

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Алтайский государственный университет»
Институт биологии и биотехнологии
Кафедра экологии, биохимии и биотехнологии

**ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ПИТЬЕВОГО КОРОВЬЕГО МОЛОКА РАЗНЫХ ТОРГОВЫХ МАРОК**

выпускная квалификационная работа
(магистерская диссертация)

Выполнила: студентка
2 курса, группы 702м
Мырзакасымова Кристина
Максатовна

Научный руководитель:
канд. биол. наук, доцент
Шарлаева Елена Анатольевна

Допустить к защите:
зав. кафедрой Соколова Г.Г.

Выпускная квалификационная
работа защищена
«___» _____ 2022 г.
Оценка _____

Председатель ГЭК:
Мочалова О.В.

Барнаул 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. МИКРОБИОЛОГИЯ КОРОВЬЕГО МОЛОКА.....	5
1.1. Общая характеристика.....	5
1.2. Микрофлора коровьего молока.....	9
1.3. Источники микробиологического загрязнения молока.....	14
1.4. Способы инаktivации молочной микрофлоры.....	19
1.5. Заболевания, связанные с микробиологическим загрязнением молока.....	23
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	26
2.1. Материалы исследования.....	26
2.2. Методы исследования.....	27
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОГО КОРОВЬЕГО МОЛОКА РАЗНЫХ ТОРГОВЫХ МАРОК ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ.....	38
3.1. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов	38
3.2. Бактерии группы кишечной палочки.....	41
3.3. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы	45
3.4. Интегральная оценка эпидемиологической безопасности молока..	48
ВЫВОДЫ.....	53
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	54

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время молочная промышленность превратилась в высокоразвитую отрасль народного хозяйства и является одной из ведущих в пищевой промышленности страны. Одно из важнейших мест на потребительском рынке молочной продукции занимает питьевое коровье молоко.

Крупные молокоперерабатывающие предприятия, стремясь удержать лидирующие позиции на рынке, вынуждены производить современную молочную продукцию самого высокого качества. Требования к исходному сырью также неизбежно растут. Тем не менее, качество значительной части молочной продукции остается неудовлетворительным.

Основными причинами производства недоброкачественного продовольствия в стране следует назвать отсутствие у отечественного производителя систем качества на предприятиях агропромышленного комплекса, гарантирующих производство безопасной продукции и ослабление контроля над качеством и безопасностью выпускаемой продукции (Оноприйко, Хранцов 2004).

Микробиологический контроль на предприятиях молочной промышленности заключается в проверке качества поступающих молока, сливок, материалов, закваски, готовой продукции, а также за соблюдением технологических и санитарно-гигиенических режимов производства. Одной из задач санитарно-эпидемиологической станции является осуществление санитарно-эпидемического надзора за безопасностью питания, за производством, транспортировкой и реализацией пищевых продуктов в соответствии с санитарными требованиями с целью профилактики пищевых отравлений.

К числу продуктов, подлежащих микробиологическому контролю, относится молоко и молочные продукты. Так как продовольственное сырье и

готовые пищевые продукты могут представлять опасность для человека, если они получены с нарушением санитарно-гигиенических правил либо при производстве, либо на этапах обращения готовой продукции в результате инфицирования патогенными, токсигенными и сапрофитными микроорганизмами, необходимо ведение строгого микробиологического контроля выпускаемой продукции (Коротышева, 2016).

Микробиологический контроль должен содействовать повышению качества работы предприятия лишь в сочетании с санитарно-гигиеническим контролем.

Целью данной работы явилось изучение микробиологических показателей питьевого коровьего молока разных торговых марок, представленных в розничной сети г. Барнаула.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Исследовать пробы молока по показателям КМАФАнМ и БГКП.
2. Оценить содержание *St. aureus* и *Salmonella* в пробах молока разных торговых марок.
3. Провести интегральную оценку качества коровьего молока по микробиологическим показателям за период 2018–2021 гг.

ГЛАВА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОКА

1.1. Общая характеристика

Молоко является биологической жидкостью, образующейся в молочной железе коровы, предназначенной для вскармливания новорожденного. Молоко – это сложная полидисперсная система, в которой вода является дисперсной средой, а вещества, находящиеся в эмульсионном, молекулярном и коллоидном состояниях – дисперсной фазой. Вода является обязательной составной частью молока, ее среднее содержание составляет 88%.

