

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

КАФЕДРА БИОТЕХНОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

МИКРОФЛОРА МЯСА ПТИЦЫ

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки 19.03.01 Биотехнология
очной формы обучения, группы 07001316
Семидоцкой Анастасии Владиславовны

Научный руководитель
старший преподаватель кафедры
биотехнологии и микробиологии
Серикова Н.В.

БЕЛГОРОД 2017

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1. Микрофлора мяса.....	6
1.1.1. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы	7
1.1.2. Сапрофитные микроорганизмы	8
1.1.3. Санитарно-показательные микроорганизмы.....	11
1.2. Источники обсеменения мяса птицы.....	13
1.3. Факторы, способствующие развитию микроорганизмов и разрушению тканей мяса	14
1.4. Изменение микрофлоры в процессе хранения мяса.	16
1.5. Санитарно-микробиологический контроль продукции на мясных предприятиях в Белгородской области.....	21
ГЛАВА 2.ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	Error! Bookmark not defined.
2.1. Объект исследования	29
2.2. Условия, оборудование и методы исследования	28
ГЛАВА 3.РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
3.1. Микрофлора свежего мяса птицы.....	31
3.2. Микрофлора хранящегося мяса птицы.....	33
3.3. Статистическая обработка полученных данных	38
ВЫВОДЫ.....	Error! Bookmark not defined.
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	44

ВВЕДЕНИЕ

Проблема экологической и биологической безопасности и высокого качества продуктов питания является важнейшим государственным и научным приоритетом, так как пищевая промышленность непосредственно влияет на здоровье населения.

Качественный микробиологический и химический анализ сырья животного происхождения особенно необходим в связи с тем, что, кроме употребления в пищу, сырье после биотехнологической переработки может использоваться для изготовления лекарственных препаратов, биологически активных добавок. Поэтому органы птиц, подлежащие переработке и реализации, не должны быть носителями патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Источники обсеменения мяса микроорганизмами чрезвычайно разнообразны: заражение мяса, после убоя, содержимым кишечника, при несоблюдении санитарных норм в процессе технологической переработки на производстве, инфицирование мяса различными факторами окружающей среды (сальмонеллез, листериоз, псевдотуберкулез), инфицирование возбудителями, с повышенной устойчивостью, от объектов внешней среды, почвой (клостридиозы, сибирская язва), водой для обмывания туш, не соответствующей качеству питьевой воде, особенно при переработке птиц на мясо в условиях мелких убойных цехов [8]. Заражение через различный инвентарь, оборудование, руки рабочих мясоперерабатывающих организаций, которые считаются носителями недопустимой микрофлоры.

Мясо и мясные продукты имеют высокую биологическую ценность, обеспечивая организм человека как белками, так и углеводами. Мясо птицы является весьма чувствительным продуктом, быстро изменяющим свои качественные характеристики под влиянием различных внешних факторов. Следовательно, на данный момент, главной задачей является получение мяса с низким уровнем содержания микроорганизмов. При наличии микробов

внутри или на поверхности туши птицы следует ограничить их размножение и ферментативную активность, а также максимально снизить их численность. Эти задачи можно решить разными методами, например, консервированием с применением высоких и низких температур, методом посола, копчения, сушки и т.д. На данный момент используют смешанные способы консервирования мяса, это позволяет добиться максимально возможного сокращения количества микроорганизмов, при этом сохранив качество мяса и основные характеристики. Изначально микрофлора мяса состоит из разных микроорганизмов, расщепляющих белки, жиры и углеводы [3]. Гликолитическая активность микробов является необходимой при изготовлении мясных продуктов. Чем гигиеничнее получения мяса, тем выше содержание в нем полезных микроорганизмов. Основную массу микрофлоры составляют сапрофитные микроорганизмы, существенно снижающие качество мясопродуктов. Наряду с сапрофитной микрофлорой в мясо попадают патогенные и токсигенные микроорганизмы, которые вызывают инфекционные заболевания и пищевые отравления. Поэтому мясо и мясные продукты подвергаются жесткому гигиеническому контролю со стороны ветеринарной службы и органов санитарно-эпидемиологического надзора [3, 9, 10].

Проблема исследования заключается в безопасности качества мяса птицы.

Цель исследования – проанализировать микробиологические показатели свежего и хранящегося мяса птицы.

Объект исследования: микрофлора мяса птицы (курица, индейка).

В соответствии с целью и объектом исследования были поставлены следующие задачи:

1. Провести анализ литературы по микробиологической обсемененности мяса птицы.
2. Установить микробиологическую обсемененность свежего и хранящегося мяса курицы и индейки.

3. Выявить количественные показатели обсемененности мяса птицы во время хранения.

Для реализации поставленной цели, нами были использованы методы микроскопии. В работе использовался микроскоп фирмы «МИКРОМЕД», предназначенный для наблюдения и морфологических исследований препаратов в проходящем свете по методу светлого поля, а также по методу темного поля и фазового контраста в комплекте с соответствующими устройствами. Позволяет выводить изображение микробиологического препарата в режиме реального времени на экран ПК с помощью видеоокуляра.

Выпускная квалификационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов и выводов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Микрофлора мяса.

Мясо - туша или часть туши, полученная от убоя птицы, представляющая собой совокупность мышечной, соединительной, жировой и костной тканей. Мясо - это хорошая среда для размножения многих микроорганизмов. Контаминация мяса, в том числе патогенными микроорганизмами, может произойти как при жизни животного (эндогенное обсеменение), так и во время убоя, разделки, транспортировки и хранения (экзогенное обсеменение), поэтому во всех случаях необходимо соблюдать санитарно-гигиенические нормы и правила хранения и транспортирования мяса. Если санитарно-гигиенические нормы не соблюдались, то получают мясо и внутренние органы птицы, содержащие различное количество сапрофитных микроорганизмов, среди которых гнилостные бактерии, БГКП, споры плесневелых грибов, дрожжи, стрептомицеты, кокки, а в отдельных случаях сальмонеллы и другие патогенные микроорганизмы. На поверхности мяса могут так же содержаться гнилостные, молочнокислые, маслянокислые и другие бактерии, микрококки, плесневые грибы, дрожжи и др. Мясо и мясные продукты, полученные от больных птиц и не прошедшие процесс обезвреживания, становятся причиной заболевания людей сальмонеллезом и зоонозными инфекциями — сибирской язвой, бруцеллезом, ящуром и др [22].

Измельчение мяса способствует стремительному его обсеменению микроорганизмами и порче. Несмотря на большое количество микробов на поверхности мяса, проникают они в толщу медленно.

Гнилостный запах с поверхности мяса свидетельствует о том, что на глубине 0,5-2 см вовсе не содержит микроорганизмов. Кишечные палочки составляют основную часть микрофлоры мяса птицы [1]. Гниение в мясе в основном вызвано аэробной микрофлорой, но изредка наблюдается и анаэробное, при попадании в толщу *Bacillus putrificus*, *Bacillus sporogenes*,

Bacillus hystoliticus. Редко эти процессы протекают одновременно.

По общепризнанной классификации ФАО (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН) микроорганизмы, контаминирующие мясо птицы на разных стадиях технологического процесса, разделяют на 4 основные группы: сапрофиты, патогенные и условно-патогенные, санитарно-показательные [10, 13].

1.1.1. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы

Патогенными считаются микроорганизмы, которые вызывают заболевания у растений, животных и людей. Патогенность - это видовой признак микроорганизмов, который закреплен генетически. В зависимости от условий болезнетворное действие микроорганизмов проявляется в различной степени.

Уровень патогенности обычно называют вирулентностью. Патогенность свойственна микробам – паразитам, а также условно-патогенным микроорганизмам. Условно - патогенными считаются микроорганизмы, вызывающие заболевания только в определенных условиях: накопление в больших количествах и снижение иммунитета инфицируемого организма. Условно - патогенными считаются представители постоянной микрофлоры животных и человека, а так же некоторые микроорганизмы внешней среды. Главным свойством патогенных и условно-патогенных микроорганизмов является способность образовывать токсины.

Экзотоксины – это ядовитые вещества белковой природы, которые выделяются из микробных клеток наружу в окружающую среду. Экзотоксины обладают факультативным действием на определенные органы и ткани, это сопровождается характерными клиническими проявлениями, они малоустойчивы к высоким температурам и при нагревании их токсичность снижается.

Эндотоксины при жизни микроорганизмов не выделяются в

окружающую среду и поступают в нее только после их гибели и разрушения клеток. Эндотоксины имеют сложный химический состав, содержат в основном полисахариды и липопротеины. Они менее ядовиты и не обладают факультативным действием на организм. Эндотоксины более термоустойчивы, могут выдерживать повышение температуры до 100°C в течение длительного времени.

Таким образом, патогенные микроорганизмы попадают в пищевые продукты из больного организма, а также, могут попадать из объектов внешней среды: из почвы, воды, воздуха, от переносчиков различных инфекционных заболеваний (насекомые и грызуны). Характер инфекции определяется вирулентностью микроорганизмов – возбудителей, местом проникновения их в организм, а также состоянием защитных сил организма. Признаки заболевания проявляются через некоторое время после заражения. Этот промежуток времени называется инкубационным периодом. Продолжительность инкубационного периода при различных заболеваниях, чаще всего, неодинакова. После чего проявляются клинические симптомы, характерные для каждого отдельного заболевания.

