капусту делят на следующие виды: *шинкованная, рубленая, цельно-качанная, кочанная с рубленой или шинкованной, провансаль*. По качеству квашеную капусту делят на *1-й и 2-й товарные сорта*; первая должна быть равномерно нарублена или нашинкована, светло-соломенного цвета с желтоватым оттенком, сочной, упругой, хрустящей консистенции; кисло-солоноватого вкуса без горечи, со слегка мутноватым соком. Содержание соли должно быть 1,2-1,8%, кислотность 0,7-1,3%. Квашенная капуста второго сорта может иметь светло-желтый с зеленоватым оттенком цвет; слабо-хрустящую, малоупругую консистенцию, более резко выраженный кисло-соленый вкус, мутный рассол; содержание соли до 2,0%, кислотность до 1,8%. После свободного стекания сока массовая доля шинкованной капусты должна составлять 88-90% от общей массы нетто с рассолом, а рубленой и кочанной 85-88%.

Недопустимыми дефектами квашеной капусты являются потемнение, ослизнение, размягчение, кислый вкус, соленый вкус.

Квашенную капусту фасуют в стеклянные банки, укладывают в бочки. Хранить продукт рекомендуется при температуре от -1 до -4°C. Допускается хранение в неохлаждаемых помещениях при температуре не выше 10°C. На предприятиях общественного питания продукт, как правило, хранится от 3 до 5 дней при температуре 30 С и относительной влажности воздуха 85-90%.

Соленые огурцы. Для соления отбирают свежие огурцы темно-зеленого цвета, с плотной мякотью, мелких или средних размеров, с небольшой семенной камерой. Перед посолом их сортируют по качеству и размеру на корнишоны (до 90 мм), мелкие (91-110 мм), средние и крупные (111-140 мм); диаметр овощей всех групп не более 55 мм. Далее огурцы моют и укладывают в бочки, пересыпая их специями (укропом, чесноком, перцем, хреном и др.), которые закрывают, а через шпунтовое отверстие

заливают 6-8%-ным раствором соли, после чего огурцы выдерживают для ферментации. По качеству соленые огурцы также подразделяются на 1-й и 2-й товарные сорта; первые должны быть целыми, немятыми, не сморщенными, зеленовато-оливкового цвета, плотными, хрустящими, солоновато-кисловатого вкуса, с ароматом добавленных пряностей, длиной не более 110 мм. Содержание соли должно составлять 2,5-3,5%, кислотность 0,6-1,2%. Во втором сорте допускаются огурцы неправильной формы (крючки, кубарики, с перехватами), слабо-хрустящие, с легким пожелтением концов плодов, с более выраженным солоновато-кислым вкусом, длиной до 140 мм. Содержание соли в них должно составлять до 4,5%, а кислотность – до 1,4%. Недопустимыми дефектами соленых огурцов являются ослизнение, плесневение, потемнение, внутренние пустоты, размягчение, резкий кислый и соленый вкус.

Соленые томаты. Перед посолом томаты сортируют по качеству, размерам и степени зрелости на зеленые, молочные, бурые, розовые, красные. Солят томаты так же, как и огурцы. По качеству их (красные, бурые и молочные) аналогично делят на 1-й и 2-й товарные сорта; зеленые томаты относят ко второму сорту. Томаты первого сорта должны быть равномерными по размеру, целыми, разнообразной формы, но не уродливыми, не сморщенными, немятыми; цвет, близкий к окраске свежих томатов соответствующей степени зрелости; вкус кисло-солоноватый с ароматом и привкусом пряностей; рассол слегка мутноватый. Содержание соли в красных и розовых томатах должно составлять 2,0-3,5%; в бурых и молочных – 2,5-4,0; молочной кислоты соответственно – 0,8-1,2 и 0,7-1,0%. Во втором сорте допускаются плоды сморщенные, сдавленные, с пузырями под кожей, с сильно выраженным солоновато-кислым вкусом и более мутным рассолом. Содержание соли в красных и розовых томатах на 0,5% больше, чем в первом сорте, кислотность до 1,5%.

Качество квашеных и соленых овощей и плодов оценивают по *органолептическим и физико-химическим показателям*. Определяющими органолептическими показателями являются внешний вид, цвет, вкус и запах, консистенция; специфическими – состояние рассола, допускаемые отклонения по дефектной продукции, равномерность распределения специй и добавок. К физико-химическим показателям относят массовую долю соли и титруемую кислотность овощей, по отношению к общей массе с рассолом они должны соответствовать требованиям стандартов.

Различают **дефекты** внешнего вида, вкуса и запаха, цвета и консистенции. К *дефектам внешнего вида* относят: неравномерность размеров кусочков, наличие крупных, рваных листьев капусты из-за плохо отрегулированного оборудования; трещины на кожице за счет усиленного газообразования, внутренние пустоты у огурцов, ослизнение. *Дефектами вкуса и запаха* являются чрезмерно кислый вкус (за счет перебраживания капусты при высоких температурах хранения), пересоленный вкус (из-за нарушения рецептуры), затхлые, гнилостные вкус и запах (из-за развития нежелательной микрофлоры). Самый распространенный *дефект цвета* – потемнение, вызван действием одной из разновидностей картофельной палочки. В квашеной капусте иногда наблюдается побурение или порозовение верхнего слоя за счет развития дрожжей типа *Torula*, содержащих красный пигмент. Наконец, к дефектам консистенции, как правило, относят размягчение (соленых огурцов и квашеной капусты), что вызывается плесенью *Oidium lactis*, которая на поверхности рассола образует белую пленку. Огурцы приобретают сначала дряблую, а затем мазеобразную консистенцию, их кожица легко растирается между пальцами. В дальнейшем плоды полностью разлагаются с выделением сероводорода. На предприятиях общественного питания соленые огурцы и помидоры хранят при тех же условиях и в течение тех же сроков, что и капусту.

14.4. Методы санитарно-микробиологического исследования плодов и овощей; условия хранения

Для **определения бактериологической зараженности овощей, фруктов и продуктов переработки** чаще всего используется *метод смывов*. Отбор проб происходит по следующему алгоритму: сперва пробы овощей отбирают в стерильных условиях – овощи отбирают с гряд стерильным пинцетом, ботву и корнеплоды помещают отдельно в стерильные бумажные или полиэтиленовые мешки и транспортируют в лабораторию; первичную обработку проб проводят в день отбора. Далее навеску овощей в 500 грамм помещают в стерильную широкогорлую банку и заливают 500 мл физиологического раствора; пробу тщательно перемешивают, взбалтывают в течение 10 минут, затем навеску овощей удаляют из банки стерильным пинцетом, а смыву дают отстояться от грубых взвешенных частиц. Надосадочную жидкость (смыв) стерильной пипеткой осторожно переносят в пенициллиновые флаконы для дальнейшего использования. Для об-

нарушения патогенных бактерий на овощах и фруктах применяют метод смывов, при этом смывные воды фильтруют через мембранный фильтр, а соскоб с овощей засевают непосредственно на соответствующие среды. При **санитарно-микробиологическом исследовании овощей, фруктов и ягод** определению подлежат следующие показатели: КМАФАнМ (КОЕ/г), бактерии группы кишечной палочки, патогенные, в т.ч. *Salmonella spp.*, *L. Monocytogenes* – грибы (дрожжи и плесени), а также сульфитредуцирующие клостридии.

Доставляемое на заводы для переработки растительное сырье должно быть свежим, чистым, степень зрелости должна отвечать требованиям нормативной документации. Для **хранения плодовоовощной продукции** используют специальные затемненные и крытые площадки – но не более 2-3-х суток. В случае более длительного хранения необходимо использовать специально оборудованные холодильники с температурой от 0 °С до 5°С и влажности 85-90%. Лежкоспособность плодов и овощей, при этом, будет зависеть от качества продукции, *поступающей на хранение*. Хорошее качество плодов и овощей обеспечивается своевременностью уборки, незрелые и перезрелые плоды и овощи хуже хранятся. Механические повреждения также способствуют поражению их возбудителями порчи.

На сохранность свежих плодов и овощей оказывает влияние также состав газовой среды. При снижении концентрации кислорода в воздухе также можно создать условия, препятствующие интенсивному дыханию плодов и развитию аэробных микроорганизмов – возбудителей порчи, что достигается при создании вакуума, а также при хранении растительного сырья в атмосфере диоксида углерода. Кроме того, существуют газы, оказывающие бактерицидное действие на микроорганизмы (озон, бромистый метил и проч.). Для обработки свежих плодов и овощей допускается применение *сернистого ангидрида, сернистой кислоты* и ее солей. Соли сернистой кислоты в виде таблеток или гранул, закладываются в массу плодов и овощей при хранении, при этом выделяется сернистый ангидрид, который оказывает угнетающее действие на микроорганизмы. В настоящее время также ведутся исследования по использованию дифенила, йодкрахмала и других веществ для обработки плодов и овощей перед закладкой их на хранение. Для ягод и некоторых малолезжких плодов рекомендуется радиризация малыми дозами (0,2 – 0,3 Мрад) гамма-излучений, что позволя-

ет продлить сохраняемость продукции в сезон массового поступления ее на перерабатывающее предприятие.

Рациональные методы хранения свежих плодов и овощей предусматривают создание условий (температуры, влажности, газового состава среды), которые замедляют биохимические процессы, происходящие в плодах и овощах и приводящие к их старению и перезреванию, способствуют сохранению природных свойств (иммунитета) и одновременно тормозят развитие микроорганизмов. К таким методам относятся *методы хранения в охлаждаемых складских помещениях при циркуляции воздуха, поддержание определенной влажности, хранение в газонепроницаемых камерах – в атмосфере углекислого газа, бромистого метила, аммиака, двуокиси серы, сернистого ангидрида, озона, окиси этилена.*

В отделении подготовки сырья производят *сортировку, мойку, чистку, измельчение* оводов и овощей. При сортировке отбраковывают овощи, пораженные микроорганизмами, мятые, дряблые экземпляры. Мойку производят в моечных машинах, проточной водой, отвечающей санитарно-гигиеническим требованиям, очистку и измельчение производят с помощью специальных шинковальных и протирочных механизмов. Все машины и оборудование регулярно подвергают тщательной санитарной обработке. На следующем этапе проводят тепловую обработку подготовленного сырья, используя бланширование и обжаривание. Расфасовку сырья, его раскладку и (или) заливку в банках осуществляют автоматизировано, т.к. при ручной раскладке создается опасность дополнительного загрязнения при соприкосновении с руками персонала.