Минеральные соли и молочный сахар образуют ионные и молекулярные растворы, главным образом выполняя энергетическую функцию. Молочный жир присутствует в виде эмульсии и содержит жироподобные вещества такие как, фосфолипиды, гликолипиды, стерины, жирорастворимые пигменты, витамины, ди- и моноглицериды и свободные жирные кислоты. Более 100 жирных кислот входит в состав молочного жира. Из них 14 основных кислот преобладают в количестве 98-99%.

Белки альбумин и глобулин находятся в растворенном состоянии, а казеин в коллоидном. Все фракции казеина содержат остатки фосфорной кислоты, присоединенные к аминокислоте серину моноэфирной связью (Шидловская, 2014).

Молоко является основным источником кальция и фосфора для организма человека. Кальций находится в молоке в легко усвояемой форме и хорошо сбалансирован с фосфором. Около 22% всего количества кальция прочно связано с казеином, остальные 78% составляют фосфаты и цитраты. Фосфор в молоке находится в виде казеинаткальцийфосфатного комплекса, органических эфиров и неорганических солей в виде истинного раствора (Кузьмина, 2013).

Состав молока зависит от различных факторов, таких как возраст и порода животного, условия кормления, лактационный период, уровень продуктивности. Из молока, полученного при нормальных условиях от здорового животного, выделено более 20 ферментов. Большая часть ферментов, таких как, пероксидаза, лизоцим, щелочная фосфатаза, ксантиноксидаза образуются в клетках молочной железы и переходят в молоко во время секреции. Проотеаза и каталаза переходит в молоко из крови животного.

За лактационный период в достаточной мере меняются свойства молока. После отела в период 5–7 дней, получают молоко, называемое молозивом. Оно характеризуется содержанием большого количества минеральных веществ до 1,3%, белков около 11% и высокой кислотностью до 40–50°Т. Молозиво имеет более густую консистенцию, чем у обычного молока, насыщенный желтый цвет, специфический запах и солоноватый вкус (Гаврилова, 2012).

Удой и количество жира в молоке увеличиваются с возрастом животного, в пределах до 6 лет, после этого срока происходит уменьшение. Как правило, повышенное количество жира в молоке отличается и значительным содержанием белка.

Состав и количество молока так же могут определяться уровнем продуктивности и полноценным кормлением. Если в рационе увеличить дозу протеина на 25–30%, то в сравнении с нормой, удой повысится на 10%, а количество белка и жира увеличится до 0,3% (Лаптев, Мезенцева, 2012).

Вещества, входящие в состав молока, делят на истинные и посторонние. Истинные вещества, исходя из их содержания в молоке, могут подразделять на основные и второстепенные.

Молочный жир, казеин, лактоза, лактоальбумины, лактоглобулины, являются основными компонентами, они встречаются лишь в молоке. К второстепенным составным частям молока относят соли, фосфатиды,

стерины, ферменты, витамины, небелковые азотистые вещества, пигменты и газы.

Присутствие посторонних веществ в молоке зависит от химизации сельского хозяйства, лечения заболеваний крупного рогатого скота, загрязнения окружающей среды. Антибиотики, гербициды, пестициды, нитраты, нитриты, радионуклиды определяют к посторонним веществам молока (Augustin, 2013).

Оценивая состав и качество молока всегда ориентируются на содержание молочной плазмы и жировой фазы. При изменении содержания воды и жира в молоке происходят наибольшие колебания в его химическом составе, но при этом содержание минеральных веществ, лактозы и белков остается постоянным (Казакова, 2013).

Несмотря на полезные свойства молока, распространение его в сыром виде в РФ запрещено (Технический регламент таможенного союза от 9 октября 2013 г. № 67 «О безопасности молока и молочной продукции»). До покупателя доходит только молоко питьевое в потребительской таре, которое было подвергнуто предварительной обработке.

Питьевое молоко – это молочный продукт с массовой долей жира менее 10%, без добавления сухих молочных продуктов и воды, подвергнутый термической обработке, расфасованный в потребительскую тару. Продукт производят в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическим инструкциям с соблюдением гигиенических требований для предприятий молочной промышленности, действующих на территории государства, принявшего стандарт. В зависимости от молочного сырья, питьевое молоко изготавливают из цельного, нормализованного и обезжиренного молока.

В зависимости от термической обработки молоко питьевое подразделяют на стерилизованное, ультрапастеризованное топленое, пастеризованное. Стерилизованные и ультрапастеризованные с асептическим

розливом продукты должны соответствовать требованиям промышленной стерильности (ГОСТ 31450– 2013).