1.1.2. Сапрофитные микроорганизмы

1) Гнилостные бактерии весьма распространены в природе. Они присутствуют в почве, воде, воздухе, в пищевых продуктах, в кишечнике. Гнилостные бактерии обычно вызывают распад белков с выделением ядовитых веществ, имеющих неприятный запах. Большинство гнилостных бактерий чувствительны к pH среды. Наиболее распространенными и активными из гнилостных бактерий считаются аэробные споровые палочки: сенная, картофельная, грибовидная, цереус. Сенная палочка (*Bacillus subtilis*) – грамположительные короткие палочки с закругленными концами и центрально расположенной спорой. Основным периодом роста наблюдается в широком диапазоне температур от 5 до 45°C, обладают высокой

протеолитической и гликолитической активностью[2]. Картофельная палочка (*Bacillus mesentericus*) является собой крупной грамположительную палочкой с закругленными концами и спорой, находящейся в центре клетки. На МПА образуют колонии с морщинистой поверхностью. По ферментативным свойствам схожи с сенной палочкой, именно поэтому их объединяют в группу картофельно-сенных бацилл. Палочка цереус (*Bacillus cereus*) – крупная грамположительная подвижная палочка, спорообразующая, иногда некоторые штаммы формируют капсулу. Эти бактерии могут расти при температуре от 10 до 48°C, анаэробы, устойчивы к высокой концентрации поваренной соли и сахара, могут продуцировать ядовитые вещества.

К аэробным бесспорным палочкам относятся бактерии рода *Pseudomonas*: *Pseudomonas prodigiosum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* . Все они являются подвижными грамотрицательными палочками, не образующими спор и капсул, строгими аэробами. Оптимальная температура роста 14 – 20°C. Псевдомонасы характеризуются высокой протеолитической и липолитической активностью, могут сбраживать углеводы с образованием кислот, продуцировать слизь. Развитие и биохимическая активность этих бактерий затормаживаются при pH ниже 5,5 и при 5%-ной концентрации поваренной соли [2, 3, 11]. Псевдомонасы – антагонисты многих бактерий и плесеней, т.к. вырабатывают антибиотические вещества. Некоторые виды этих бактерий могут вызывать заболевания животных и растений.

2) Микрококки. Семейство микрококков включает роды *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Sarcina* . Клетки имеют форму шара, неподвижные. Считаются аэробами и факультативными анаэробами. Наряду с сапрофитными существуют и патогенные виды, вызывающие заболевания у людей и птиц, а также пищевые отравления. На МПА образуют небольшие круглые колонии белого, желтого и розового цветов [11].

3) Молочнокислые бактерии по морфологии делятся на стрептококки и палочки. В обеих группах имеются гомо - и гетероферментативные бактерии.

Все они окрашиваются по Граму положительно, неподвижные, а также устойчивы к кислоте и спирту, весьма требовательны к составу питательной среды. Молочнокислые бактерии противоположны гнилостным, маслянокислым бактериям, т.к. способствуют повышению кислотности среды. Многие виды продуцируют антибиотические вещества.

4) Маслянокислые бактерии представляют собой крупные подвижные палочки, окрашиваются по Граму положительно, образуют споры и относятся к роду *Clostridium*. Споры могут выдерживать кипячение в течение двух минут. В цитоплазме клеток содержатся зерна гранулезы, которые окрашиваются йодом в синий цвет. Оптимальная температура развития 30 - 35°C. Маслянокислые бактерии сбраживают молочный сахар и молочную кислоту с образованием масляной кислоты и побочных продуктов брожения, могут усваивать белки и аминокислоты. Развиваются в средах с рН 7,4 – 7,6.

5) Плесневые и дрожжевые грибы. Большинство грибов считаются сапрофитами. Плесневые грибы и многие виды дрожжей могут вызывать порчу пищевых продуктов. Плесневые грибы образуют на поверхности субстратов бархатистые колонии, которые могут сливаться в сплошной налет. Оптимальными условиями для роста плесеней являются хороший доступ кислорода и кислая реакция среды. Они могут развиваться при низкой влажности и низкой температуре до -11°C, при высоком осмотическом давлении, а некоторые виды при ограниченном доступе кислорода.

Плесневение мяса сопровождается химическими реакциями, которые способствуют изменению запаха, вкуса и товарного вида мяса.

Дрожжи – это факультативно анаэробные микроорганизмы, которые отлично растут в кислой среде при температуре 21 - 30°C, но некоторые виды развиваются и при относительно низкой температуре. Дрожжи попадают на пищевые продукты из воздуха, сбраживая большинство углеводов.

Пленчатые дрожжи углеводы не сбраживают, (роды *Candida*, *Mycoderma*). Клетки таких дрожжей имеют более вытянутую форму.

Попадая в продукты, они вызывают его порчу. Например, в мясе птицы дрожжи потребляют молочную кислоту, это ведет к повышению рН мяса. Многие дрожжи могут расщеплять жиры, что приводит к прогорканию продуктов [11, 23].

Таким образом, сапрофитные микроорганизмы составляют технически вредную микрофлору, вызывающую порчу продуктов при длительном хранении.

1.1.3. Санитарно-показательные микроорганизмы

Прямое выявление патогенных микроорганизмов в объектах внешней среды затруднительно по следующим признакам: - непостоянное присутствие болезнетворных микроорганизмов в окружающей среде; - незначительное содержание их относительно сапрофитной микрофлоры; - процесс выделения патогенных микробов на питательных средах осложняется конкурентным влиянием сапрофитной флоры [2, 9]. В связи с этим необходимо использовать косвенные методы, устанавливая факт и уровень загрязнения различных объектов выделениями человека и птиц. Чем массивнее загрязнение, тем вероятнее наличие в объекте патогенных микроорганизмов. Наличие таких микробов вне организма свидетельствует о загрязнении среды выделениями людей и птиц. Обнаружение нормальных обитателей верхних дыхательных путей или кишечника позволяет сделать заключение о загрязнении среды и заподозрить присутствие возбудителей заболеваний [18]. Выделяемые микроорганизмы служат показателями санитарного состояния объектов внешней среды, сообщают о потенциальной опасности, и поэтому названы санитарно-показательными. Санитарно-показательные микроорганизмы должны отвечать следующим требованиям [10, 11, 13]:

1) содержатся в выделениях человека и птиц, должны поступать в среду в больших количествах;

- 2) не должны иметь другого резервуара кроме организма людей и птиц;
- 3) во внешней среде должны сохранять жизнеспособность в течение некоторого времени без размножения;
- 4) не изменяют свои биологические свойства во внешней среде;
- 5) легко обнаруживаются в минимальном количестве;
- 6) идентификация и количественный учет проводятся простыми, доступными и малозатратными методами.

В отношении кишечных заболеваний функцию индикатора выполняют представители нормальной микрофлоры кишечника. В содержимом толстого кишечника в больших количествах представлены бактерии группы кишечной палочки (БГКП), энтерококки и др. Обнаружение этих бактерий в объектах внешней среды указывает на экскрементное загрязнение и на возможное присутствие возбудителей кишечных заболеваний, которые также выделяются наружу с экскрементами. Под общим названием «бактерии группы кишечной палочки» (БГКП) объединены семейства кишечных бактерий родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*. Все они являются грамотрицательными, не спорообразующими палочками, расщепляющими лактозу до кислоты и газа при 37°C и не обладающие оксидазной активностью. Для характеристики фекального загрязнения пищевых продуктов используют БГКП, уровень загрязнения оценивается массой продукта, в которой БГКП не обнаруживаются. Санитарно-показательное значение имеет и общая бактериальная обсемененность исследуемого объекта. На данный момент этот показатель называется: «Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов» (КМАФАнМ), определяемых в единице массы или объема исследуемого образца. Чем выше этот показатель, тем больше вероятность попадания в объект патогенов[6].

Таким образом, санитарно-микробиологические исследования объектов внешней среды позволяют выявить уровень их опасности для людей в аспекте возможности заражения патогенными микроорганизмами.

1.2. Источники обсеменения мяса птицы.

Мясо птицы может быть обсеменено двумя основными путями. В живом организме всегда находятся микроорганизмы, которые при определенных условиях могут попадать в кровь и в мускулатуру. Этот путь называется эндогенным, то есть происходящим при жизни животного. Посмертное обсеменение туши, связанное с попаданием микроорганизмов из окружающей среды, называют экзогенным [17].

Механизмы обсеменения туши мяса птицы хорошо изучены. Мясо, полученное в условиях мясокомбината и агрохолдингов, чаще всего обсеменено постоянными обитателями желудочно-кишечного тракта животного, что связано с понижением общей сопротивляемости организма. На животное могут воздействовать неблагоприятные факторы: стрессовое состояние, связанное с изменением привычной обстановки, состояние голода и жажды, переохлаждение или перегревание, утомление во время перегона.

Ряд исследовательских работ был посвящен изучению состава микрофлоры желудочно-кишечного тракта птиц. В ЖКТ птиц находится большое количество микроорганизмов, попавших туда, прежде всего, с кормом. Их количество достигает 113 микробов в 1 г содержимого рубца. В кислой среде желудка часть микрофлоры погибает, но могут оставаться жизнеспособные бактерии, дрожжи и плесневые грибы. В тонком кишечнике наблюдается последующее снижение уровня микроорганизмов до 10^4 кл/г содержимого [3, 15, 20]. Здесь обитают микроорганизмы, относящиеся к грамотрицательным палочковидным бактериям, грамположительные энтерококки, клостридии, дрожжи и плесневые грибы. Состав и соотношение микрофлоры зависят от состава кормов, отдела желудочно-кишечного тракта, времени года и возраста животного.