Вопросы для самоконтроля

1. Что называют эпифитной микрофлорой плодов и овощей?
2. Микроорганизмы, развивающиеся на плодах и овощах, по времени и месту их наибольшей активности могут быть подразделены на три группы. Назовите представителей первой группы.
3. Какие болезни плодов и овощей Вы знаете?
4. Какими бактериями представлена микрофлора квашеных плодов и овощей?
5. Назовите дефекты внешнего вида плодов и овощей.
6. Дайте определение методу квашения (соления).
7. Какие микроорганизмы вызывают дефект консистенции плодов и овощей?
8. При какой температуре следует хранить квашенную капусту?
9. Какой метод чаще всего используется для определения бактериологической зараженности овощей, фруктов и продуктов переработки?
10. Перечислите основные методы хранения плодов и овощей.

Глава 15. Санитарно-микробиологическое исследование других пищевых продуктов

15.1. Водные биологические ресурсы: рыба, морепродукты

Мясо **рыбы** по своему химическому составу близко к мясу теплокровных животных; в нем содержится значительное количество белковых веществ, жира и воды. Отличительным же признаком является меньшая стойкость при хранении, что обусловлено широким спектром причин. Так, некоторые виды рыб сохраняются в целом виде, однако, в кишечнике и жабрах априори множество микроорганизмов. После вылова рыба «снет», т.е. умирает от удушья, при этом жабры наполняются кровью, которая является питательной средой для бактерий, равно как и слизь, покрывающая поверхность рыбы. Основным ее компонентом является белок *глюкопротеид* (муцин). Жир рыб легче, чем жир теплокровных животных, поэтому больше подвергается окислительным процессам, так как в нем значительно больше ненасыщенных жирных кислот²³⁵.

Мясо рыб также имеет более рыхлую консистенцию, чем мясо теплокровных животных, т.к. в мышцах меньше соединительной ткани, что также способствует распространению микроорганизмов. Количество и состав поверхности микрофлоры только что выловленной рыбы могут значительно колебаться в зависимости от ее породы и вида, характера водоема, сезона, района и техники вылова. На 1 см² обнаруживается в среднем 10²-10⁴ клеток бактерий, как правило, водных микроорганизмов. Среди них преобладают аэробные, бесспорные, грамотрицательные палочковидные бактерии родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*. Встречаются микрококки и коринеформные бактерии, реже спорообразующие бактерии, дрожжи и актиномицеты. Большинство бактерий представлены холодоустойчивыми гнилостными, кислотообразующими и жирорасщепляющими формами.

На рыбе, выловленной из загрязненных водоемов, могут также находиться кишечная палочка, протей, а в отдельных случаях – сальмонеллы и энтерококки. Наиболее контаминированы микроорганизмами жабры и кишечник. В 1 г содержимого кишечника свежееуснувшей рыбы насчитывается 10⁵-10⁸ клеток. Как правило, это различные гнилостные бактерии, среди

²³⁵ См. подробнее: Волков А.Х., Папуниди Э.К., Якупова Л.Ф. Оценка качества и безопасности рыбы и морепродуктов: учебное пособие. – Казань, 2020. – 154 с.

них немало спорообразующих анаэробов – *Clostridium sporogenes*, *Clostridium putrificum*. Обнаруживают и возбудителей пищевых отравлений – *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* и палочки ботулизма (особенно в кишечнике осетровых рыб). На морской рыбе некоторых районов промысла встречается галофильный вибрион *Vibrio parahaemolyticus* – возбудитель токсикоинфекций.

Интересно, при этом, что мышцы только что выловленной рыбы, практически стерильны; в уснувшей же микроорганизмы достаточно быстро проникают в них из кишечника, жабр, с поверхности, также при повреждении кожных покровов орудиями лова и при небрежной выгрузке и транспортировании рыбы. Таким образом, свежеуснувшая рыба быстро подвергается порче, поэтому после вылова ее необходимо, как можно скорее охладить. Перед хранением она может подвергаться некоторой обработке: мойке, потрошению, филеровке и проч. Мойка снижает численность микробов на рыбе, т.к. при этом удаляется богатая бактериями слизь; потрошение рыбы связано с вскрытием кишечника, что может привести к обсеменению рыбы гнилостными бактериями, поэтому после потрошения рыбу тщательно промывают; при разделке (в виде филе) также повышается уровень контаминации ввиду инфицирования извне (с рук работников, с инвентаря, из воздуха). Для сохранения рыбы в охлажденном состоянии, иногда пользуются льдом, который по содержанию микроорганизмов должен соответствовать санитарным требованиям, предъявляемым к питьевой воде.

15.1.1. Микрофлора свежей рыбы

Свежая охлажденная рыба является продуктом кратковременного хранения (несколько дней) даже при температуре около 0°C. Мелкая рыба, при этом, портится быстрее крупной. Порча наступает тем быстрее, чем выше температура хранения и чем больше на рыбе содержалось бактерий. Так, например, свежая треска при +3°C сохраняется 5 суток, при 0°C – 8 суток. Рыбное филе с первоначальной обсемененностью бактерий 10^2 на 1 г продукта хранится при +3,3°C 12 дней, а с обсемененностью 10^5 – 4 дня. На охлажденной рыбе психротрофные бактерии в первую очередь начинают размножаться на поверхности и жабрах, откуда затем проникают в тело. В тканях тела рыбы бактерии размножаются менее интенсивно. Развитие этих и других микроорганизмов сопровождается значительными изме-

нениями химического состава мяса рыбы. Происходящие гнилостные процессы существенно не отличаются от описанных выше для мяса убойных животных. Претерпевает изменения и жир; помимо липолиза, некоторые бактерии, обладая ферментом липоксигеназой, вызывают его окислительную порчу.

Основными возбудителями порчи охлажденной рыбы являются бактерии рода *Pseudomonas*. Вызывая гнилостные процессы, они образуют значительные количества летучих соединений, в т.ч. *триметиламин* – вещество, обуславливающее появление специфического неприятного запаха, который характерен для портящейся рыбы. Псевдомонады не только быстрее других бактерий размножаются, но и обладают более высокой биохимической активностью по отношению к белковым веществам и жиру. К моменту порчи охлажденной рыбы они составляют основную массу (до 80-90%) ее микрофлоры. Наиболее активными являются *Pseudomonas putrificiens*, *Pseudomonas fragi* и *Pseudomonas fluorescens* – продуценты сероводорода, аммиака и триметиламина. В порче продукта также принимают участие, пусть и в значительно меньшей степени, бактерии родов *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*.

Большая отдаленность районов промысла удлиняет сроки доставки рыбы в порты, поэтому для улучшения снабжения населения свежим продуктом – высокоценным, однако скоропортящимся, изыскивают дополнительные к холоду приемы обработки свежей рыбы, задерживающие развитие в ней микроорганизмов. Так, например, в лед, используемый для хранения рыбы, вводятся антисептики и антибиотики; биомициновый лед увеличивает срок ее хранения на несколько дней. Более длительный срок продукт в газонепроницаемой упаковке из полимерных пленок. Создающийся в ней дефицит кислорода и накапливающийся углекислый газ неблагоприятны для аэробных бактерий – главных возбудителей порчи. Упаковка, кроме того, предохраняет рыбу от дополнительного инфицирования микробами извне. Хороший эффект в качестве дополнительного к холоду средства консервирования дает хранение в атмосфере азота. Так, например, хранение салаки при 0°C в атмосфере, содержащей 98% азота, на несколько суток превышает срок, хранения рыбы при той же температуре в обычной (воздушной) атмосфере. Дольше сохраняется охлажденная свежая рыба и в модифицированной атмосфере с высоким (60-80%) содержанием углекислого газа.

Эффективна, как и для сырого мяса, радиуризация (радиационная обработка) свежей рыбы. Так, известно, радиационная обработка γ -излучениями в дозе 0,2-0,4 Мрад вызывает гибель главных возбудителей порчи рыбы – псевдомонад. Сохраняются преимущественно микрококки, молочнокислые и некоторые коринеформные бактерии, обладающие меньшей биохимической активностью и сравнительно невысокой скоростью размножения при низких положительных температурах. Поэтому срок хранения облученной свежей рыбы при 0-2°C без заметного изменения органолептических свойств значительно увеличивается. Так, свежая камбала, облученная дозой 0,5 Мрад, сохраняется при +2°C в течение 22-24 дней, а необлученная – 3-4 дня. Филе трески, облученное дозой 0,25 Мрад, сохраняется 30 суток, а необлученное – 7-9 дней.

15.1.2. Микрофлора замороженной рыбы

Замороженная рыба может длительно (месяцами) храниться без микробиальной порчи при температуре не выше -12-15°C. Хорошей защитой являются покрытие глазурью и хранение при -18°C. Такая температура исключает развитие микроорганизмов. В настоящее время индустриализация и хладофикация рыбного промысла позволяют большую часть добываемой рыбы замораживать непосредственно на судах, что обеспечивает лучшее сохранение качества продукта.

В процессе замораживания многие микроорганизмы, содержащиеся на рыбе, погибают, но не все. Одни в процессе последующего хранения постепенно отмирают, другие – длительно сохраняются жизнеспособными, при этом микробов сохраняется тем больше, чем ниже температура хранения. Так, в замороженном палтусе при температуре хранения -10°C в течение 115 суток выживает около 6% бактерий от оставшихся после замораживания, при -15° С – около 17%, при -20°C – 50%. В отношении влияния скорости замораживания на выживаемость микроорганизмов единого мнения не существует. Однако экспериментальные данные показывают, что при температурах, близких к криоскопическим, быстрое замораживание продукта менее губительно для микроорганизмов, чем медленное. Также известно, что температурные пределы от -1 до -8°C являются наиболее неблагоприятными для микроорганизмов, поэтому быстрое прохождение этой зоны при замораживании обуславливает лучшее сохранение клеток.

На замороженной рыбе обнаруживают преимущественно различные микрококки, палочковидные спорообразующие и не образующие спор бактерии, споры плесеней встречаются в небольших количествах. При размораживании, особенно медленном, происходит гибель некоторых микробов, но сохранившиеся, начинают быстро размножаться, поэтому размораживать продукт следует непосредственно перед использованием.