По органолептическим характеристикам молоко питьевое должно соответствовать определенным требованиям, представленным в таблице 1.

Таблица 1

Органолептическая характеристика молока питьевого

Наименование показателя	Характеристика
Внешний вид	Непрозрачная жидкость. Для продуктов с массовой долей жира более 4,7% допускается незначительный отстой жира, исчезающий при перемешивании
Консистенция	Жидкая, однородная нетягучая, слегка вязкая. Без хлопьев белка и сбившихся комочков жира
Вкус и запах	Характерные для молока, без посторонних привкусов и запахов, с легким привкусом кипячения. Для топленого и стерилизованного молока - выраженный привкус кипячения. Допускается сладковатый привкус
Цвет	Белый, допускается с синеватым оттенком для обезжиренного молока, со светло-кремовым оттенком для стерилизованного молока, с кремовым оттенком для топленого

Приятный специфический вкус и запах молока могут изменяться при возникновении различных пороков. Пороки молока могут обуславливаться неправильной технологией обработки, недоброкачеством кормов,

нарушением условий и сроков хранения, попаданием в молоко микрофлоры и другими причинами.

Пороки консистенции молока вызывает жизнедеятельность некоторых микроорганизмов. Пороки запаха обусловлены чаще всего специфическими запахами кормов или антисанитарными условиями помещений, в которых содержатся животные.

Кислый вкус молока образуется в результате жизнедеятельности молочнокислых бактерий или кишечных палочек; прогорклый вкус образуется при длительном хранении молока в условиях низких температур, а также появляется в период последних дней лактации, а горький вкус обусловлен деятельностью в молоке гнилостных пептонизирующих бактерий.

Пороки цвета, такие как покраснение, посинение и пожелтение, появляются под влиянием жизнедеятельности пигментирующих бактерий (Давидов, 2013).

1.2. Микробиология молока

Молоко – это идеальная питательная среда для многих микроорганизмов: бактерий, дрожжей и плесеней. В молоке находятся все вещества, которые нужны для их роста: углеводы (лактоза, глюкоза, галактоза), белки, витамины и минеральные вещества, микроэлементы, пептиды и свободные аминокислоты (Ирkitова, 2017).

Микроорганизмы, которые встречаются в молоке в соответствии с классификацией Банниковой Л.А., Королевой Н.С. и Семенихиной В.Ф. (1987), в зависимости от их роли в формировании качества продукции делят на 3 основные группы:

- 1) технически важная микрофлора (микроскопические грибы, психрофильные и спорообразующие бактерии);

2) патогенные микроорганизмы (сальмонеллы);

3) санитарно-показательные микроорганизмы (КМАФАнМ, БГКП, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*) (Ерёмина, 2004).

При хранении у молока меняется не только микробиологический состав, но и процентное содержание между отдельными группами и видами микроорганизмов (Юрова, 2012). Динамика изменений зависит как от температурного режима и длительности хранения молока, так и от степени обсеменения сырья и состава микрофлоры. Микрофлора, развивающаяся при хранении молока, называется *вторичной*. Её изменение проходит через обусловленные естественные фазы развития (Банникова, Королева, Семенихина, 1987; Ильяшенко, 2009).

Бактерицидная фаза характеризуется тем, что в молоке после дойки не происходит роста бактерий из-за действия таких веществ, как лактенин I и лактенин II. Продлить фазу можно незамедлительным охлаждением молока после доения до температуры 5-6°C (Асонов, 2002).

Фаза смешанной микрофлоры длится около 12-18 ч., характеризуется развитием всех групп микроорганизмов, обнаруженных в молоке. В конце фазы молочнокислые бактерии преобладают над оставшимися микроорганизмами (Жарикова, 2007).

Фаза молочнокислых бактерий определяется развитием данных микроорганизмов, вызывающих сквашивание молока. Во время его хранения количество молочнокислых палочек понемногу увеличивается, а молочнокислые лактококки отмирают (Литвина, 2012).

Фаза дрожжей и мицелиальных грибов наступает при развитии в молоке, имеющем высокую кислотность, этих микроорганизмов (Ростроса, 1980).

Полученное по всем санитарно-гигиеническим нормам молоко, не является стерильным, так как при доении оно подвергается бактериальному обсеменению микроорганизмами, которые имеются в сосковом канале

вымени животного. Главным образом это сапрофитные микроорганизмы, принадлежащие к кокковидным молочнокислым бактериям: сливочный стрептококк (*Lactococcus cremoris*), молочнокислый стрептококк (*Lactococcus lactis*), термофильный стрептококк (*Streptococcus thermophilus*) (Степанов, Александрина, 2018).