Не вызывая заболевания, без проявления внешних симптомов, у птиц, в кишечнике могут длительное время находиться сальмонеллы. При снижении

защитных сил животного они проникают в мезентериальные лимфатические узлы, После чего в кровь и, распространяясь по организму, вызывают вторичный сальмонеллез.

Внешний путь обсеменения мяса птицы связан с этапами разделки и переработки туши, дальнейшей транспортировкой, условиями хранения, технологией получения мясопродуктов и санитарным состоянием предприятия.

Значительна контаминация воздуха, особенно в момент снятия оперения и потрошения тушек птицы. Для снижения контаминации воздуха и уменьшения загрязнения кожных покровов до разделки туши подвергаются обработке водой под душем, иногда с добавлением дезинфицирующих средств. Обработка туши паровоздушной смесью помогает уменьшить контаминацию в 100-200 раз [17].

Экзогенное обсеменение микроорганизмами может быть связано с проведением обескровливания птиц. В течение нескольких минут сердце животного продолжает работать, кровь может частично всасываться за счет пониженного давления в вены. В кровь могут попадать микроорганизмы с инструментов, из содержимого пищевода, с кожи птиц. [20, 21].

После туалета туши направляют в остывочные камеры для созревания. При температуре 0-4°C в течение 48 ч в мясе протекают ферментативные процессы, обуславливающие качество последующей готовой продукции. На мясных тушах птицы образуется сухая пленка, которая в той или иной степени препятствует размножению микробов на поверхности. Под действием ферментов в тканях происходит гликолиз, накопление кислот и понижение рН мяса, что снижает жизнедеятельность микроорганизмов [1].

1.3. Факторы, способствующие развитию микроорганизмов и разрушению тканей мяса

Даже после качественной и правильной обработки мяса на нем

нередко обнаруживается большое количество многих представителей микрофлоры, в том числе *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, амонифицирующие микроорганизмы, клостридии, споры плесневых грибов. Микроорганизмы проникают вглубь тканей вдоль фасций, костей, кровеносных сосудов и, развиваясь в них, вызывают порчу продукта. Дальнейшее размножение микроорганизмов в мясе зависит от различных физико-химических факторов.

1. Температурный фактор. При хранении мяса при 18–20 °С в течение суток микроорганизмы проникают на 2–3 см в его глубину, а при 37 °С распространяются по всей его толще, это сопровождается развитием возбудителей различных инфекционных заболеваний, в том числе сальмонелл. В охлажденном мясе температура глубоких слоев достигает 0–4 °С, поэтому в нем развиваются психрофиллы, но длительное время сохраняют жизнеспособность и сальмонеллы, токсигенные стафилококки, другие представители патогенных и токсигенных мезофилов. Поэтому рекомендуемый ГОСТ 779-87 срок хранения охлажденного мяса при температуре -1 °С невысок – не более 16 суток.

2. Фактор, определяющий влагу. Во время транспортировки и хранения мяса необходимо строго соблюдать температурно-влажностный режим (температура воздуха 0...-10°С, влажность 90 %). При таком режиме на охлажденном мясе наиболее активно размножаются бактерии рода *Pseudomonas*, и именно они при хранении мяса сверх допустимого срока становятся возбудителями порчи.

3. Осмотическое давление. Имеющиеся среди микроорганизмов галофилы могут развиваться как в соленом мясе, так и в рассоле, легко выдерживая NaCl 15%. К наиболее солестойким представителям микрофлоры относятся плесени, дрожжи и некоторые патогенные микроорганизмы.

4. Показатель уровня кислотности (рН) мяса зависит от количества гликогена и образуемой из него молочной кислоты. После убоя животного

pH свежего мяса дает слабощелочную реакцию, составляя 7,1–7,2. При увеличении кислотности происходят денатурация белков, разрыхление мышечной ткани, образование веществ, отвечающих за вкус и аромат созревшего мяса. В кислой среде развития гнилостных микробов не происходит. В результате может начаться гнилостный процесс, если не принять соответствующих мер, направленных на его сохранность.

1.4. Изменение микрофлоры в процессе хранения мяса.

Мясо хранят как в охлажденном, так и замороженном виде. В охлажденном и мороженом мясе в процессе хранения происходят изменения количественного и качественного состава микрофлоры. Охлажденным считается мясо, хранящееся непродолжительное время (до 3 недель) при температуре 0 - 4°C. Низкая температура охлажденного мяса влияет на микроорганизмы разных температурных групп неодинаково. На термофильные и мезофильные микроорганизмы низкие температуры оказывают угнетающее действие [12]. Термофилы и часть мезофильных микробов погибают, однако большое число мезофилов замедляют свое развитие и остаются в мясе в состоянии анабиоза, например, многие виды бактерий из семейства *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*.

Психрофильные микроорганизмы развиваются и проявляют ферментативную активность в охлажденном мясе при температуре 1°C и ниже. Так же обнаруживаются психротрофные микроорганизмы, которые способны к росту при низкой температуре, однако оптимальные условия их роста составляют 20 - 30°C. Развитие психрофильных и психротрофных микроорганизмов может осуществляется при умеренных и низких температурах, но продолжительность всех фаз развития увеличивается [17]. На начальной стадии хранения микрофлора охлажденного мяса остается постоянной в течение некоторого времени. Этот период называется лаг-фазой (или фазой задержки размножения), и характеризуется

способностью микроорганизмов адаптироваться к условиям среды. Продолжительность этой фазы зависит от качества мяса, первоначальной обсемененности, температуры мяса и воздуха, скорости его охлаждения.

Чем ниже уровень микробной обсемененности мяса, тем длительнее будет лаг-фаза. В охлажденном мясе, полученном при убойе здоровых, упитанных птиц 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 сокращается, и микроорганизмы начинают размножаться уже на первые сутки. Увеличение фазы задержки размножения наблюдается и при быстром охлаждении мяса, при наличии хорошей корочки подсыхания. По истечении лаг-фазы микроорганизмы, способные к росту при низкой температуре, начинают размножаться. Количество психрофильных и психротрофных микроорганизмов возрастает. Микроорганизмы, не способные к росту, отмирают. В установленном температурно-влажностном режиме хранения в охлажденном мясе активно размножаются и становятся преобладающими не образующие спор грамотрицательные палочки родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*, а также плесневые грибы и дрожжи. Наиболее активно размножаются бактерии рода *Pseudomonas*, которые обладают противодейственными свойствами в отношении других микроорганизмов. Через несколько недель бактерии этого рода составляют 90% микрофлоры охлажденного мяса. Эти бактерии выделяют активные ферменты, расщепляющие белки и жиры, а также отвечают за выработку слизи. Они являются возбудителями гниения охлажденного мяса, которое хранится сверх допустимого максимального срока [8]. Следует отметить, что многие патогенные микроорганизмы: золотистый стафилококк, сальмонеллы, возбудитель ботулизма сохраняют устойчивость в охлажденном мясе [12].

Губительное действие на микроорганизмы оказывает низкая

температура, повышение концентрации растворенных веществ и понижение влажности продукта.

Охлаждение мяса производят непосредственно после убоя птиц. Быстрое охлаждение в морозильных установках туннельного типа предотвращает размножение микроорганизмов в мясе, что важно при неблагоприятных санитарно-гигиенических условиях производства. Для удлинения срока хранения охлажденного мяса разрабатываются и внедряются вспомогательные методы. К ним относятся частичная замена воздуха углекислым газом, полная замена воздуха азотом, вакуумная упаковка мяса. Эти методы позволяют увеличить сроки хранения охлажденного мяса в 2 раза до 65 - 70 суток. В таких условиях хранения в мясе развиваются преимущественно психрофильные факультативно анаэробные бактерии. В целях обеспечения высокого качества охлажденного мяса производству необходимо соблюдать определенные 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 [10].

Мороженое мясо - это свежее мясо, которое технически подготовлено для длительного хранения. В соответствии с действующими, на данный момент, технологическими инструкциями и правилами стандартных операционных процедур на предприятии замороженное мясо рекомендуется хранить при температуре не выше 13°C, влажность воздуха 91 - 96%. Температура -19°C для хранения замороженного мяса является наилучшей, т.к. при этой температуре прекращаются размножение и ферментативная активность многих микроорганизмов, а при температуре выше -19°C снижается качество. В некоторых случаях мороженое мясо хранят при температуре -12°C, но его качество значительно ухудшается. Мясо замораживают целыми тушами, полутушами, четвертями, а также кусками. В процессе замораживания, хранения происходит отмирание наибольшей части

микроорганизмов.

При замораживании мяса вода меняет свое агрегатное состояние и образует кристаллы льда. При быстром замораживании образуются мелкие кристаллы льда как внутри, так и вне клеток; при медленном замораживании - крупные кристаллы, которые способствуют повреждению оболочки мышечных клеток [12, 17]. В результате вымерзания воды в мясе птицы уменьшается влажность и увеличивается концентрация растворенных веществ, способствующие отмиранию микроорганизмов.