15.1.3. Микробиология рыбы при посоле, мариновании, высушивании, вялении и копчении

Посол – один из наиболее древних способов сохранения рыбы. Ему подвергают, по преимуществу, те виды рыб, которые способны при выдержке в определенных условиях созревать (сельдевые, лососевые), т.е. приобретать специфические вкусовые качества и более мягкую консистенцию в результате происходящих в рыбе биохимических процессов превращения белков и липидов под влиянием ее собственных ферментов. Созревшая рыба становится съедобной без дополнительной кулинарной обработки. Интересно будет заметить, что определенная роль в этих процессах принадлежит и микроорганизмам, находящимся в тузлуке²³⁶ и на рыбе. Несозревающие виды рыб подвергают посолу для сохранения их в качестве полуфабриката, используемого при изготовлении *вяленой, сушеной, копченой и других видов рыбной продукции.*

Степень контаминации соленой рыбы микробами колеблется в широких пределах (от сотен до сотен тысяч в 1 г) в зависимости от первоначального их содержания на рыбе, концентрации соли, температуры и срока хранения, однако при любом способе посола происходят изменения количественного и качественного состава микрофлоры продукта. Так, типичные для свежей рыбы психротрофные виды *Pseudomonas* постепенно отмирают или сохраняются в небольшом количестве в плазмолизированном состоянии. Преобладающими же в соленой рыбе и в тузлуках являются галофильные и солеустойчивые микрококки; в меньшем количестве обнаруживаются спорозоносные палочки; встречаются также молочнокислые бактерии, дрожжи, споры плесеней, коринебактерии.

Следует отметить, что у соленой рыбы при хранении могут появляться различные дефекты, некоторые из которых обусловлены развитием

²³⁶ **Тузлук** (тюрк. tuzluq) – название раствора поваренной соли в тюркских языках, укоренившееся в рыбной промышленности со времени организации крупных промыслов рыбы на Волге и ее массовой заготовки. Различают два вида тузлука: натуральный (естественный) и искусственный.

микроорганизмов. Помимо красных галофильных аэробных бактерий, вызывающих «*фуксин*» – красный слизистый налет с неприятным запахом, порчу соленой рыбы вызывают солеустойчивые микрококки, образующие красный пигмент, и галофильные коричневые плесени, которые, как и возбудители «*фуксина*», попадают с солью. При поражении плесенью на поверхности рыбы появляются пятна и полосы коричневого цвета; этот дефект называется «*ржавлением*». Такие плесени развиваются при температуре выше 5°C. Слабосоленая рыба, например, сельдь, может подвергаться «*омылению*» – под влиянием развития аэробных, холодо- и солеустойчивых бактерий, при этом ее поверхность покрывается грязновато-белым мажущимся налетом. Рыба приобретает неприятный вкус и гнилостный запах. В соленой сельди могут также выживать и токсигенные бактерии: сальмонеллы, золотистый стафилококк, ботулинус.

В **маринованной рыбе** основным фактором, тормозящим развитие бактерий, в т.ч. гнилостных, является кислая среда (из-за наличия уксусной кислоты). Некоторое консервирующее действие оказывают добавляемые в маринад соль, сахар, а также пряности, содержащие эфирные масла и обладающие фитонцидными свойствами. Однако, нередко и сами пряности могут быть обсеменены микробами. На маринованной рыбе могут развиваться плесени, при этом снижается кислотность продукта и создается возможность роста гнилостных бактерий. Хранение в герметично закрытой таре и на холоде предотвращает ее плесневение.

Высушивание и вяление – также один из наиболее древних способов сохранения рыбы как пищевого продукта. При удалении из нее воды до определенного предела создаются неблагоприятные условия для развития микробов. Консервирующее действие в вяленой и солено-сушеной рыбе оказывает также соль. Однако, некоторые микроорганизмы все же могут длительно сохраняться в анабиотическом состоянии. Микрофлора, как правило, состоит из микрококков; встречаются спорообразующие бактерии, молочнокислые, споры плесеней. При повышении влажности и благоприятной температуре в первую очередь развиваются плесени. Для предотвращения плесневения рыбную продукцию необходимо хранить на холоде и при относительной влажности воздуха 70-80%.

Консервирующим началом в **копченой рыбе** являются антисептические вещества дыма (или коптильной жидкости). Помимо воздействия антисептиков, при *горячем способе копчения* на микрофлору рыбы губитель-

но действует высокая температура, при *холодном* – наличие соли и подсушивание рыбы. Однако, при копчении в толще рыбы сохраняется то или иное количество микроорганизмов. Так, например, очень чувствительны к бактерицидным веществам дыма бактерии рода *Pseudomonas*, однако, устойчивыми остаются споры бактерий и плесеней, а также многие микрококки. В 1 г рыбы горячего копчения обнаруживается бактерий $10^2 - 10^4$, а в рыбе холодного копчения - $10^2 - 10^5$, в отдельных случаях и больше. Допустимая степень обсеменения бактериями свежеработанной рыбы горячего копчения $5-10^2$ в 1 г, холодного копчения - $5-10^3$. Бактерии группы кишечной палочки должны отсутствовать в 1 г готовой продукции, а сальмонеллы в 25 г. Отметим, что микрофлора рыбы как горячего, так и холодного копчения сходна между собой и представлена в основном (до 80% и более) различными микрококками. Встречаются спороносные и не образующие спор палочковидные бактерии, дрожжи, споры плесеней. Однако, рыба горячего копчения по сравнению с рыбой холодного копчения богаче влагой, содержит меньше соли, чем и обусловлена более быстрая ее порча. Хранить ее рекомендуется при низких температурах (от 2 до -2°C) и в течение недлительных сроков.

В первую очередь на копченой рыбе развиваются плесени (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*), особенно быстро при повышенной относительной влажности воздуха помещений. Иногда порчу вызывают дрожжи (*Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*). Лучше сохраняется копченая рыба, упакованная в пакеты из газонепроницаемых полимерных материалов. Эффективным оказывается заполнение пакетов углекислым газом, т.к. при таком способе при температуре около 0°C полностью подавляется развитие плесеней и дрожжей, замедляется рост микрококков. Качество копченой рыбы и стойкость ее в хранении во многом зависят от исходной степени обсеменения микробами рыбы-сырца, а также от соблюдения установленного технологического режима и санитарно-гигиенических условий при производстве и хранении продукции.

Таблица 15.1 – Критерии степени свежести рыбы

Степень свежести	В поле зрения микроскопа	
	поверхность продукта	ткани мышц (с глубины 1-1,5 см)
Свежая	Единичные клетки (палочки, кокки)	Микроорганизмы должны отсутствовать
Сомнительное свежести	10-30 (палочки, кокки)	Единичные клетки
Несвежая	более 30	от 10 и более

Для быстрой санитарной оценки свежести рыбы рекомендуется ее *бактериоскопическое исследование* путем микроскопирования мазков-отпечатков с поверхности тела рыбы и с глубоких слоев мышц (**см. таблицу 15.1**). Качество и стойкость в хранении продукции рыбоперерабатывающих предприятий в большой степени зависят от санитарно-гигиенического состояния производства, которое обязательно периодически оценивается путем проведения микробиологического контроля инвентаря, оборудования, воздуха производственных помещений, тары, рук и санитарной одежды рабочих, соприкасающихся с готовым продуктом. Критериями служат общая бактериальная обсемененность и содержание бактерий группы кишечной палочки.

15.2. Яйца и яичные продукты

15.2.1. Микробиология свежих яиц

Яйцо птицы состоит из белка, желтка и скорлупы с оболочками. В скорлупе имеются поры диаметром 4-40 мкм, под ней – подскорлупная и белковая оболочки, внутри которой заключен белок. В центре белка находится желток с зародышевым диском. В яйце содержится комплекс питательных и биологически активных веществ, необходимых для развития живого организма. Содержимое свежих яиц, полученных от здоровых птиц, является, как, уверены, помнит уважаемый читатель, стерильным, т.е. *не содержит микроорганизмов*. Стерильность обеспечивается защитными механизмами организма птицы, а также наличием бактерицидного белка лизоцима. Однако, контаминация яиц все же возможна. Как и любой другой продукт они обсеменяются микроорганизмами двумя путями: эндогенным и экзогенным.

Эндогенное заражение яиц происходит при его формировании в яичнике и яйцеводе больных птиц при сальмонеллезе, орнитозе, туберкулезе и других заболеваниях. В яйцах больных птиц часто содержатся возбудители болезни, которые нередко передаются через яйцо. Достаточно часто птицы имеют скрытую форму инфекционного заболевания или являются бактерионосителями и также могут нести яйца, содержащие патогенные микроорганизмы. Количество, инфицированных яиц, получаемых от птиц-бактерионосителей, составляет от 10 до 95%.

Наиболее часто заражение происходит в период усиленной яйцекладки, что связано с ослаблением организма птиц. Особенно опасным является заражение яиц сальмонеллами (в особенности водоплавающих птиц, поэтому гусиные и утиные яйца отсутствуют в массовой продаже), что чревато возникновением токсикоинфекций при употреблении инфицированных яиц. Эндогенное обсеменение яиц микробами также возможно при наличии у птицы авитаминоза А и при заболевании яичников и яйцеводов разной природы, при этом в яйцах кроме возбудителей болезни часто содержатся условно-патогенные микроорганизмы: коагулазоположительные стафилококки, палочки протей, синегнойная, флюоресцирующая и другие палочки.

Экзогенное обсеменение яиц микроорганизмами происходит при сборе, хранении, транспортировке в результате проникновения микробов через поры скорлупы и подскорлупные оболочки. Через скорлупу в яйца могут проникать разные группы микроорганизмов, в т.ч. патогенные. Контаминация, как правило, обуславливается загрязнением скорлупы фекалиями птиц, землей, подстилкой, руками и проч. Количество микроорганизмов на ней варьируется от нескольких сотен на 1 см² поверхности до миллионов микробных клеток. Уровень загрязнения зависит от условий содержания и кормления птиц. Так, наиболее обильное обсеменение скорлупы патогенными и условно-патогенными микроорганизмами происходит при неполном содержании птиц, плохом оборудовании гнезд, нарушении микроклимата, использовании некачественной подстилки. Проникновению микробов в яйцо через споры способствуют повышенная влажность воздуха и колебания температуры, при которых в поры всасывается воздух и микроорганизмы. Считается, что содержание птиц в одноярусной автоматизированной батарее с высоким уровнем механизации обеспечивает лучшие санитарно-гигиенические условия и выход яиц с чистой скорлупой. Для

улучшения товарного вида яиц и удаления микроорганизмов применяют мойку с дезинфицирующими препаратами, а также дезинфекцию яиц парами формальдегида, йода, хлора.