Молочнокислые бактерии соединяются в одну группу из-за своей способности ферментировать углеводы, преимущественно с образованием молочной кислоты, и обладают общими свойствами: не образуют спор, неподвижны, не вызывают видимого расщепления белков молока, положительно окрашиваются по Грамму, не образуют каталазы, не разжижают желатина и нуждаются в ростовых веществах. Эта группа микроорганизмов по отношению к кислороду является факультативными анаэробами. Молочнокислые бактерии – это единственная группа микроорганизмов, не продуцирующая каталазу, но способная расти в присутствии кислорода. Функцию каталазы осуществляет фермент пероксидаза. У молочнокислых бактерий нет гемсодержащих ферментов, поэтому они приобретают энергию только в процессе ферментации молочной кислоты, которая делится на гомоферментативную и гетерозиматическую. При гомоферментативной ферментации основным метаболитом является молочная кислота; при гетероферментативной ферментации, помимо молочной кислоты, образуется также диоксид углерода, этанол или уксусная кислота (Красникова, 2013).

Молочнокислые бактерии отнесены к двум различным семействам: *Streptococcaceae* и *Lactobacillaceae*. Среди них большой интерес представляют бактерии семейства *Streptococcaceae* рода *Streptococcus* – естественные обитатели сырого молока (Банникова, Королева, Семенихина, 1987; Степаненко, 1999).

Lactococcus lactis ssp. cremoris (сливочный лактококк). Форма колоний идентична колониям *Str. lactis*. В микроскопических препаратах это

грамположительные кокки, не образующие спор, неподвижные, строящие длинные цепочки, относящиеся к факультативным анаэробам. В биохимическом отношении активно сбраживают декстрин, мальтозу, и сахарозу. Сливочный стрептококк растет при температуре 20–25°C, максимум – при 35–38°C.

Lactococcus lactis subspecies lactis (молочнокислый лактококк). На мясопептонном агаре формирует точечные круглые колонии, в толще агара – чечевицеобразные. В микроскопических препаратах это неподвижные грамположительные кокки, которые не образуют спор и капсул, формируют короткие цепочки, являются факультативными анаэробами. В биохимическом отношении активно сбраживают глюкозу или лактозу. Оптимальная температура роста – 30°C. (Королева, Шидловская, Семенихина, 1979).

Streptococcus salivarius ssp. thermophilus (термофильный стрептококк). Форма и расположение клеток термофильного стрептококка соответствуют форме и расположению клеток сливочного стрептококка. Клетки термофильного стрептококка немного крупнее. Оптимальная температура развития 40–45°C, максимальная 45–50°C. Термофильный стрептококк не сбраживает декстрин, мальтозу и салицин, не разлагает казеин, не сбраживает сахарозу (Литвина, 2012).

В выводных протоках вымени могут находиться: *Enterococcus liquefaciens* (энтерококк), представители бактерий р. *Corynebacterium*, представители семейства *Micrococcaceae*. Комменсалами вымени могут быть молочнокислые бактерии рода *Lactobacterium*. *Lactobacterium plantarum* – представитель эпифитной микрофлоры растений, поэтому он также может оказаться на вымени животного (Ефимочкина, 2016).

Перечисленные выше микроорганизмы стабильно находятся в сыром молоке, и поэтому считаются представителями нормальной микрофлоры молока. Последующее загрязнение молока происходит из-за недостаточно

приемлемых санитарно-гигиенических условий производственного оборудования (емкостей для молока, охлаждающих ванн, молочных фляг) (Литвина 2012, Красникова 2013). Кроме того, причиной загрязнения молока может стать и обслуживающий персонал, поэтому необходим контроль за состоянием здоровья и санитарной грамотностью персонала в соответствии с СанПиНом 2.3.4.551-1096.

Таким образом, существует достаточное количество факторов риска для постсекреторного обсеменения молока достаточно: инвентарь, вымя коровы, руки доярок, почва, воздух, корм и фекалии животного. Данные микроорганизмы составляет так называемую постороннюю микрофлору сырого молока. Главным образом это бактериофаги и большая группа психротрофных микроорганизмов (дрожжи, спорообразующие бактерии, плесени, сапрофитные бактерии – представители родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus* и др.) (Барабанщиков, 1980).