В замороженном мясе к концу хранения обнаруживаются жизнеспособные сапрофитные микроорганизмы. В основном это возбудители порчи, которые отличаются высокой устойчивостью к низкой температуре. Следует заметить, что в мороженом мясе к концу срока хранения изменяется соотношение между разными группами микробов. Преобладающими могут стать не психрофильные сапрофиты, а холодоустойчивые мезофиллы и среди них патогенные и токсигенные бактерии. Преимущественно, существенное значение в увеличении микробиальной обсемененности мяса имеет процесс оттаивания – дефростация [12, 17]. При оттаивании температура на поверхности мяса увеличивается, далее происходит выделение мышечного сока, т.е. появляются благоприятные условия для размножения микроорганизмов, которые начинают интенсивно размножаться. Повышение активности их размножения 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 замораживании 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 2 - 6 °С. При этом температура на поверхности мяса повышается медленно, одновременно

происходит реабсорбция выделяющегося мышечного сока, т.е. размножение микроорганизмов не стимулируется [3]. Быстрое размораживание при комнатной температуре способствует резкому повышению температуры на поверхности мяса и интенсивному размножению микроорганизмов. Вышеизложенное показывает важное значение начальной микробиальной обсемененности мяса перед поступлением на замораживание.

Основные пороки хранящегося мяса:

Типичными возбудителями ослизнения считаются аэробные бактерии родов *Pseudomonas* и *Achromabacter*. Ослизнение происходит на начальном этапе хранения. При ослизнении отсутствует неприятный запах, но на поверхности мяса появляется липкий слой слизи мутно-серого цвета, состоящий из различных бактерий, дрожжей и других микроорганизмов [9].

При хранении мяса с признаками ослизнения происходит дальнейшая его порча, называемая гниением, которое вызывают неспорообразующие аэробные и факультативно-анаэробные бактерии *Proteus vulgaris*, *Bacterium prodigiosum*, *Pseudomonas pyocyanea*, *Pseudomonas fluorescens*, а так же спорообразующие аэробные *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus Mycooides* и анаэробные бактерии *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium putrificus* [2, 4, 19]. Гниение – это процесс глубокого распада белков, происходящий с накоплением большого числа органических веществ [3].

Кислотное брожение характеризуется появлением устойчивого кислого запаха, дряблой консистенцией тканей, потемнением мышечной ткани, изменением его окраски до серовато-зеленого цвета, особенно на разрезе. Возбудителями кислотного брожения считаются психрофильные молочнокислые палочки рода *Lactobacterium*, бактерии рода *Microbacterium* и дрожжи, которые могут развиваться в глубине мышечной ткани, без доступа кислорода. Размножаясь в мясе и мясных продуктах, эти микроорганизмы разлагают углеводы мышечной ткани с выделением органических кислот [3].

Пигментация – это образование на поверхности мяса окрашенных цветных пятен. Возбудителями данного вида порчи считаются аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas pyocyaneae*, *Pseudomonas synchyanea*, *Bacterium prodigiosum*, сарцины, пигментные дрожжи, чаще всего рода *Rhodotorula*. Данному виду порчи чаще всего подвергается мясо, хранившееся при недостаточной циркуляции воздуха и повышенной влажности.

Свечение возникает в результате размножения на поверхности мяса светящихся (фотогенных) бактерий, которые обладают способностью свечения-фосфоресценцией. К группе фотобактерий относят различные неспоровые грамотрицательные и грамположительные палочки, кокки, вибрионы [9, 11].

Таким образом, предохранение мяса от влияния микроорганизмов следует начинать с момента убоя птицы и до поступления на оттаивание. В целях предотвращения порчи мороженого мяса нужно поддерживать постоянную температуру - 19°C при относительной влажности воздуха 91 - 96%, производить санитарную обработку помещения. Продукция с признаками начальной стадии порчи после обработки подлежит быстрой реализации. При изменении органолептических показателей готовую продукцию и полупродукты направляют на техническую утилизацию.

1.5. Санитарно-микробиологический контроль продукции на мясных предприятиях в Белгородской области.

Задачей микробиологического контроля на мясоперерабатывающих предприятиях является обеспечение максимально быстрого обнаружения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, выявление путей их проникновения в производственные помещения, цеха, возможности накопления на отдельных этапах технологического процесса и попадания в готовую продукцию, которая подлежит реализации. Заключительной целью

микробиологического контроля является предотвращение развития жизнедеятельности посторонней микрофлоры с помощью выполнения профилактических мероприятий. Санитарно-микробиологический контроль осуществляется на предприятиях периодически на всех этапах производственного процесса, начиная с поступившего сырья и заканчивая готовой продукцией, на основании ведомственных инструкций, ГОСТов, технических условий, СанПиНов, методических указаний, спецификаций, стандартных операционных процедур и других нормативных документов, разработанных специалистами для каждой отрасли пищевой промышленности [13].

Для различных пищевых комбинатов разработаны инструкции и схемы микробиологического контроля, в которых указаны объекты контроля, точки и методы отбора проб, периодичность контроля, приведен перечень микробиологических показателей и нормативов. Микробиологический контроль на предприятиях мясоперерабатывающей промышленности производится с целью определения санитарного качества сырья, полуфабрикатов и готовой продукции, выявления различных причин и источников обсеменения продуктов микроорганизмами в ходе технологического процесса. Микробиологический контроль состоит из:

- контроля сырья и готовой продукции;
- санитарно-гигиенического контроля условий промышленного производства;
- санитарно-гигиенического контроля всех технологических процессов [9].

Микробиологические критерии безопасности пищевых продуктов. Контроль сырья и готовой продукции проводится с целью определения соответствия продукта нормативам микробиологической безопасности.

Санитарно-бактериологический контроль осуществляется с целью выявить загрязнение микроорганизмами технологического оборудования, инвентаря, тары, упаковочных материалов, воздуха, воды, используемой для

технологических целей, рук и спецодежды работников, занятых в производстве [13]. Регулярно проводимый санитарно-гигиенический контроль условий производства позволяет выявить источники бактериального загрязнения, судить о качестве мойки и дезинфекции оборудования.

В «Гигиенических требованиях к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» (СанПиН 2.3.2.1078-01) к мясу, как важнейшему сырьевому ресурсу пищевой промышленности, предъявляются жесткие санитарно-микробиологические требования.

На тушах, полутушах, четвертинах не допускается наличие остатков внутренних органов или кровоподтеков, сгустков крови, бахромок, побитостей, загрязнений остатков щетины на поверхности шкуры свинины. На подмороженном и замороженном мясе не должно наблюдаться быть льда, ледяной корки и снега [46].

Потемнение поверхности туши может произойти в результате плохого обескровливания. При пробной варке такого мяса образуется мутный бульон с обилием мелких коричневых хлопьев, которые выпадают в осадок. Плохо обескровленное мясо очень быстро подвергается порче, так как кровь является благоприятной средой для развития микроорганизмов [24, 52].

При усомнении в свежести и качества мяса его подвергают органолептическому исследованию, применяя те методы, которые предусмотрены стандартом "Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести", данные представлены в таблице 1.5.1.

Таблица 1.5.1.

Органолептические методы определения качества мяса

Состояние мяса	Наружный вид мяса	Плотность, консистенция	Жир	Запах
Мясо свежее,	Поверхность туши	Плотная,	Белый, с	Приятный

охлажденное (доброкачественное)	имеет сухую корочку подсыхания, не прилипает к пальцам. Цвет корочки подсыхания бледно-розовый	эластичная ямка от вдавливания, выравнивается быстро	легким желтоватым оттенком, твердый, крошится	, ароматичный
Мясо мороженое (доброкачественное)	Поверхность на месте разреза ровная, наружная поверхность покрыта «инеем». Цвет бледно-серый, от прикосновения пальца или горячего ножа появляется ярко-красное пятно. При оттаивании мясо дает много мясного сока кирпично-красного цвета, при надавливании ямка не выравнивается, пальцы обильно	Мясо плотное, трудно разрезается ножом	Белый, с известковым оттенком	Запах не имеет, пока не оттаяет. Чтобы проверить на запах, необходимо небольшое кусочек оттаять или облить кипятком и быстро слить воду

	смачиваются соком			
Мясо повторно замороженное	Цвет кирпично-красный, неравномерный, местами ярко-красный, местами синий, местами голубой (радужность), мозг трубчатых костей окрашен в красный цвет. От прикосновения пальца или горячего ножа цвет не меняется. Оттаявшее мясо отличается дряблостью	Мясо плотное, трудно режется ножом	Жировая прослойка со стороны мышечных волокон окрашена в кирпично-красный цвет	Запаха не имеет, пока не оттаяет. Для определения запаха необходимо кусок обпить кипятком и быстро спить воду
Мясо испорченное	Мясо покрыто белой или красноватой плесенью, на разрезе желтовато-глинистого цвета	Мясо дряблое, мокрое. Ямка при надавливании почти не выравнивается	Жир покрыт белой, зеленой или красноватой плесенью. Консистенц	Специфический запах плесени и затхлости, особенно если кусок мяса

			ия маслообраз ная	облить кипятком
--	--	--	-------------------------	--------------------

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В качестве объектов исследования было взято два вида мяса: образец №1 – курица; образец №2 - индейка.

Мясо курицы и индейки охлажденное, приобретенное в гипермаркете «Лента». Весь поступающий товар в магазин должен обязательно проверяться по качеству и количеству.

Магазином "Лента" ведется инвентаризация ведомостей и наличия ГОСТов, технических условий согласно перечню нормативно-технической документации по отдельным группам товаров.

Качество мяса птицы регламентируется ГОСТ 217784 и ГОСТ 25391. При этом определяется упитанность, качество обработки, термическое состояние, свежесть.