При хранении микрофлора яйца *может меняться*. Яйцо птицы обладает естественными защитными механизмами, предохраняющие яйцо от развития микроорганизмов; в особенности белок характеризуется сильным бактерицидным действием в отношении многих групп микробов. Его бактерицидные свойства обусловлены наличием антибиотических веществ: лизоцима, овидина, овомукоида и проч. Размножение микроорганизмов в яйце подавляется и другими факторами, например, высоким значением рН 9,2 и устойчивостью протеинов белка к протеолитическим ферментам. Более сильное антимикробное действие отличает внутренний слой белка, прилежащий к желтку. Наиболее сильными антимикробными свойствами обладает свежеснесенное яйцо. Однако, при его хранении постепенно изменяются физико-химические свойства содержимого, ослабляется антимикробное действие белка, скорлупы и подскорлупной оболочки, т.к. инактивируются лизоцим и другие защитные вещества, поры скорлупы становятся более проницаемыми, что, соответственно, создает благоприятные условия для проникновения и размножения микроорганизмов в яйце.

Для того, чтобы замедлить ослабление защитных свойств яйца, их нужно хранить при температуре 0-2 °С и относительной влажности воздуха 85%. При повышенной температуре и высокой влажности инактивация бактерицидных веществ яйца, соответственно ускоряется, а бактерии, проникшие в подскорлупное пространство, размножаются, образуя мелкие колонии. Под действием их протеолитических ферментов подскорлупные оболочки растворяются, и бактерии проникают в содержимое яйца и размножаются, вызывая его порчу. Гнилостные бактерии, плесневые грибы, актиномицеты разлагают составные части яйца. Белок разжижается, становится мутным, появляется неприятный запах сероводорода. При *овоскопии* (от лат. *ovum* – яйцо и греч. *skopros* – смотрю), т.е. определении качества яйца путем просвечивания овоскопом, определяются темные пятна. В свою очередь, в связи с газообразованием и возрастанием давления внутри яйца они лопаются.

15.2.2. Микробиология яичных продуктов

Пищевая промышленность вырабатывает **мороженые** и **сухие яиче-продукты**. К первым можно отнести замороженную смесь белка и желтка в естественном соотношении – меланж. Его микрофлора меланжа весьма разнообразна. Так, достаточно часто обнаруживаются микрококки, сарцины, стафилококки, бациллы и грамотрицательные палочки, плесневые грибы, иногда присутствуют сальмонеллы и другие патогенные бактерии. Источниками микробного обсеменения являются сами яйца, инвентарь, посуда, воздух производственных помещений, руки и спецодежда работников. Для уменьшения загрязнения необходимо тщательно соблюдать санитарно-гигиенический режим, применять мойку и дезинфекцию яиц. Достаточно эффективной в этом плане является *пастеризация яичной массы* перед замораживанием, благодаря чему содержание микроорганизмов в меланже снижается на 98-99%.

Замораживают яичную массу при температуре не выше – 18-20 °С, часть микроорганизмов, при этом, отмирает. Хранение при температуре -8-9 °С приводит к дальнейшему сокращению микрофлоры, однако полной гибели микроорганизмов не происходит. При размораживании меланжа начинается быстрое размножение остаточной микрофлоры, поэтому замороженный меланж подлежит немедленному использованию.

Для длительного хранения изготавливают *яичный порошок* методом высушивания яичной массы в дисковых сушилках при температуре около +60 °С или методом сублимационной сушки. Яичную массу перед высушиванием готовят в меланжевом цехе. В процессе приготовления масса обсеменяется микроорганизмами из тех же источников, поэтому качество санитарной обработки яиц, соблюдение санитарно-гигиенического режима также оказывают существенное влияние на уровень обсемененности микроорганизмами сухих яичепродуктов. В высушенных яичепродуктах сохраняются жизнеспособными споры бактерий и часто вегетативных форм микробов. В составе же остаточной микрофлоры постоянно присутствуют аэробные бациллы, анаэробные клостридии, различные кокки, иногда обнаруживают сальмонеллы. В процессе хранения эти микроорганизмы постепенно отмирают, что объясняется низкой влажностью (4-8 %). Хранить сухие яичепродукты следует при комнатной температуре, т.к. отмирание микробов происходит интенсивнее. Однако, в условиях повышенной влажности яичный порошок подвергается порче в связи с развитием микроорганизмов.

15.3. Зерновые продукты: зерна, крупы, мука, хлеб, макаронные изделия

15.3.1. Микробиология зерна

Среди факторов, влияющих на качество **зерновых продуктов** при их производстве и стойкости при длительном хранении, существенная роль принадлежит микроорганизмам. В первую очередь микрофлора крупы определяется составом микрофлоры перерабатываемого зерна. Так, в 1 г доброкачественного зерна (пшеницы, ячменя, проса, риса, овса, гречихи) насчитывается от тысяч до миллионов бактерий, при этом, по качественному составу микрофлора их близка между собой. Она представлена преимущественно (до 90% и более) бактериями и (5-7%) плесневыми грибами, дрожжей еще меньше. Среди первых преобладает (до 80-90%) бесспорная, факультативно-аэробная палочковидная бактерия гербикола (травяная палочка *Erwinia herbicola*) – типичный представитель эпифитной микрофлоры зерна злаков. В небольших количествах встречаются микростолбчатые, молочнокислые бактерии, а также спорообразующие аэробные бактерии, представленные главным образом картофельной и сенной палочками (обе эти бактерии отнесены к виду *Bacillus subtilis*). В грибной флоре свежесобранного зерна обычно присутствуют *Cladosporium*, пенициллы, аспергиллы и другие.

Некоторые микроорганизмы вызывают болезни зерна, которые, в свою очередь, могут вызвать заболевания человека и животных – плесневые грибы: фузариумы, спорынья, головня, представители родов пенициллиум, аспергиллус, кладоспориум и проч. В свою очередь, афлатоксины выделяемые плесневелым грибом *Aspergillus flavus*, растущим на злаках, арахисе, семенах хлопка вызывает опухоли желудочно-кишечного тракта. Попадая из почвы, с пылью и из других источников, споры грибов даже при малой влажности зерна и продуктов его переработки годами сохраняют жизнеспособность. При увлажнении зерна, крупы, муки хотя бы ненамного выше норм, предусмотренных стандартами, плесневые грибы начинают прорастать и активно развиваться, разрушая углеводы, белки, липиды зерновых продуктов. Их развитие приводит к появлению неприятного запаха и вкуса, зерно становится тусклым, мука и крупы – комковатыми. Более активно эти процессы протекают в продуктах переработки зерна – крупе, муке, т.к. они в отличие от зерна не защищены оболочками. Нижним преде-

лом влажности для плесневых грибов является 13% в просе и 14-19% у прочих зерновых культур. При оптимальных условиях хранения зерна, крупы, муки бактерии существенного влияния на их качество не оказывают.

15.3.2. Микробиология крупы

Микрофлора различных видов **крупы** после выработки близка по составу, однако, по количеству беднее микрофлоры перерабатываемого зерна. Особое значение имеет характер предварительной обработки зерна (степень шелушения, шлифовки и проч.). Микрофлора одного и того же вида крупы может быть различной и в зависимости от особенностей технологии ее производства. Например, крупа, полученная из зерна, подвергшегося гидротермической обработке (пропариванию), обсеменена микробами в меньшей степени, чем крупа, полученная из непропаренного зерна. Помимо микроорганизмов зерна в крупе имеется *вторичная микрофлора*, попавшая из окружающей среды в процессе выработки крупы.

Возможность и интенсивность развития микробов определяются в первую очередь влажностью крупы, которая меняется при хранении продукции в зависимости от величины относительной влажности воздуха. Важное значение имеет и температура хранения: чем выше влажность крупы, тем более широк интервал температур возможного развития микроорганизмов. По мере удлинения срока хранения во всех крупах снижается число бактерий, главным образом ввиду вымирания эпифита зерна – гербикола (травяной палочки *Erwinia herbicola*). Через полгода хранения при 70-75%-ной относительной влажности воздуха и температуре 15-16 °С сохраняется 25-40% бактерий от их первоначального количества, а через год – 10-15%, преимущественно это споровые формы. Число плесневелых грибов на крупах, сохраняемых в тех же условиях, при этом, практически не изменяется. На крупах, сохраняемых при той же температуре, но при 80%-ной относительной влажности воздуха к 4-6 месяцу, а при 85%-ной – к 2-3 месяцу хранения активно развиваются плесени. Плесневение вызывают сухоустойчивые виды *Aspergillus*: *A. repens*, *A. Candidus* и другие. На крупах, выработанных из пропаренного зерна, плесени развиваются интенсивнее, чем на крупах из непропаренного зерна; при низких положительных температурах (4-5 °С) плесневение крупы обнаруживается на несколько месяцев раньше.

15.3.3. Микробиология муки

Микрофлора **свежемолотой муки**, равно как и крупы, преимущественно представлена микроорганизмами перерабатываемого зерна, однако, количественно она беднее, т.к. при его очистке перед помолом и в процессе помола значительное количество микроорганизмов удаляется вместе с загрязнениями и оболочками зерна, которые богаты микробами. Степень обсемененности муки определяется и характером подготовки ее к помолу. Так, чем ниже сорт муки, чем больше в нее попадает периферийных частиц зерна, тем больше содержится в ней микроорганизмов.

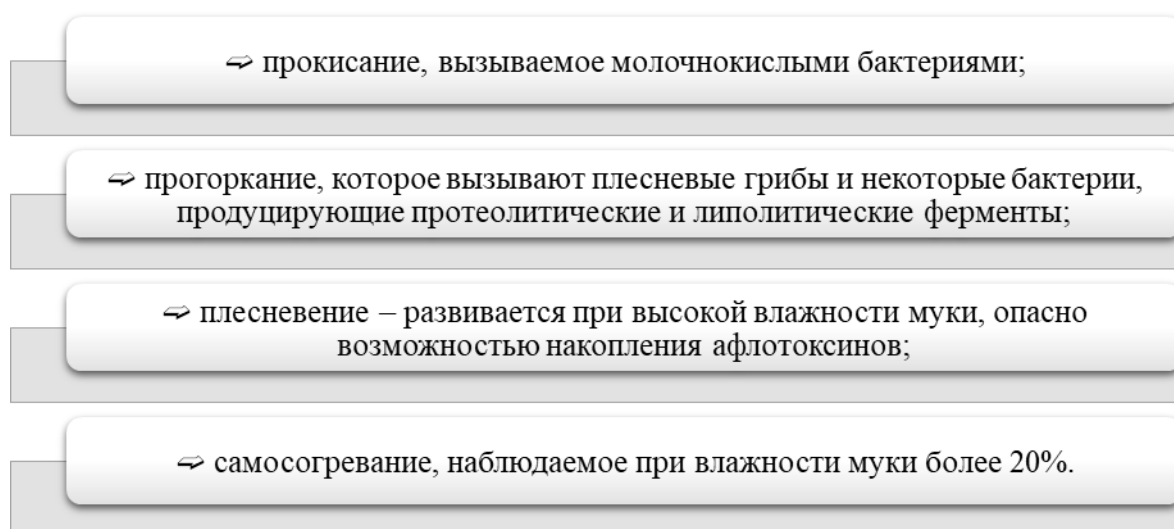


Рисунок 15.1 – Виды микробиологической порчи муки

Мука – продукт менее стойкий по отношению к микробной порче, чем зерно и крупа, питательные вещества в ней более доступны микроорганизмам (**см. рисунок 15.1**). Однако, развитие их при правильном режиме хранения (при относительной влажности воздуха не более 70%) предотвращается малым содержанием в муке влаги; наблюдается даже постепенное отмирание вегетативных клеток бактерий. С повышением относительной влажности воздуха микроорганизмы, находившиеся в неактивном состоянии, начинают развиваться, и в первую очередь развиваются плесени, так как они способны расти при меньшем содержании влаги, чем бактерии. Многие из обнаруженных в муке плесневелых грибов обладают протеолитической и липолитической активностью, способны осаживать крахмал. В результате, хлебопекарные свойства муки при их развитии снижаются, и она приобретает неприятный затхлый запах, который обычно передается хлебу.