Бактериофаги являются вирусами бактерий. Эти микроорганизмы не имеют клеточного строения, размеры их частиц измеряются миллимикронами. Они поражают клетки бактерий и других микроорганизмов, вызывая их гибель. Явление бактериофагии молочнокислых бактерий чрезвычайно широко распространено в молочном производстве, куда бактериофаг попадает обычно с сырым молоком или с заквасками, содержащими бактериофаг внутри клеток. Бактериофаги, которые заражают молочнокислые стрептококки, имеют форму удлинённого многогранника (головка) с гибким отростком – полым цилиндром, окружённым футляром; на конце отростка имеется небольшое утолщение – базальная пластинка (Еремина, 2004).

Психротрофные микроорганизмы. В широком смысле к ним относятся бактерии рода *Pseudomonas*, дрожжи, микрококки, плесневые грибы, молочнокислые палочки, спорообразующие палочки и другие микроорганизмы, которые могут размножаться при температуре ниже 7°C.

Именно бактерии рода *Pseudomonas* играют наибольшее значение в молочной промышленности, они обычно и рассматриваются в более узком смысле как психротрофная микрофлора молока (Авершина, 2019).

Эти микроорганизмы главным образом строгие аэробы, каталазаположительные, имеют аргинингидролазную активность. Одни из них окисляют глюкозу и выделяют диффундирующий в среду флуоресцирующий пигмент, другие его не образуют. Некоторые бактерии выделяют при своём развитии фермент фосфатазу; их рост бывает причиной положительной реакции на фосфатазу в пастеризованном и охлаждённом молоке (Банникова, Королева, Семенихина, 1987; Красникова, 2013).

Pseudomonas aeruginosa (синегнойная палочка) – неспорообразующая палочка. Она выявлена повсюду, её выделяют из почвы, воды, с растений и от животных. В особенности долго хранится в воде. Колонии на плотных средах схожи с колониями *E. coli*, в бульонных культурах образуют слизь, продуцируют сине-зеленый пигмент – пиоцианин. В препарате мелкая палочка, не образует спор, грамотрицательная. Является сильным аммонификатором. Хемоорганотроф, оптимальная температура роста 30–37°C (Степаненко, 1999).

1.3. Источники микробиологического загрязнения молока

Санитарное качество молока и использование его для производства молочных продуктов сильно зависят от количества и состава микрофлоры. Имеется немало способов поступления микрофлоры в молоко и избежать ее проникновения почти невозможно. При ручном доении она проникает в молоко с поверхности вымени, кожного покрова коровы, от соприкосновения с запыленным воздухом помещений, попадания частичек корма из подстилки, навоза, воды, с плохо вымытой посуды, инвентаря, оборудования, рук и одежды обслуживающего персонала (Поджарая, 2014).

При машинном доении доильное оборудование и волосяной покров коровы являются основой поступающей микрофлоры. Есть несколько методов определения механической загрязненности молока: весовой метод, метод фильтрации и метод отстоя (Загаевский, 1971).

Метод фильтрации служит официальным критерием для оценки степени чистоты молока и лучше всего подходит для анализа его в практических условиях, он базируется на фильтровании молока и сопоставлении фильтра с эталоном. Молоко в зависимости от количества механических примесей на фильтре по степени чистоты делится на три группы. Молоко первой группы не должно иметь видимых частиц механических примесей. Молоко второй группы имеет на фильтре слабо видимые отдельные частицы примесей. Молоко третьей группы может иметь на фильтре заметный осадок крупных частиц примесей (в виде точек) (Соляник, Гласкович, 2014).

При наличии большого количества механических примесей молоко считается некачественным, поскольку микроорганизмы попадают в него вместе с механическими частицами (Черноиванов, 1998).

Модификации, которые наблюдаются при хранении молока (сбраживание, ухудшение запаха и вкуса и т.д.) являются следствием жизнедеятельности микроорганизмов. Молоко для них отличная питательная среда, поэтому при благоприятных условиях они быстро в нем размножаются, и в результате, качество молока снижается (Алексеева, 1986).

В нормальных условиях получения свежее молоко содержит то или иное количество микробов; только последние порции удоя оказываются стерильными, т.е. они не имеют бактерий. Обсеменение молока микроорганизмами совершается при доении из нескольких внешних источников: из вымени, с кожи животного, посуды и т.д. (Поджарая, 2014).