В соответствии с ГОСТом мясо кур делят на 2 сорта: 1-го сорта Мышцы развиты хорошо. Форма груди округлая. Киль грудной кости не выделяется. Отложения подкожного жира на груди, животе и в виде сплошной полосы на спине; 2-го сорта мышцы развиты удовлетворительно. Форма груди угловатая. Киль грудной кости выделяется. Незначительные отложения подкожного жира в нижней части живота и спины. Допускается отсутствие жировых отложений при вполне удовлетворительно развитых мышцах. [7].

2.2. Условия, оборудование и методы исследования

Анализ органолептических показателей осуществлялся на основании требований ТУ, ГОСТ 7702.0-74 "Мясо птицы. Методы отбора образцов. Органолептические методы оценки качества".

Определялся внешний вид и цвет, консистенция, запах.

Консистенция мяса курицы и индейки определялась давлением пальца на поверхности мышечной ткани, при этом велось наблюдение за изменением скорости восстановления ямки. После чего проверяли цвет мышечных тканей на дневном рассеянном свете. К поверхности среза прикладывали фильтровальную бумагу, чтобы определить увлажненность мышечных тканей. Определение липкости поверхности мяса проводили тактильным методом.

Запах определяли по поверхностному слою, на разрезе в глубинном слое. Отдельно определяли запах растопленного внутреннего жира. Для определения запаха глубинного слоя, осуществляют разрез мышц. Если происходят затруднения с определением запаха, как произошло с образцом №2, то несколько капель жира растираются на предметное стекло.

Для микробиологического исследования мяса нами были приготовлены две питательные среды: желточно-солевой агар Чистовича и ЛЕВИНА (рис. 2.2.1.).

Приготовление желточно-солевого агара Чистовича: в расплавленный МПА с 10% хлорида натрия (рН 7,2), охлажденный до температуры 60°C, добавляем желточную эмульсию (из вымытого и обработанного спиртом яйца извлекли желток и смешали его со 150 мл стерильного физраствора). После тщательного перемешивания питательную среду разлили в чашки Петри. Агар используют для выделения стафилококков из материала, обильно обсемененного микробами, а также для определения пигмента образуемого стафилококками.

Агар Левина - дифференциально-диагностическая среда, рекомендованная

для выделения и дифференциации грамотрицательных микроорганизмов кишечной группы. К 12,5 г агара, добавили 250мл воды очищенной дистиллированной. После нагрева и интенсивного перемешивания разливали среду в чашки Петри. Количество среды нами было рассчитано по пропорции: на 1 л дистиллированной воды требуется 50 г агара Левина.

После чего ставили среды на автоклавирование при температуре 120 °С в течение 20 мин для полного ее приготовления и стерелизации.

Производим серию разведений. Для этого пользуемся стерильной водопроводной водой разлитой по 9 мл в стерильные пробирки. Чтобы получить 2-ое разведение, из исследуемого образца берем шприцом-дозатором 1000 мкл и переносим в пробирку с 9 мл стерильной воды. Таким же образом готовим еще 5 разведений. Из двух последних разведений произвели высев на твёрдые питательные среды. На застывшую агаризованную среду нанесли 500 мкл суспензии и стерильным стеклянным шпателем равномерно распределяем ее по поверхности. Из каждой пробы или из разведения делаем высев на 2 чашки (2-кратная повторность). После высева, на боковой стенке чашек Петри мы отметили степень разбавления, номер образца и дату посева, перевернули дном вверх, и инкубировали в термостате в течение 24 часов.

Выросшие колонии рассматривали через стекло, не открывая чашки Петри. Если колоний немного, считали их на всей поверхности чашек. При большом количестве колоний чашки Петри помещали на лист черной бумаги, каждую делили на восемь секторов, производили подсчет в трех секторах, после чего находили среднее арифметическое и умножали на общее количество секторов. Описание колоний, выросших на питательных средах, производили по следующим показателям: форма, характер поверхности, цвет и край (ровный, волнистый и др.)

Для исследования выросших колоний их морфологий мы использовали метод микрокопирования. Приготовление микропрепаратов делали по стандартной методике приготовления фиксированного препарата. Данный

метод мы использовали для определения формы бактериальных клеток. Работу начинали с приготовления мазка, который высушивали на воздухе либо над пламенем спиртовки. При этом важно было не допустить перегрева мазка, так как при этом может произойти свертывание белков протоплазмы бактериальной клетки. После чего мы производили фиксирование препарата путем быстрого проведения покровного стекла над пламенем горелки, что обеспечивает лучшее прикрепление мазка к стеклу. После этого – окрашивали препарат раствором карболового фуксина, промывали водопроводной водой, высушивали и рассматривали при большом увеличении. Данные колонии анализировались нами по морфологическим признакам: форма, характер поверхности, цвет, край.

Через неделю провели повторный эксперимент, но уже с хранящимся мясом, с целью выявления патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Микрофлора свежего мяса птицы

Полученные нами результаты микробиологического исследования мяса курицы и индейки показали, что посев с мяса курицы и индейки имеют аналогичные выросшие колонии.

При посеве мяса курицы и индейки, а желточно-солевом агаре нами были обнаружены колонии одного типа мелкие, молочно-белые, матовые, не прозрачные (рис.3.1.1.). Микропрепараты этих колоний показывают кокковые формы бактерий, которые формируют дипло-, тетракокки.



рис. 3.1.1. Выросшие колонии на среде ЖСА Чистовича.

На среде Левина в образцах свежего мяса курицы и индейки были обнаружены морфологически очень мелкие колонии (0,1-0,5 мм в диаметре), округлой формы, края гладкие, поверхность – гладкая, ровная, слегка выпуклая, глянцевая. Консистенция – слизистая. Имеют темно-фиолетовую

окраску. Микропрепараты показывают палочковидные формы бактерий (3.1.2.).

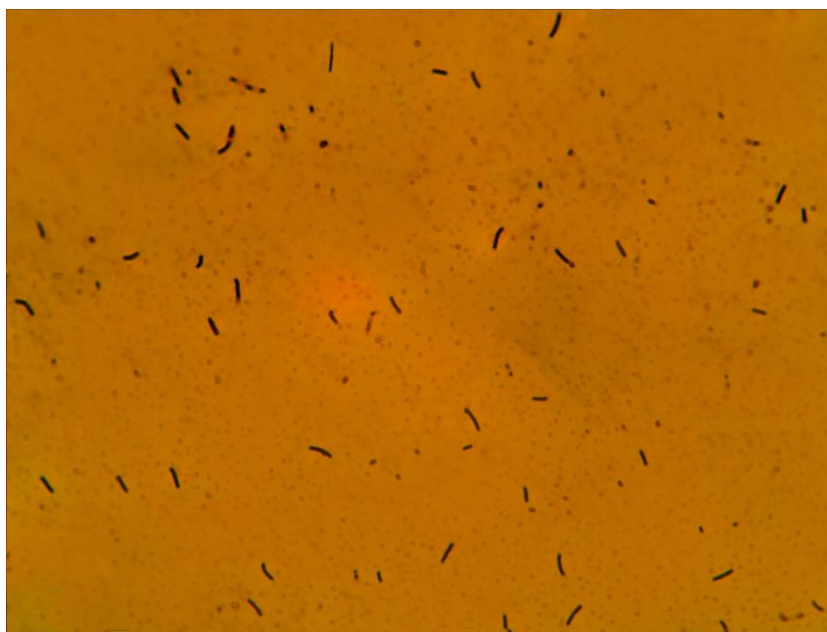


Рис. 3.1.2. *Pseudomonas*. Фиксированный препарат. Окраска фуксином (x40).

В соответствии с литературными данными, мы знаем, что микрофлора тушки птицы состоит преимущественно из аэробных бесспорных палочковидных бактерий, относящихся к родам *Pseudomonas* (до 70-75%), *Acinetobacter*, *Moraxella*. Встречаются так же факультативно-анаэробные бактерии: *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Proteus*. В мясе птицы часто обнаруживают сальмонеллы. На поверхности мяса могут быть бактерии рода *Micrococcus*.

Основываясь на полученных нами результатах посева и литературных данных, мы предполагаем, что в свежем мясе курицы на среде Левина нами обнаружены бактерии рода *Pseudomonas* (рис. 3.1.2.) в незначительном количестве.

Исходя из количества колоний на среде Левина нами было рассчитано количество палочковидных форм на свежем мясе курицы на 1 см^2 площади, оно составило 945 колоний.

Подсчет колоний посева свежего мяса индейки показал наличие на его поверхности кокковых и палочковидных форм бактерий 834 соответственно.

3.2. Микрофлора хранящегося мяса птицы

После хранения мяса в течении 9 дней в холодильнике был произведен повторный посев на те же среды. Обсемененность хранящегося мяса оказалась значительно выше, что вполне естественно. Это объясняется тем, что при хранении мясо подвергается микробиологическому разложению.

Нами на МСА были обнаружены выпуклые, ровные непрозрачные колонии, мелкие (0,5-3 мм) лимонно-желтого цвета. Вокруг колоний обнаружены зоны помутнения с радужным венчиком в отраженном свете. Микропрепараты этих колоний показывают кокковые формы, расположенные гроздьями. (рис.3.2.1.).



рис. 3.2.1. Выросшие колонии на среде ЖСА Чистовича

На среде Левина в образцах мяса курицы и индейки были обнаружены морфологически сходные колонии 4 типов.