15.3.4. Микробиология хлеба

Источниками посторонней микрофлоры хлеба являются сырье, вода, воздух, технологическое оборудование, тара, персонал. Наиболее опасные микроорганизмы могут попасть из яиц, в которых возможно присутствие сальмонелл. Повторим, что по российскому законодательству разрешается применение только куриных яиц, яйца водоплавающих можно использовать для смазки поверхности изделий.

Вследствие контаминации хлеба микробами он может «болеть»:

– *тягучая (картофельная) болезнь хлеба*. Возбудителем является сенная палочка (*Bacillus subtilis*), продуцирующие мощные амилолитические и протеолитические ферменты. Они вызывают гидролиз крахмала с образованием декстринов, гидролиз белков, в результате чего мякиш становится вязким, тягучим. Оптимальная температура развития этих бактерий 35-40 °С, поэтому заболевание как правило возникает в теплое время года. Палочка чувствительна к кислой среде и при рН 4,8-4,5 не развивается. Меры профилактики: быстрое охлаждение хлеба до 10-12 °С; подкисление теста путем добавления уксусной, пропионовой, сорбиновой кислот; введение в закваски молочнокислых бактерий, обладающих антагонистической активностью (ацидофильная палочка);

– *меловая болезнь* – характеризуется появлением на корке и в мякише белых сухих, похожих на мел, включений, хлеб приобретает неприятный запах. Порок вызывают термоустойчивые дрожжи;

– *пигментные пятна* – их появление характерно на корке и в мякише пятен желтого, красного цветов. Возбудителями являются грамотрицательные пигментообразующие бактерии (чудесная, синегнойная, флуоресцирующая палочки), которые развиваются при температуре не менее +25 °С, повышенной влажности и малой кислотности хлеба;

– *«пьяный хлеб»* – возникает при заражении муки токсинами гриба рода фузариум. Это происходит, если зерно находится в поле при температуре 0-5 °С. Для предотвращения порока производится проверка зерна (не допускается перезимовавшее и морозобойное зерно);

– *плесневение* – возникает при плотной укладке хлеба, при повышенной влажности более 70%, при температуре 25-30 °С. Споры плесневых грибов попадают из воздуха, с тары, с рук и одежды персонала. Плесени вызывают распад углеводов, белков и жиров с появлением неприятного вкуса и запаха; возможно накопление микотоксинов.

15.3.5. Микробиология макаронных изделий

К видам микробиологической порчи **макаронных изделий** относят:

- *вспучивание* – характеризуется появлением на поверхности бугорков, а на разломе – пустот. Оно вызывается гетероферментативными молочнокислыми бактериями, образующими кислоты и газы. Предотвращение порока заключается в соблюдении режима сушки;
- *окраска* – характеризуется образованием на макаронах полос фиолетового цвета. Возбудители – дрожжи рода *Candida*, продуцирующие пигмент;
- *прокисание* – связано с развитием молочнокислых бактерий.

Снижение качества изделий и пороки возникают при использовании сырья низкого качества с высокой бактериальной обсемененностью. Их развитию способствует длительное пребывание теста при температуре 30-40 °С. Влажность макарон должна быть 11-13%, т.к. при повышении влажности может наблюдаться прокисание и плесневение макарон, вызываемое грибами родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*. Возникновению порчи способствует хранение при относительной влажности воздуха (65%) в не вентилируемых помещениях, а также увлажнение упаковки.

15.4. Специи и пряности

Пряности представляют собой разнообразные части растений (корни, стебли, ягоды, листья, цветы, плоды), содержащие ароматические вещества. В производстве консервов в качестве ароматических и вкусовых добавок широко используют лавровый лист, душистый и горький перец, кориандр, гвоздику, мускатный орех, перец стручковый, тмин и другие пряности. Их ароматические вещества обладают антимикробным действием, однако, при обильном обсеменении микробами они становятся источником инфицирования консервов.

Содержание микроорганизмов в пряностях составляет в среднем до 10^4 - 10^5 клеток в 1 г. В них могут присутствовать споры аэробных бацилл (*Bacillus subtilis*), споровые анаэробы рода *Clostridium*, что представляет опасность для консервного производства. Кроме того, микрофлора пряностей содержит неспорообразующие бактерии – стафилококки и стрептококки, бактерии рода *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, которые могут размножаться при их неправильном хранении (например, при повышенной влажности).

Снизить обсемененность пряностей можно путем их тщательной мойки с последующей подсушкой при комнатной температуре. Принципиально возможна и стерилизация пряностей сухим жиром, однако при этом пряности частично теряют свою силу вследствие испарения летучих эфирных масел. Также используется способ обработки пряностей окисью этилена. В качестве перспективного способа, способствующего снижению бактериальной обсемененности консервированной продукции до стерилизации называются стерильные экстракты пряностей, которые готовятся путем экстрагирования ароматических веществ пряностей органическими растворителями. Следует учитывать, что пряности гигроскопичны, поэтому их необходимо хранить в плотно закупоренной таре в сухом, хорошо вентилируемом помещении с относительной влажностью воздуха не выше 75% и при температуре не выше 10-15° С.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие микроорганизмы характерны для микрофлоры морской рыбы?
2. Каковы критерии свежести рыбы?
3. Каковы пути экзогенного обсеменения яиц?
4. Какой метод используется для приготовления яичного порошка?
5. Для каких зерновых продуктов более характерна контаминация травяной палочкой?
6. При какой температуре необходимо хранить крупы?
7. Назовите основные виды микробиологической порчи муки.
8. Какие болезни характерны для хлеба в результате его контаминации?
9. Назовите основные виды микробиологической порчи макаронных изделий.
10. Какие микроорганизмы чаще всего обсеменяют специи?

Глава 16. Основные принципы консервирования и хранения пищевых продуктов и плодоовощной продукции; микробиология консервного производства

16.1. Понятие и принципы консервирования пищевых продуктов и плодоовощной продукции

В предыдущих главах мы уже писали о понятии и видах консервирования пищевых продуктов (см. подробнее пп. 6.2). Так, повторим, что под **консервированием** понимается обработка пищевых продуктов для более длительного сохранения их доброкачественности различными способами, обеспечивающими подавление и прекращения процессов, происходящих в продуктах под действием ферментов, в частности микробиологической порчи, инициируемой различными микроорганизмами (бактериями, вирусами, грибами и простейшими). К **традиционным методам консервирования** относят: *физические*: хранение в регулируемой газовой среде и вакууме; тепловая обработка – пастеризация и стерилизация; охлаждение и заморозка; обработка ультрафиолетовым и рентгеновским излучением; *химические*: обработка антибактериальными консервирующими препаратами – кислотами, солями, спиртами, диоксидом серы, сульфитами и проч.; *биологические*: обработка антибактериальными препаратами микробного происхождения, к примеру, низином или педиоцином РА1; внесение фитонцидов, содержащихся в чесноке, луке, хрене, горчице и других растениях; *смешанные*, например, биохимические – квашение, мочение и проч.; физико-химические – консервирование поваренной солью, сахаром, сушка; и другие. Все перечисленные методы консервирования ориентированы на ряд **принципов хранения пищевых продуктов**, авторство которых принадлежит Я.Я. Никитскому, как, уверены, помнит уважаемый читатель, основателю российской школы микробиологии. Так, согласно Я.Я. Никитскому к ним относятся:

1. **Биоз** (от греч. bios – жизнь); данный принцип заключается в поддержании на низком уровне жизненных процессов в свежих пищевых продуктах и плодоовощной продукции и микроорганизмах, в ней обитающих. На состоянии биоза основано хранение, например, рыбы свежем виде и ее транспортировка на судах, в железнодорожных вагонах, автоцистернах и хранение ее в местах реализации. Безусловно, для каждого отдельного вида продукции создают соответствующие оптимальные условия, способствующие поддержанию его естественного иммунитета. Численность микроорганизмов должна оставаться на уровне, не представляющем опас-

ности для сохранения продукции. Принцип биоза, в свою очередь, представлен двумя видами: *эубиозом* и *гемибиозом*. **Эубиоз** предполагает сохранение живых организмов (например, домашний скот, птицу, живую рыбу, морепродукты и проч.) до момента их использования; **гемибиоз** же предполагает сохранность корнеплодов, клубнеплодов, луковиц, плодов, ягод в свежем виде.

2. **Анабиоз** (др.-греч. ἀνα-βίωσις, ἀνα-βίωσεως «возвращение к жизни, воскрешение» ← др.-греч. ἀνα- приставка со значением повторности + βίωσις, βίωσεως «жизнь»); данный принцип заключается в замедлении, торможении жизненных процессов в сырье и микроорганизмах посредством изменения физических или химических факторов среды, например влажности, температуры, кислотности и проч. Фактически, анабиоз – это латентное безжизненное, однако, обратимое состояние живых биологических систем, когда метаболические процессы в них заторможены или идут на чрезвычайно низком уровне и они ведут себя как «закрытые». Существует несколько способов поддержания анабиоза: *термоанабиоз* (охлаждение, замораживание); *ксероанабиоз* (сушка); *осмоанабиоз* (соление); *ацидоанабиоз* (маринование) (см. рисунок 16.1).