Тип №1 – оранжево-желтые колонии неправильной формы, средних размеров (3-5 мм) и крупные (более 5 мм в диаметре), край колоний бахромчатый, поверхность шероховатая и матовая. Консистенция - плотная (рис.3.2.2.).

Тип №2 - очень мелкие колонии (0,1-0,5 мм в диаметре), округлой формы, края гладкие, поверхность – гладкая, ровная, слегка выпуклая, глянцевая. Консистенция – слизистая. Имеют темно-фиолетовую окраску (рис.3.2.2.).

Тип №3 – крупные (более 5 мм в диаметре) колонии ризоидной формы, не прозрачные, желтого цвета. Поверхность матовая и складчатая, край колоний волнистый. Консистенция – плотная (рис. 3.2.3.).

Тип №4 – крупная (около 6 мм) колония розово-фиолетового цвета, с неровными нитевидными краями. Поверхность шероховатая, плотная, матовая (рис. 3.2.4.).

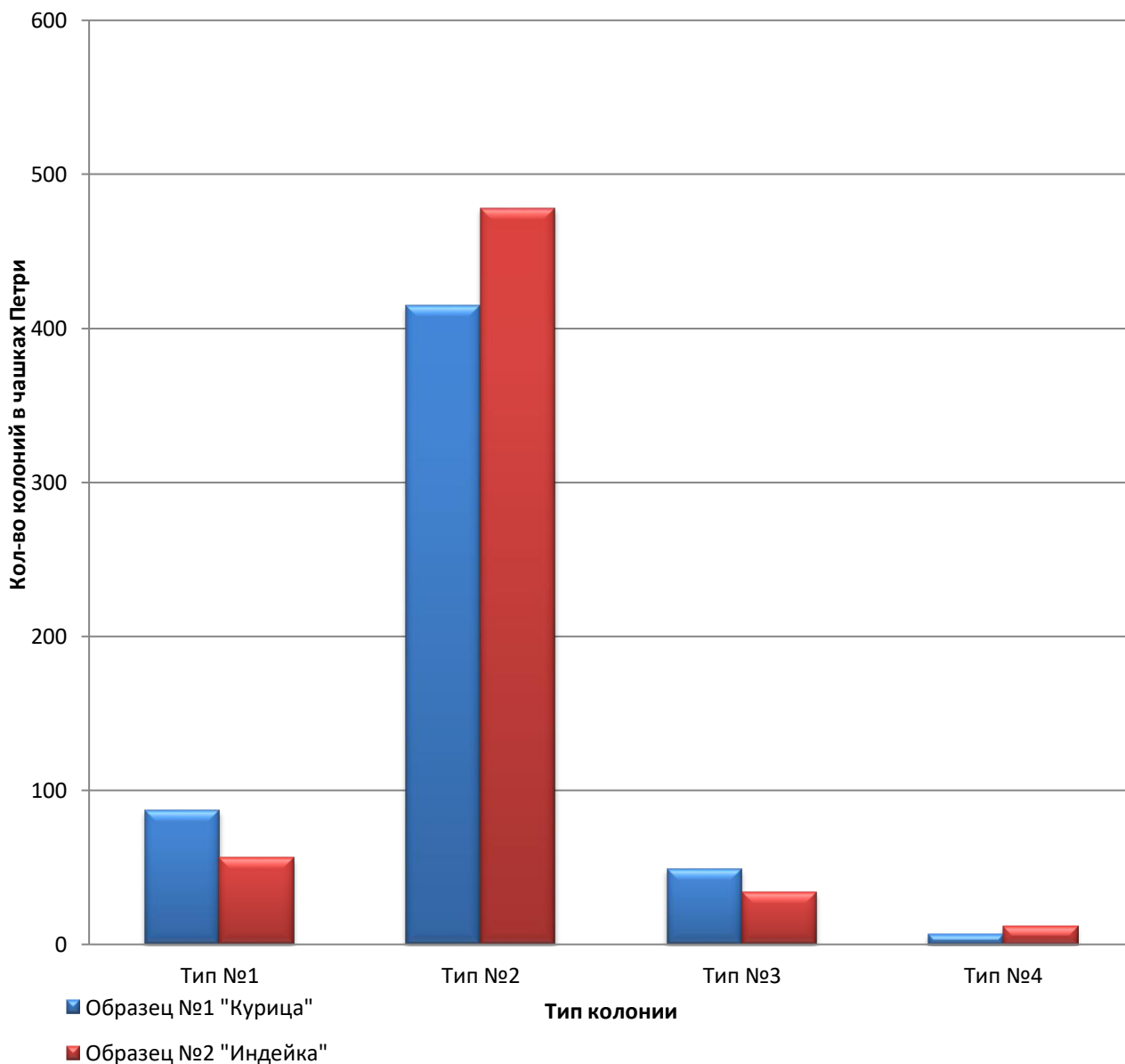
Таблица 3.2.1.

Соотношение типа колоний с численностью.

	Тип №1	Тип №2	Тип №3	Тип №4
Кол-во колоний в чашках Петри (курица)	87	415	49	7 ¹
Количество колоний в чашках Петри (индейка)	56	478	34	12

¹ В чашке с образцом №2 (мясо индейки) при разведении 1×10^{-7} данного типа колонии не обнаружено.

Рис. 3.2.1. Соотношение типов колоний выросших при посеве хранящегося мяса курицы и индейки.



В данной диаграмме (3.2.1.) показано соотношение типов колоний выросших при посеве хранящегося мяса курицы и индейки. Колонии типа №2, №4 (рис. 3.2.2, рис. 3.2.4.) в большем количестве содержатся в мясе индейки. А колонии под номером 1 и 3 (рис. 3.2.2., рис.3.2.3.) – в мясе курицы.



Рис. 3.2.2. Колонии, выросшие на среде Левина (тип №1,2).



Рис. 3.2.3. Колонии, выросшие на среде Левина (тип №3).

В ходе работы были приготовлены фиксированные и прижизненные микропрепараты из полученных колоний микроорганизмов (рис. 3.2.4.).



рис. 3.2.4. Выросшие колонии на среде Левина (тип №4)

На рисунках 3.2.5.-3.2.8 показаны микропрепараты из описанных нами выше колоний, выросших на ЖСА Чистовича (рис. 3.2.5.) и на среде Левина (рис. 3.2.6., рис. 3.2.7., рис. 3.2.8.). Изучив литературные данные по морфологии клеток бактерий, мы предполагаем, что на рис. 3.2.5. представлены бактерии рода *Staphylococcus*, так как, во-первых ЖСА Чистовича – это селективная для стафилококков среда, во вторых, клетки этих

бактерий имеют форму кокков, которым свойственно скопление в виде виноградных гроздьев и характерно деление в разных плоскостях. Неподвижные, спор не образуют, могут образовывать микрокапсулу.

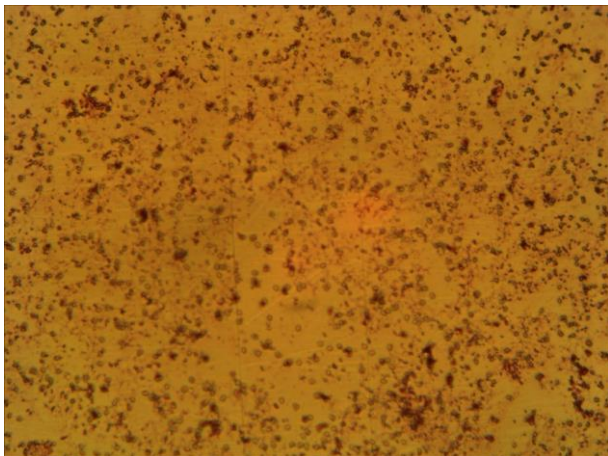


Рис. 3.2.5. Микропрепарат колонии №1. Окраска фуксином. Увеличение x40.

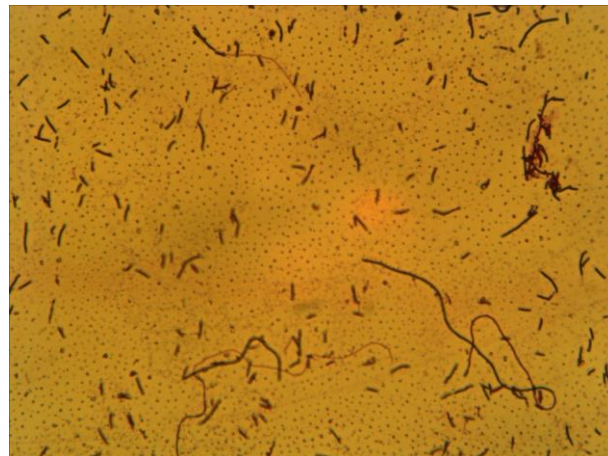


Рис.3.2.6. Микропрепарат колонии № 2. Окраска фуксином. Увеличение x40.

На рисунке 3.2.6. и 3.2.8., по нашему мнению, представлены бактерии рода *Actinomyces* и *Pseudomonas*.



Рис. 3.2.7. Микропрепарат колонии №3. Окраска фуксином. Увеличение x40.

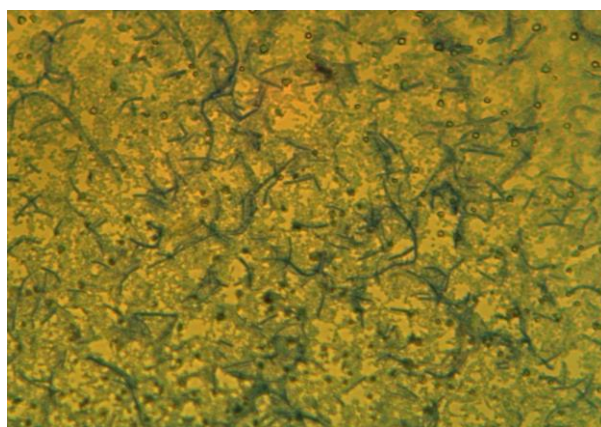


Рис. 3.2.8. Микропрепарат колонии №4. Окраска метиловым синим(x40)

На рисунке 3.2.7. род грамотрицательных бактерий *Acinetobacter* из семейства *Moraxellaceae*. Морфологическое описание которого соответствует литературным данным. Это очень короткие, мелкие, имеющие округлую форму, размеры бактерий в логарифмической фазе роста обычно составляют $1,0—1,5 \times 1,5—2,5$ мкм.

3.3. Статистическая обработка полученных данных

Задачей математической статистики является определение достоверности полученных результатов исследования. Необходимо, чтобы варианты повторностей находились в одних и тех же условиях. Основой статистических методов являются экспериментальные данные, часто называемые статистическими данными. В проведенных исследованиях определяют подлинность различий между средними арифметическими исследуемых вариантов.

Расчет количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) проводили следующим образом: среднее значение микроорганизмов из первого разведения делили на степень разведения и на 0,1 мл (проба для посева). Анализ численности КМАиФАНМ был произведен во всех образцах исследуемого мяса, свежего и хранящегося. В таблице 3.3.1. и 3.3.2 приведены цифровые данные о количестве КМАиФАНМ.

Таблица 3.3.1.

КМАиФАНМ в свежем мясе индейки и курицы.

СВ.	Курица		Индейка	
	КОЕ		КОЕ	
	Левина	ЖСА	Левина	ЖСА
10^{-6}	$1,0 * 10^{-7}$	$1,8 * 10^{-7}$	$4,6 * 10^{-7}$	$1,5 * 10^{-7}$
10^{-7}	$8,1 * 10^{-9}$	$1,2 * 10^{-8}$	$7,0 * 10^{-8}$	$1,1 * 10^{-8}$

Таблица 3.3.2.

КМАиФАНМ в хранящемся мясе индейки и курицы.

ХР.	Курица		Индейка	
	КОЕ		КОЕ	
	Левина	ЖСА	Левина	ЖСА
10^{-6}	$5,6 * 10^{-7}$	$7,8 * 10^{-7}$	$4,2 * 10^{-7}$	$5,0 * 10^{-7}$
10^{-7}	$4,2 * 10^{-8}$	$7,1 * 10^{-8}$	$4,1 * 10^{-8}$	$5,0 * 10^{-8}$

В расчетах нами был применен разностный метод. Это повышает существенность различий между вариантами и точность опыта. Разность (d) между образцами вычисляют по всем повторениям. После чего вычисляется средняя арифметическая разности (d_{cp}). Затем рассчитывают отклонения $d-d_{cp}$ между каждой разностью и каждым средним значением.

Все отклонения возводят в квадрат, суммируют, а их суммы $\sum(d-d_{cp})^2$ используют для вычисления ошибок разностей (S_d) по формуле:

$$S_{d(1-2)} = \sqrt{\frac{\sum(d - \bar{d})^2}{n(n - 1)}}$$

Вычисляют критерий Стьюдента фактический:

$$t_{(1-2)} = (\bar{x}_2 - \bar{x}_1) / S_{d(1-2)}$$

Фактические критерии необходимо сравнить с теоретическими и сделать выводы, пользуясь правилом: если фактический критерий Стьюдента будет равен теоретическому значению или больше него, то разность между вариантами существенна на определенном уровне значимости ($P=0,001$; $0,01$

или 0,05). Все теоретические значения критериев Стьюдента берут из таблицы чисел степеней свободы.

Таблица 3.3.3.

Обработка разностным методом данных, полученных при вычислении КМАиФАНМ (КОЕ/г) при разведении 10^{-6} (ЖСА Чистовича).

Образец №1 «Курица»		D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящееся					
205	701	496	-105,5	11130, 25	105, 5	5,7
152	859	707	105,5	11130, 25		
X _{ср1} =178,5	X _{ср2} =780	d _{ср} =601,5	∑=0	∑(d-d _{ср}) ² = 22260, 5		
Образец №2 «Индейка»		D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящееся					
112	591	479	129,5	16770,25	129, 5	4,7
180	400	220	-129,5	16770,25		
X _{ср1} =146	X _{ср2} =495,5	d _{ср} =349,5	∑=0	∑(d-d _{ср}) ² = 33540,5		

Таблица 3.3.3.

Обработка разностным методом данных, полученных при вычислении КМАиФАНМ (КОЕ/г) при разведении 10^{-6} (среда Левина).

Образец №1 «Курица»		D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящееся					
124	532	408	-45,5	2070, 25	45,5	10,0
82	581	499	45,5	2070,25		
X _{ср1} =103	X _{ср2} =556,5	d _{ср} =453,5	∑=0	∑(d-d _{ср}) ² = 4140, 5		
Образец №2 «Индейка»						t _{фактор}

свежее	хранящаяся	D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	(1-2)
20	435	415	40,5	1640,25		
71	405	334	-40,5	1640,25		
X _{ср1} =45,5	X _{ср2} =420	d _{ср} =374,5	Σ=0	Σ(d-d _{ср}) ² = 3280,5	40,5	9,3

Таблица 3.3.4.

Обработка разностным методом данных, полученных при вычислении КМАиФАНМ (КОЕ/г) при разведении 10⁻⁷ (ЖСА Чистовича).

Образец №1 «Курица»		D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящаяся					
176	658	482	-106	11236		
71	765	694	106	11236		
X _{ср1} =123,5	X _{ср2} =711,5	d _{ср} =588	Σ=0	Σ(d-d _{ср}) ² = 22472	106	5,5
Образец №2 «Индейка»		D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящаяся					
130	577	447	60,5	3660,25		
94	420	326	-60,5	3660,25		
X _{ср1} =112	X _{ср2} =498,5	d _{ср} =386,5	Σ=0	Σ(d-d _{ср}) ² = 7320,5	60,5	6,4

Таблица 3.3.5.

Обработка разностным методом данных, полученных при вычислении КМАиФАНМ (КОЕ/г) при разведении 10⁻⁷ (среда Левина).

Образец №1 «Курица»		D	d-d _{ср}	(d-d _{ср}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящаяся					
105	417	312	-31	961		
56	430	374	31	961		

$X_{cp1}=80,5$	$X_{cp2}=423,5$	$d_{cp}=343$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-d_{cp})^2=$ 1922	31	11,1
Образец №2 «Индейка»		D	d-d _{cp}	(d-d _{cp}) ²	Sd (1-2)	t _{фактор} (1-2)
свежее	хранящееся					
50	412	362	22	484		
90	408	318	-22	484		
$X_{cp1}=70$	$X_{cp2}=410$	$d_{cp}=340$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-d_{cp})^2=$ 968	22	15,5

Разница между обсемененностью свежего и хранящегося мяса птицы можно считать достоверными при уровне значимости $p = 0,05$, $t_{st} = 4,303$, т. к. $t_{d(1-2)} > t_{st}$,. Это объясняется изменчивостью микрофлоры мяса в процессе хранения.

ВЫВОДЫ

1. В соответствии с литературными данными на поверхности мяса могут содержаться бактерии, относящиеся к родам *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*. Встречаются так же факультативно-анаэробные бактерии: *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Proteus*. В мясе птицы часто обнаруживают *Salmonella*, *Micrococcus*.. Мясо птицы, не прошедшее процесс уменьшения микробной обсемененности, становится причиной заболевания людей сальмонеллезом и зоонозными инфекциями. Изучение основных групп микроорганизмов, обсеменяющих мясо птицы, являлось непосредственной теоретической основой при выполнении исследовательской работы.

2. Нами была установлена обсемененность микроорганизмами свежего и хранящегося мяса курицы и индейки, описаны колонии и выявленные основные роды микроорганизмов. Полученные данные показывают преобладание палочковидных форм бактерий на поверхности как свежего, так и хранящегося мяса курицы и индейки.

3. Количественные показатели обсемененности мяса птицы во время хранения составили: мясо курицы - $2,38 \cdot 10^{-8}$ (среда Левина) и $3,94 \cdot 10^{-8}$ (ЖСА); мясо индейки – $2,26 \cdot 10^{-8}$ (среда Левина) и $2,75 \cdot 10^{-8}$ (ЖСА) КОЕ на 1 см² соответственно. Статистическая обработка данных показала, что полученные нами данные достоверны, т.к. фактический критерий Стьюдента превышает теоретический на уровне вероятности $p=0,05$.

4. Визуальное состояние мяса и его органолептические показатели после хранения находится в пределах допустимых нормы.