⇒ **термоанабиоз**; при этом методе биологические процессы в продуктах замедляются, но живые организмы не уничтожаются. В охлажденном состоянии продукты хранят при температуре, близкой к 0 °С (овощи, плоды, яйца, молочные продукты). При замораживании продукты можно хранить в течение длительного времени (мясо, птица, рыба);

⇒ **ксероанабиоз**; это хранение продуктов в сухом состоянии. Частичное или полное обезвоживание приводит к полному прекращению различных биохимических процессов. Влагу из продуктов удаляют путем сушки;

⇒ **осмоанабиоз**; метод основан на создании повышенного давления в среде за счет применения соли и сахара. Повышение давления защищает продукт от микроорганизмов и микробиологических процессов (гниение, плесневение). Соление применяют для овощей, рыбы. Для консервирования плодов и фруктов используют сахар в больших количества;

⇒ **ацидоанабиоз**; метод основан на применении в продуктах кислой среды, подавляющей действие микроорганизмов, путем введения пищевых кислот. Использование кислот совместно с пряностями называют маринованием. Маринуют продукты с пастеризацией или без нее.

Рисунок 16.1 – Способы поддержания анабиоза

3. **Абиоз** (от лат. *abios* – отсутствие жизни); данный принцип состоит в полном прекращении всех жизненных процессов в растительном сырье и микроорганизмах. Он осуществляется при термическом консервировании (стерилизации), радиуризации (облучении) и других способах жесткой обработки пищевых продуктов и плодовоовощной продукции. При *термической стерилизации* обработка пищевых продуктов осуществляется при повышенной температуре (с использованием автоклавов, ВЧ и УВЧ-устройств), при *химической* – они обрабатываются антисептиками. Для консервирования плодов используют бензойно-натриевую соль; сульфитация овощей и плодов, свежие фрукты обрабатывают сернистым ангидридом SO_2 и проч., а для обработки мяса и рыбы применяют копчение (дым, образующийся при сжигании древесины, также является антисептиком). При использовании *метода лучевой стерилизации*, скоропортящиеся продукты облучают ультрафиолетовыми или инфракрасными лучами, что позволяет хранить овощи вне холода.

4. **Ценоанабиоз**; данный принцип состоит в изменении посредством внешних воздействий состава естественного биоценоза продукта и получении нового, с иным составом микроорганизмов. В соответствии с этим принципом проводится консервирование на основе молочнокислого брожения (квашение, соление, мочение, ферментация) и спиртового брожения при изготовлении вина. Стоит сказать, что эти способы переработки можно причислить к методам консервирования плодов и овощей лишь условно, т.к., повторимся, в результате процессов брожения происходит изменение свойств исходного сырья и образуется совсем новый продукт. Таким образом, цель такой обработки заключается не в консервировании, а в получении продукта с определенными желаемыми свойствами, т.е., например, вино – это не консервированный виноградный сок, и изготавливают его не для того, чтобы сохранить впрок сок, точно так же квашение капусты проводят не для того, чтобы сохранить в течение длительного времени свежую капусту с присущими ей вкусовыми качествами, а чтобы получить качественно новый продукт. Однако, такого рода продукты сохраняются благодаря подавлению микроорганизмов – с помощью кислоты или спирта. Приведенные примеры иллюстрируют два метода ценоанабиоза: *ацидоценоанабиоз* – он используется при изготовлении и для сохранения молочных продуктов, при квашении капусты, огурцов путем молочнокислого брожения, и *алкоголеценоанабиоз* – применяется в виноделии путем сбраживания натуральных соков дрожжами.

Как правило, ни один из перечисленных биологических принципов не осуществляется на практике в чистом виде. Традиционно методы консервирования основываются на нескольких принципах.

16.2. Основы микробиологии консервного производства

При промышленной стерилизации в консервах могут сохраняться единичные жизнеспособные микроорганизмы, преимущественно *споровой бактерии*. Видовой состав так называемой **остаточной микрофлоры**, а следовательно, и возможный характер порчи зависят от вида стерилизуемого продукта и режима стерилизации²³⁷.

Как правило, в остаточной флоре многих видов консервов обнаруживаются кислото- и газообразующие мезофильные анаэробные и факультативно-анаэробные бактерии рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. pumilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*), кислотообразующие термофильные спороносные аэробы – *Bacillus stearothermophilus*, *B. aerothermophilus*, мезофильные гнилостные анаэробные бактерии *Clostridium sporogenes*, *Cl. putrificum*, а также маслянокислые бактерии. *Bacillus cereus*, обнаруженная в остаточной микрофлоре, представляет потенциальную опасность, т.к. в случае обильного размножения этих бактерий продукт может послужить причиной отравления. В 1 г консервируемого продукта (до стерилизации) допускается не более 100 клеток *B. cereus*. В остаточной микрофлоре консервов с высокой кислотностью, подвергающихся тепловой обработке при невысоких температурах, могут сохраняться некоторые бесспорные бактерии (молочнокислые, кокковые формы), споры плесеней.

Особую опасность представляет *Clostridium botulinum* – возбудитель тяжелого заболевания, который может попадать в продукт и сохраняться при стерилизации. При его развитии может не быть внешних признаков порчи консервов, однако, токсин в продукте все же содержится. Строгое соблюдение правил и требования нормативно-технической документации по санитарии технологии производства консервов должно обеспечить их безопасность в отношении ботулизма и иных отравлений.

Остаточная микрофлора нормируется для каждого конкретного вида консервов. Возможность ее развития при установленных режимах обусловлена широким спектром факторов. Одновременно с этим, анаэробные

²³⁷ См. подробнее: Основы консервирования пищевых продуктов: учеб. пособие / А.И. Машанов, В.В. Матюшев, Н.А. Величко [и др.]; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2019. – 270 с.

условия в банках неблагоприятны для аэробов, а умеренная температура хранения (как правило от 0 до 15°C) препятствует развитию термофилов, некоторые из которых даже частично отмирают. В свою очередь, низкое значение pH определенных видов консервов задерживает развитие многих бактерий. Более того, микроорганизмы и их споры, сохранившиеся при стерилизации, могут быть настолько ослаблены, что в течение длительного времени будут находиться в неактивном состоянии, и по этой причине нестерильные консервы могут не подвергаться порче.

Микробиологическая порча консервов, как правило, связана с недостаточной степенью их стерилизации или нарушением герметичности, и может быть *химической или физической природы*. Наиболее распространенными видами порчи консервов являются *бомбаж, плоско-кислая и сульфитная порча*. **Бомбаж** – это вздутие банки в результате повышения внутреннего давления за счет накопления газов (CO₂, H₂S, NH₃) газообразующими спорообразующими бактериями таких видов, как *C. sporogenes*, *C. thermosaccharolyticum*, *C. perfringens*, *C. thermoaceticum* и проч.; в овощных и фруктовых консервах – *Bacillus polymyxa* и *B. macerans*. В свою очередь, возбудителями порчи (бомбажа, скисания) томатопродуктов и плодово-ягодных консервов (с повышенной кислотностью) часто являются гетероферментативные молочнокислые бактерии, а иногда и дрожжи (продукт пенится, ослизняется). Бомбаж консервов могут также вызвать бактерии группы кишечной палочки и дрожжи, попавшие в готовый продукт при нарушении герметичности тары. Органолептические свойства консервов в результате накопления продуктов жизнедеятельности микроорганизмов сильно изменяются (продукт приобретает гнилостный, кислый или кисло-сырный запах, нередко ослизняется), наблюдается мацерация ткани, кислый или гнилостный запах, пенообразование. Обычно такие изменения наблюдаются при высоком уровне размножившихся микроорганизмов – 10¹⁰ клеток в 1 г продукта. Бомбажные консервы по внешним признакам легко отбраковываются.

Плоско-кислая порча – это изменение органолептических свойств консервов без газообразования. Консервы приобретают неприятный кислый запах и вкус, иногда изменяется цвет продукта. Возбудителями данного вида порчи являются термофильные спорообразующие аэробные бациллы: *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. stearothermophilus*, *B. Aerothermophilus* и проч. (см. таблицу 16.1). Эти бактерии имеют высокий температурный оптимум (55-65 °C), температурные границы их роста от 40 до 82 °C; споры выдерживают

длительное нагревание до 120 °С. Плоско-кислую порчу консервов вызывает также факультативно-анаэробная, кислото- и термоустойчивая бактерия *Bacillus coagulans*; ее температурный оптимум 25-37 °С, но она хорошо растет и при 20-55 °С. Названные микроорганизмы разлагают углеводы с образованием различных органических кислот без выделения газа.

Сульфитная порча – это накопление в консервах сероводорода термофильными спорообразующими бактериями вида *Clostridium nigrificans*. Они разлагают серосодержащие аминокислоты с образованием H₂S. При сульфитной порче наблюдается вздутие доннышек банки, продукт чернеет и приобретает тухлый запах.

Пастеризованные консервы, особенно укупоренные без удаления воздуха (повидло, джем, варенье, компоты, соки), также могут поражаться плесенью, осмофильными дрожжами, молочнокислыми бактериями. Продукт приобретает затхлый привкус, в нем накапливаются спирт, кислоты, углекислый газ. При нарушении герметичности банок микробиальная порча может иметь различный характер также в результате вторичного инфицирования извне пастеризованного продукта.

В Российской Федерации консервы вырабатываются согласно требованиям ГОСТ (например, ГОСТ 7452-2014 «Консервы из рыбы натуральные», ГОСТ 34177-2017 «Консервы мясные. Общие технологические требования» и др.). В соответствии с ними, для обеспечения выработки доброкачественных, микробиологически стабильных (длительно не подвергающихся микробной порче) консервов на производстве должны быть приняты меры, предотвращающие контаминацию перерабатываемого продукта микроорганизмами извне и не допускающие их размножение. В частности, необходимо проведение микробиологического контроля подготовленных к стерилизации продуктов, причем особенно тщательно проверяются консервы с рН более 4,2-4,4, в которых наиболее вероятно развитие возбудителей пищевых отравлений (см. подробнее пп. 16.3). Определяется общая обсемененность (КМАФАнМ), наличие спор мезофильных и термофильных облигатно-анаэробных бактерий (клостридий) и спор мезофильных и термофильных аэробных и факультативно-анаэробных бактерий (бацилл). Допустимая обсемененность консервов перед стерилизацией нормируется; общее число бактерий на 1 г (1 см³) не должно превышать 10-50 тыс. (в зависимости от вида продукта), а в консервах для детского питания – 200. Одновременно с

этим, должны отсутствовать клостридии – в 0,5 см³ пробы содержимого банки; мезофильных бацилл допускается не более 100-300 на 1 г.