Задача эффективной оценки качества мясных продуктов на основе внешнего вида и микробиологического анализа показала что мясо купленное в общественной торговой сети удовлетворяет показателям ГОСТ 7702.0-74.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агульник М.А., Корнеев М.П. Микробиология мяса, мясопродуктов и птицепродуктов.- М.: Пищевая промышленность, 1972. 230 - 272 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии (под ред. А.А.Воробьева и А.С.Быкова).- М.: Медицинское информационное агенство, 2003.- 232 с.
3. Афонский С.И. В кн.: Биохимия животных.- М., 1970.- С. 52-54.
4. Борисенкова А.Н., Артемьева Т.Н. Роль стрептококков и клостридий в этно-патогенезе желудочно-кишечных заболеваний бройлеров// Актуальные проблемы ветеринарной медицины. Сборник научных трудов № 134. СПб ГАВМ.- Санкт-Петербург, 2002.- С. 25-26.
5. Воробьева А.А., Кривошеина Ю.С. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии. -. М.: Мастерство, Высш. Шк., 2001. — 224с.
6. Воропаева С.Д., Анкирская А.С. Руководство по клинической лабораторной диагностике.- М., 1982.- С. 437-444.
7. ГОСТ 31962-2013 Мясо кур (тушки кур, цыплят-бройлеров и их части). Технические условия.
8. ГОСТ 7702.1-74 Мясо птицы. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса.
9. ГОСТ 7702.2.1-95 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.
10. ГОСТ 7702.2.2-93 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*).
11. ГОСТ 7269-79. Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести.

12. ГОСТ Р 50480-93. Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*.
13. ГОСТ Р 51446-99. Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований.
14. ГОСТ Р 51447-99 (ИСО 3100-1-91). Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб.
15. ГОСТ Р 51604-2000. Мясо и мясные продукты. Метод гистологической идентификации состава.
16. ГОСТ Р 51448-99 (ИСО 3100-2-88). Мясо и мясные продукты. Методы подготовки проб для микробиологических исследований.
17. Емельяненко П.А. Энтеротоксины кишечных бактерий. Ветеринария, 2000.-№2.-С. 25-27.
18. Емцев В.Т., Мишустин Е. Н. Микробиология: учебник для бакалавров – М.: Издательство Юрайт, 2012.- С. 21-43
19. Заблоцкая К.С. Исследование разных типов мускулов кур в процессе роста: автореф. дисс.... канд. техн. наук. - М., 1972.-20 с. 39.
20. Захаров А.А. Повышение эффективности процесса обработки пищевых продуктов в пароконвектоматах: автореф. дисс. ... канд. техн. наук. - М., 2004.-21 с. 40.
21. Иванов В.Г. Токсигенные типы *Сl. perfringens* в кормах.- Ветеринария, 1978.-№4.-С. 27-29.
22. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов.- М.: СанПиН, 2.3.2.560, 20 - 96, М., 1997. Изд. официальное.
23. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно- эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2. 1078-01. Минздрав России. - М., 2002. - 216 с.
24. Куткина М.Н., Федина Е.Ю. Определение режимов жарки кур в пароконвектомате. Тез. международной научной конференции, посвященной 10-летию специальности «Технология продукции

общественного питания» в СГАУ им. Н.И. Вавилова. - Саратов: Сарат. Гос. Агр. Ун-т им. Вавилова, 2005.- с. 61-63.

25. Липатов Н.Н. Приоритеты научного обеспечения.// Пищевая промышленность.- 1996.- №9.- с. 8-10. 66.

26. Липатов Н.Н. Проблемы совершенствования качества продуктов питания.// Пищевая промышленность,- 1996.- №12.- с. 20-21. 67.

27. Лисицын А.Б., Леонова Т.Н. О некоторых тенденциях развития производства мяса и мясных продуктов. // Все о мясе.- 2004.- №4.- с. 3-5. 68.

28. Лобозов К.И., Митрофанов Н.С., Хлебников В.И. Переработка мяса птицы и яиц.- М.: Агропромиздат, 1987,- с. 240. 69.

29. Лори Р.А. Наука о мясе.- М.: Пищевая промышленность, 1973, - 198 с. 70.

30. Микробиология продуктов животного происхождения./ Г.-Д.Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер и др. Пер. с нем. – М.: Агропромиздат, 1985. – 592 с.

31. Моисеева Е.Л. Микробиология мясных и молочных продуктов при холодильном хранении. – М.: Агропромиздат, 1988.-223 с.

32. Микробиология, санитария и гигиена. Учебник для вузов/ К.А.Мудрецова-Висс, А.А.Кудряшова, В.П.Дедюхина.- Владивосток: Изд-во ДВГАЭУ, 1997. –321 с.

33. Методические указания. Лабораторная диагностика сальмонеллезов человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды.- М.: МЗ СССР, 1990 г.

34. Нетрусов А. И., Котова И. Б., Микробиология. : учебник для студ. высш. учеб.заведений - М.: Издательский центр «Академия» 2009.- С. 15-55

35. Нетрусов А.И. Котова И. Б. Общая микробиология : учебник для студ. высш. учеб.заведений /. - М.: Издательский центр «Академия» ,2007. – С. 20-40

36. Нетрусов А. И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений – М.: Издательский центр «Академия», 2005. - 608с.
37. Общая технология пищевых производств./ Л. П. Ковальская., Г. М. Мелкина., Г. Г. Дубцов и др./ М.: Колос, 1993 – 534с.
38. Панин А.Н. и др. Иммунобиология и кишечная микрофлора.- М.: Аграрная наука, ИК «Родник», 1998.- С. 64-68.
39. Панов В.Н., Луницкий С.А. Микробиологическая обсемененность мяса птицы при первичной переработке и холодильном хранении.// Изв. Вузов пищ. Технол.-1979.- №5.- С. 62-64.
40. Петровская В.Г., Марко О.П. Микрофлора человека в норме и патологии.-М., 1976.-С. 172.
41. Пивоваров Ю.П. Опыт изучения обсемененности *Сl. perfringens* продуктов питания// Гиг. и сан.- 1964.- №12.- С. 91-94.
42. Позняковский В. М., Экспертиза мяса и мясопродуктов. Качество и безопасность: учеб. - справ. Пособие. - 4-е изд., испр. и доп. - Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2007. - 528 с.
43. Позняковский В. М. Гигиенические основы питания, качество безопасность пищевых продуктов: Учебник - 5-е изд., испр. и доп. - Новосибирск: Сиб. унив. Издательство, 2007. -455с.
44. Производственно-технический контроль и методы оценки качества мяса, мясо- и птицепродуктов. Справочник. -М.: Пищевая промышленность, 1974,- 248 с. 87.
45. Рабинович, Г.Ю. Санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды и пищевых продуктов с основами общей микробиологии [Текст]: учеб. пособие / Г.Ю. Рабинович, Э.М. Сульман. - 1-е изд. – Тверь: ТГТУ, 2005. – С. 162-170.
46. Ратушный А.С., Литвинова Е.В., Иванникова Т.В. Изменение белков и других азотистых веществ при кулинарной обработке продуктов. -

М.: Издательский центр Российского химико-технологического университета им. Д.И.Менделеева, 2000,- 104 с. 90.

47. Ратушный А.С. и др. Технология продукции общественного питания. Том 1,2. -М.: Колос, 2004.-351с. 91.

48. Родина Т.Г.Дегустационный анализ продуктов.- М.: Колос, 1994.- 160 с. 92.

49. Розанцев Э.Г.Биохимия мяса и мясных продуктов.- М.: ДеЛипринт. - 2006.- 350 с. 93.

50. Санитарная микробиология. / Н.В Билетова, Р.П. Корнелаева и др. Под редакцией Любашенко С.Я. – М.: Пищевая промышленность, 1980., 256-352 с.

51. Сидоров М.А., Билетова Н.В., Корнелаева Р.П. Микробиология мяса, мясопродуктов и птицепродуктов.- М.: Агропромиздат, 1986. 170-288 с.

52. Сидоров М.А., Субботин В.В., Данилевская Н.В. Нормальная микрофлора птиц и ее коррекция пробиотиками.- Ветеринария.- 2000.- №11.- С. 1722.

53. Тимошенко М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных птиц/ Отв. ред. И.Г.Пивняк; АН МССР, Ин-т зоологии и физиологии Кишинев: Штиинца, 1990.- С. 112-117.

54. Урбан В.П., Широбокова М.М., Кузнецов М.И. Профилактика инфекционных болезней.- Л., 1981.- 84 с.

55. Учебное издание: Микробиология мяса и мясопродуктов. Методические указания для студентов всех форм обучения направления 655900 «Технология сырья и продуктов животного происхождения» специальности 270900 «Технология мяса и мясопродуктов» / Н.И. Лузина, И. Н. Журина, Н. В. Шишкина - Издательство Кемеровского технологического института пищевой промышленности, 2009.-129 с.

56. Химический состав пищевых продуктов. Справочные таблицы содержания основных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов. -М.: Пищевая промышленность, 1976,- 228с. 115.

57. Химический состав пищевых продуктов. Справочные таблицы содержания основных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов. -М.: Пищевая промышленность, 1976,- 228с. 115.

58. Химический состав пищевых продуктов. Под редакцией М.Ф. Несте-рина, И.М. Скурихина.- М.: Пищевая промышленность, 1979, т.2. 116.

59. Феофилова Е.П., Терешена В.М., Менорская С. А Л Микробиология.-1995.-Т.64.-№1.-С. 26-30.

60. Шляхтунов В. И. Технология производства мяса и мясных продуктов; Техноперспектива - Москва, 2010. - 472 с.

61. Эпиштейн-Литвак Р.В. В кн.: Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования.- М., Медицина, 1982.- С. 229.