Таблица 16.1 – Характеристика некоторых видов бактерий, вызывающих плоско-кислую порчу консервов

Название микроорганизмов	Характеристика
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	– форма и расположение клеток: крупная палочка; – окрашивание по Граму: + – спорообразование: споры располагаются терминально; – подвижность: + – отношение к кислороду: аэроб;
<i>Bacillus aerothermophilus</i>	– форма и расположение клеток: крупная палочка; – окрашивание по Граму: + – спорообразование: споры располагаются субтерминально; – подвижность: + – отношение к кислороду: аэроб;
<i>Bacillus coagulans</i>	– форма и расположение клеток: крупная палочка; – окрашивание по Граму: + – спорообразование: споры располагаются центрально или терминально; – подвижность: + – отношение к кислороду: аэроб;

Для установления микробиологической стабильности консервов многие виды их выборочно (несколько банок из партии) *термостатируют*, т.е. выдерживают на складе или в термостатных камерах до 15 суток при температуре 20 м, 37 °С, иногда 55 °С, благоприятной для активации мезофильной и термофильной остаточной микрофлоры. Сохранение нормального внешнего вида тары после процедуры термостатирования является одним из показателей микробиологической стабильности консервов. Дефектных банок с признаками микробиальной порчи (бомбаж, хлопуща) допускается не более 0,2% всей партии (относительно их дополнительно производится анализ природы дефекта). В свою очередь, в связи с тем, что порча может не проявляться видимыми изменениями тары, в отдельных случаях (предусмотренных нормативными актами) проводят микробиологический контроль содержимого банок, не имеющих видимых изменений – устанавлива-

ют наличие микрофлоры и ее состав. Результаты термостатирования и микробиологического контроля, таким образом, служат основанием для решения вопроса об их доброкачественности, возможности условий хранения.

Традиционный метод стерилизации (в автоклавах) консервов основывается на сравнительно длительном нагревании для уничтожения микроорганизмов, в результате которого снижается качество продукта (внешний вид, консистенция, вкус и проч.). Однако, в промышленности используется специальный технологический процесс изготовления консервов из жидких и пюреобразных продуктов, предполагающий высокотемпературную кратковременную стерилизацию – *асептическое консервирование*. Продукт нагревают в непрерывном потоке в тонком слое при температуре 130-146 °С в течение 1-5 мин. Пастеризованный и охлажденный продукт разливают асептически, не допуская контаминации микроорганизмами извне, в заранее пастеризованную тару, которую затем герметизируют в стерильных условиях. Весь процесс выполняется автоматически в замкнутой системе аппаратов. Ввиду значительного сокращения времени нагревания качество продукта улучшается, тогда как количество перерабатываемого сырья увеличивается.

16.3. Микробиологический и санитарный контроль консервного производства

Микробиологическое исследование консервов включает в себя анализ исходного сырья (при повышенной микробной его контаминации после разделки, мойки) и полуфабрикатов (по мере поступления их на консервное производство), вспомогательных материалов, а также содержимого консервных банок *до и после стерилизации*.

На начальном этапе микробиологического исследования консервов происходит *обор проб* – в зависимости от вида и консистенции продукта. Так, если консервы содержат большое количество заливки или бульона, то для посева берут непосредственно жидкую часть продукта, тогда как в отсутствие жидкой фазы в продукт добавляют стерильную воды в соотношении 1:1 и высевают смыв с продукта без разбавления или последовательно приготовленных разведений. При фасовке в тару объемом до 0,5 л содержимое банки перекладывают в стерильную посуду (емкостью 1,5 – 2 л) с таким же содержанием воды, закрывают крышкой и стряхивают в течение 3 мин, после чего отбирают пробу для посева. В зависимости от предпола-

гаемого микробного обсеменения пробу разводят с таким расчетом, чтобы в чашке Петри с питательной средой выросло не более 300 колоний.

Микробиологическое исследование банок перед стерилизацией проводят немедленно после их закатки. Исследование включает в себя определение общего количества микроорганизмов в содержимом банок, выявление спор облигатных анаэробов и термофильных бактерий. Контроль наличия последних, как возбудителей плоско-кислой порчи, проводятся только для консервов, содержащих продукты с нейтральным значением рН. *Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)* проводится по методике, описанной нами в **п. 13.3**. Для выявления облигатных анаэробов из подготовленного для анализа образца стерильной пипеткой или трубкой отбирают 10 см продукта, вносят в сериальную пробирку и ставят на кипящую баню на 20 мин. После охлаждения 0,5 см прогретого продукта засевают в пробирку с накопительной средой Китта-Тароцци²³⁸. Посевы культивируются при температуре 37 °С в течение 48 ч., после чего отмечают наличие газообразования и анаэробного роста в накопительной среде. В случае его обнаружения, из накопительных посевов 1-2 капли высевают в чашки Петри, которые заливают 30 см расплавленного мясопептонного агара с 1% глюкозы. После застывания среды на поверхность пинцетом кладут стерильное предметное стекло так, чтобы под ним не было пузырьков воздуха. Далее, чашку переворачивают крышкой вниз и ставят на 48 ч в термостат с той же температурой.

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

На следующем этапе *выявляются споры термофильных бактерий*. Так, из предварительно прогретой при температуре 80-85 °С пробы отбирают 5 см³ взвеси и вносят 25 см³ мясопептонного агара, содержащего 1% глюкозы и 0,004% бромкрезолпурпурного (среда, при этом, должна иметь слабо-фиолетовую окраску). Посевы культивируют при температуре 55 °С в течение 24-48 ч. Изменение окраски среды от фиолетовой до желтой или появление желтых ореолов вокруг колоний будет свидетельствовать о

²³⁸ **Среды Китта-Тароцци** – это жидкая питательная среда для культивирования анаэробных микроорганизмов, состоящая из мясопептонного бульона, обогащенного экстрактивными продуктами печени животных и содержащего кусочки вываренной печени в качестве поглотителя свободного кислорода.

наличии в исследуемой пробе спор термофильных бактерий. Такие бактерии, размножаясь в продукте в условиях его хранения при повышенных температурах (49-70 °С), могут разлагать углеводы с образованием органических кислот без выделения газа.

Консервы могут подвергаться *микробиологическому исследованию и после стерилизации* в определенных случаях: при обнаружении в партии банок до стерилизации повышенного количества микроорганизмов или спор облигатных анаэробов; при закладке консервов на длительное хранение; при отсутствии показателя допустимой бактериальной обсемененности консервов до их стерилизации. Так, для проведения исследования отобранные для анализа образцы осматривают и проверяют на герметичность в сосудах с горячей водой или в специальных аппаратах. Исследованию подвергают только герметичные банки. Для установления стерильности и выявления жизнедеятельности *мезофильных и термофильных микроорганизмов* отобранные консервные банки выдерживают в термостате при 37 °С в течение 3 сут или 55 °С в течение 5 сут соответственно. Для выявления жизнедеятельности *мезофильных факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов* консервы с рН более 4,4 термостатируют при температуре 37±5 °С. Консервы в таре вместимостью 1 дм³ и менее выдерживают в термостате в течение 5 сут, более – в течение 10 сут. Наконец, для установления *стерильности или выявления жизнедеятельности термофильных аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов* консервы в таре любой вместимости термостатируют при температуре 55±5 °С в течение 3 сут. Затем, они выдерживаются еще 24 ч при комнатной температуре, после чего отмечается наличие дефектов тары.

Наряду с термостатной выдержкой из консервов, отобранных для анализа, также делают посеvy на питательные среды, чтобы установить характер остаточной микрофлоры. По результатам бактериологического анализа на промышленную стерильность делают соответствующие выводы, согласно данным, приведенным в **таблице 16.2**. Так, для выявления *мезофильных аэробных микроорганизмов* из каждой анализируемой консервной банки высевают по 2 см² в две пробирки с мясопептонным бульоном, содержащим 1% глюкозы. Посевы культивируют при температуре 37°С в течение 5 сут. В случае проявления признаков роста аэробных микроорганизмов (помутнение бульона, образование пристеночного кольца или пленки, осадка), готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют.

При обнаружении крупных грамположительных палочек или кокков, проводят посев культуры из пробирок с мясопептонным бульоном в чашках с мясопептонным агаром. Их помещают на 48 ч в термостат с температурой 37 °С, после чего выросшие колонии изучают для установления принадлежности микроорганизмов к определенной группе. При выявлении в мазках мелких грамотрицательных неспорообразующих палочек, материал из колоний пересевают штрихом в чашки на среду Эндо, в пробирки со скошенным агаром по Шукевичу и в чашки с агаром с 1% глюкозы для идентификации микроорганизмов.

Таблица 16.2 – Оценка промышленной стерильности полных консервов (группа А)

Микроорганизмы, выявленные в консервах	Вид консервов	
	Общего назначения	Для детского питания
Спорообразующие МАФАНМ группы <i>B. subtilis</i>	– отвечают требованиям промышленной стерильности. В 1 г (см ³) продукта должно быть не более 11 клеток этих микроорганизмов;	
Спорообразующие МАФАНМ группы <i>B. Cereus</i> и (или) <i>B. polymyxa</i>	– не отвечают требованиям промышленной стерильности;	
Мезофильные клостридии (за исключением <i>C. botulinum</i> и <i>C. perfringens</i>)	– отвечают требованиям промышленной стерильности. В 1 г (см ³) продукта должно быть не более одной клетки этих микроорганизмов;	– не отвечают требованиям промышленной стерильности;
Неспорообразующие микроорганизмы и (или) плесневые грибы, дрожжи	– не отвечают требованиям промышленной стерильности;	
Спорообразующие термофильные анаэробные, аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы	– отвечают требованиям промышленной стерильности, но температура их хранения должна быть не выше 20 °С	– не отвечают требованиям промышленной стерильности

Для выявления *анаэробов* из исследуемой банки высевают по 2 см³ в 4 пробирки со средой Китта-Тароцци, предварительно прогретой на кипящей водяной бане в течение 20-30 мин, а затем охлажденной до 50 °С. Две из них прогревают до 80 °С в течение 20 мин для выявления всех анаэро-

бов. При исследовании на присутствие *C. botulinum* типа Е одну пробирку подогревают до температуры 60 °С в течение 15 мин (при этом сохраняются споры), а другую оставляют непрогретой²³⁹. Для выявления этого микроба посева выдерживают при температуре 30 °С, а для обнаружения других анаэробов – при температуре 37 °С. Термостатирование проводят в течение 5-10 сут, наблюдение за ростом культур – ежедневно. Мезофильные анаэробные микробы вызывают помутнение среды с выделением газа и появление постороннего запаха. При обнаружении роста микробов готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. В мазках, содержащих *облигатно-анаэробные бактерии*, обнаруживают грамположительные спорообразующие палочки.

Для подтверждения принадлежности выявленных *спорообразующих мезофильных анаэробных бактерий* к роду *Clostridium* проверяют отсутствие у них *каталазы*²⁴⁰. Для определения фермента к культуре добавляют 1-2 см 1%-ного раствора пероксида водорода. Появление пузырьков газа будет указывать на образование кислорода в результате расщепления пероксида водорода каталазой. Если фермент не выявлен, то считают, что в посевах присутствуют мезофильные облигатно-анаэробные микроорганизмы рода *Clostridium*. При наличии в среде возбудителя ботулизма отмечают помутнение среды, газообразование, маслянокислый запах. В мазках, окрашенных по Граму, обнаруживают грамположительные крупные палочки со спорами в виде ракеток. Если в консервах *C. botulinum* находился в вегетативной форме, то видимый рост микроорганизмов можно наблюдать в непрогретых пробах.

²³⁹ **Прим.:** в случае выявления *C. botulinum* консервы считаются непригодными в пищу и уничтожаются. При выявлении клостридий других видов вопрос об использовании консервов решают органы санитарно-эпидемиологической службы.

²⁴⁰ **Каталаза** (от греч. *κατάλλω* – разрушать, ломать) – это фермент, который катализирует разложение образующегося в процессе биологического окисления пероксида водорода на воду и молекулярный кислород ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$), а также окисляет в присутствии пероксида водорода низкомолекулярные спирты и нитриты.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите основные принципы консервирования пищевых продуктов.
2. Какие способы поддержания анабиоза Вы знаете?
3. Какой из принципов консервирования пищевых продуктов заключается в изменении посредством внешних воздействий состава естественного биоценоза продукта и получении нового, с иным составом микроорганизмов?
4. Дайте определение понятия «остаточная флора».
5. Какие бактерии вызывают плоско-кислую порчу консервов?
6. Какие виды микробиологической порчи консервов Вы знаете?
7. Таковую порчу консервов вызывают термофильные спорообразующие бактерии вида *Clostridium nigrificans*.
8. На чем основывается традиционный метод стерилизации (в автоклавах) консервов?
9. В каких случаях проводится микробиологическое исследование консервов после стерилизации?
10. Что проверяют для подтверждения принадлежности выявленных спорообразующих мезофильных анаэробных бактерий к роду *Clostridium* проверяют?

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ахмадышин Р. А., Канарский А. В., Канарская З. А.* Микотоксины – контаминанты кормов // Вестник Казанского технологического университета. 2007. №2. С. 88-103.
2. *Белова Т.А., Протасова М.В.* Микробная флора воздуха и ее устойчивость к антибиотикам // Auditorium. 2019. №1 (21). С. 9-15.
3. *Берестова А.В.* Технология продуктов длительного хранения: учебное пособие / А.В. Берестова, Э.Ш. Манеева, В.П. Попов. – Оренбург: ОГУ, 2017. – 164 с.
4. Безопасность и качество рыбо- и морепродуктов; под ред.: Г. Аллан Бремнер; пер. с англ. В. В. Широкова под науч. ред. Ю. Г. Базарновой. – СПб.: Профессия, 2009. – 511 с.
5. *Галынкин В.А., Заикина Н.А., Карцев В.В., Шевелева С.А., Белова Л.В., Пушкарев А.А.* Микробиологические основы ХАССП при производстве пищевых продуктов. – М.: Проспект науки, 2009. – 288 с.
6. *Госманов Р. Г., Ибрагимова А. И., Галиуллин А. К.* Микробиология и иммунология: учебное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Издательство «Лань», 2013. – 240 с.
7. *Донченко Л.В.* Безопасность пищевой продукции. В 2 ч. Часть 1: учебник для вузов / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2023. – 264 с.
8. *Донченко Л.В.* Безопасность пищевой продукции. В 2 ч. Часть 2: учебник для вузов / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2023. – 161 с.
9. *Дорожкин В.И., Прокопенко А.А., Морозов В.Ю., Дронфорт М.И.* Препараты для дезинфекции объектов ветеринарного надзора // Эффективное животноводство. 2018. №3 (142). С. 34-36.
10. *Елисеева Л.Г., Махотина И.А., Калачев С.Л.* Безопасность пищевых продуктов – одна из ключевых составляющих обеспечения продовольственной безопасности // Национальная безопасность / NOTA BENE. 2019. №1. С. 1-19.
11. *Ефимочкина Н.Р.* Вирусные контаминанты пищевых продуктов и методы их обнаружения // Гигиена и санитария. 2017. №6. С. 576-584.
12. *Замалютдинова Н. М., Галиева И. Р., Арапова А. О., Михайлова Е. О., Шарипова М. Р., Марданова А. М.* Протеолитическая активность бактерий

трибы proteeae // Вестник Казанского технологического университета. 2013. №10. С. 191-194.

13. *Иванов Б.Л., Рудаков А.И., Зиннатуллин Н.Х., Лушинов М.А.* Дезинфекция производственных помещений и оборудования // Вестник Казанского технологического университета. 2017. №21. С. 130-133.

14. *Ким И.Н.* Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания. Морепродукты. В 2 ч. Часть 1: учебное пособие для вузов / И. Н. Ким, А. А. Кушнирук, В. В. Кращенко; под общ. ред. И. Н. Кима. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2023. – 229 с.

15. *Ким И.Н.* Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания. Морепродукты. В 2 ч. Часть 2: учебное пособие для вузов / И. Н. Ким, В. В. Кращенко, А. А. Кушнирук. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2023. – 208 с.

16. *Кондратов А.П., Назаров В.Г.* Технические средства очистки воздуха // Российский химический журнал. 2006. №5. С. 37-47.

17. *Коротяев А.И., Бабичев С.А.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – СПб.: СпецЛит, 2012. – 5-е изд., испр. и доп. – 760 с.

18. *Литусов Н.В.* История микробиологии. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2012. – 64 с.

19. *Мальцев В.Н.* Основы микробиологии и иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В.Н. Мальцев, Е.П. Пашков, Л.И. Хаустова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2022. – 319 с.

20. *Мельситова И.В.* Качество и безопасность продуктов питания: пособие. В 2 ч. Ч. 2. Безопасность продуктов питания. – Минск: БГУ, 2016. – 199 с.

21. Микробиологический анализ мяса, мяса птицы и яйцепродуктов; под ред. Дж. К. Мида; пер с англ. – СПб.: Профессия, 2008. – 384 с.

22. Микробиота воздушной среды: учебно-методическое пособие / Новосиб. гос. аграр. ун-т. Биол.-технолог. фак.; сост.: Л.А. Литвина, И.Ю. Анфилофьева, В.Г. Горских. – 3-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2021. – 49 с.

23. *Николаева И.В., Шестакова И.В., Муртазина Г.Х.* Современные стратегии диагностики и лечения *Clostridium difficile*-инфекции (обзор литературы) // Acta Biomedica Scientifica. 2018. №1. С. 34-42.

24. *Новикова О.Б., Павлова М.А., Бартнев А.А.* О проблеме колибактериоза в птицеводстве // Эффективное животноводство. 2018. №6 (145). С. 64-66.
25. *Рогов И.А.* Безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов: учеб. пособие / И. А. Рогов, Н. И. Дунченко, В. М. Позняковский, А. В. Бердугина, С. В. Купцова. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. – 227 с.
26. *Терешкина Т.В.* НАГ-вибрионы и вызываемые ими заболевания // FORCIRE. 2020. №S. С. 481-482.
27. *Федоренко Е.В., Коломиец Н.Д., Сычик С.И.* Актуальные проблемы микробиологической безопасности пищевой продукции // Гигиена и санитария. 2016. №9. С. 873-878.
28. *Хлызова Л.А., Шавшукова О.А., Виноградов А.Б., Четвертных В.А., Афанасьевская Е.В., Гордина Е.В.* Условно-патогенная микрофлора цыплят-бройлеров как возможный источник инфицирования сотрудников птицефабрики // Пермский медицинский журнал. 2013. №2. С. 109-114.
29. *Шалимов Ю.Н., Руссу А.В., Епифанов А.В., Епифанов В.Д., Лутовац М., Бабкин В.Ф., Евсеев Е.П.* Микробиология сточных вод очистных сооружений // Современные технологии обеспечения гражданской обороны и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. 2016. №1 (7). С. 366-374.
30. *Шамрай С.М.* Микотоксины – постоянная угроза со стороны «экологически чистых» природных ядов // Биология. 2010. С. 7-14.
31. *Шевелева С.А.* Микробиологическая безопасность пищевых продуктов: проблемы и пути решения: [презентация] // III Всероссийская науч.-практ. конф. с межд. участием «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных» (24-25 апреля, 2019 г.). – Севастополь, 2019. – 61 с.
32. *Шевелева С.А., Куваева И.Б., Ефимочкина Н.Р., Минаева Л.П.* Микробиологическая безопасность пищи: развитие нормативной и методической базы // Вопросы питания. 2020. №4. С. 125-145.
33. Экспертиза дикорастущих плодов, ягод и травянистых растений. Качество и безопасность: учебник / И.Э. Цапалова, О.В. Голуб, М.Д. Губина [и др.]; под общ. ред. В.М. Позняковского. – 6-е изд., перераб. и доп. – М.: ИНФРА-М, 2018. – 463 с.

34. *Sanchez L.C.* Disorders of the Gastrointestinal System // *Equine Internal Medicine*. 2018. pp. 709-842.
35. *Suzzi G., Corsetti A.* Food Microbiology: The Past and the New Challenges for the Next 10 Years // *Front Microbiol*. 2020 Feb 21. Vol. 11. P. 237.
36. *Wells R.D., Parniewski P., Pluciennik A., Bacolla A., Gellibolian R., Jaworski A.* Small slipped register genetic instabilities in *Escherichia coli* in triplet repeat sequences associated with hereditary neurological diseases // *J Biol Chem*. 1998 Jul 31. Vol. 273(31). pp. 19532-41.
37. *Wenner J.J., Rettger L.F.* A Systematic Study of the *Proteus* Group of Bacteria // *J Bacteriol*. 1919 Jul. Vol. 4(4). pp. 331-353.

Учебное издание

Козлов Андрей Владимирович
Снегирев Дмитрий Владимирович

**ОСНОВЫ САНИТАРНОЙ
И ПИЩЕВОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

Учебник для Вузов

Издание в авторской редакции
Авторская корректура
Компьютерная верстка Н.В. Бражниковой

Подписано в печать 21.11.2023 г. Формат 60/84×16
Усл. печ. л. 21,0 Тираж 100 экз. Заказ № 11
Издательство ООО «Плодородие», 127343, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 31-А
Тел.: 8 (499) 976-25-01, e-mail: pl@vniia-pr.ru