Организм животного или, точнее кровь, из составных частей которой формируется молоко в железистой ткани вымени, не является источником

обсеменения молока микроорганизмами. Кровь здорового организма имеет бактерицидные свойства по отношению к неболезнетворным микроорганизмам. Только в случае болезни животного в молоке могут оказаться патогенные (болезнетворные) бактерии (Королева, 1980).

Вымя животного. В вымени животного всё время имеются микробы; они проникают внутрь вымени через каналы сосков. Как только микробы попадают в вымя, они подвергаются бактерицидному действию ткани вымени и существенная их масса умирает, остаются только стойкие формы. Среди них главное место занимают микрококки. Свойство микрококков приживаться в вымени животного характеризует их как очень устойчивую к неблагоприятным условиям группу бактерий. В данной способности микрококков обнаруживается их полупаразитарная природа – умение расти как на мертвых органических веществах, так и в живом организме (Королева, 1984).

В дополнение к микрококкам в вымени могут попадаться стрептококки, которые формируют на твердой питательной среде крайне маленькие колонии. По своим свойствам они идентичны молочнокислым стрептококкам кишечного происхождения. Их оптимальная температура развития составляет около 40°C; при данной температуре они свертывают молоко через 12–14 часов. Максимальная кислотность молока составляет 110–120°Т.

Формируются очень мелкие («точечные») колонии, скорее всего, из-за ослабления стрептококков под воздействием ткани вымени. При культивировании в молоке у данной группы стрептококков восстанавливается способность образовывать колонии нормального размера (Цыбульски, Зяйка, 2005).

При недобросовестном уходе за выменем животного в нем также могут присутствовать и другие бактерии. Молоко, включающее только микрофлору вымени, называется асептическим. Данное молоко можно получить,

осторожно сдаивая его в стерильную посуду после тщательной промывки вымени, протирая его сухим чистым полотенцем и дезинфицируя спиртом или другими веществами. В 1 мл асептического молока имеются сотни или несколько тысяч бактерий (Семушев, 2014).

Из-за близости к источникам загрязнения и наличия остатков молока у входного отверстия соска имеется много микробов (образуется «бактериальная пробка»). Таким образом, первые струйки молока, как более загрязненные бактериями, лучше сдаивать в отдельную посуду и не перемешивать с общим удоем. По мере удаления от канала соска вглубь вымени количество бактерий снижается, в результате чего последующие порции молока оказываются менее загрязненными (Матвеев, Ческов, 2017).

У некоторых здоровых коров не наблюдается существенного снижения бактериальной обсемененности молока во время доения. Причиной этого может быть небрежный уход за выменем животного. Его загрязнение способствует попаданию бактерий внутрь вымени, что приводит к снижению бактерицидного действия железистой ткани (Карпеня, Шляхтунов, Подрез, 2015).

Количество бактерий, попавших внутрь вымени, уменьшается постепенно, поэтому постоянное содержание вымени в чистоте является необходимым условием получения молока высокого качества (Королева, 1984).

Корм. Корм может оказывать как прямое, так и косвенное влияние на микрофлору молока. В первом случае молоко обсеменяется в процессе кормления животных сухим кормом, от которого при раздаче образуется много пыли. Эта опасность серьезна, если корм давать животным до или во время доения. В то же время мельчайшие частицы корма находятся в воздухе и попадают в молоко во время дойки. Поэтому использование доильных аппаратов значительно снижает вероятность поступления микробов из воздуха. Косвенное влияние корма на микрофлору проявляется двумя

способами: во-первых, при чрезмерном кормлении животных сочными кормами (корнеплоды и пр.) кал становится более жидким, что увеличивает риск попадания в молоко частиц кала; во-вторых, корма, загрязненные частицами почвы, способствуют попаданию в молоко опасных для молочных продуктов маслянокислых бактерий (Степаненко, 2006).

Воздух. Воздух не играет особой роли в обсеменении молока. Только при наличии большого количества пыли в нем бактериальная обсемененность воздуха увеличивается и, таким образом, возникают условия для загрязнения молока. Как правило, в воздухе содержится небольшое количество бактерий. Если предположить, что из воздуха во время дойки на поверхность молока попадает даже очень большое количество микробов, например, 10000, то и в этом случае при удое 10 л на 1 мл молока приходится только одна клетка (Бузинова, Денежко, Никитина, 2003).

Чтобы уменьшить бактериальное загрязнение воздуха и поддерживать чистоту на скотном дворе, должны соблюдаться следующие условия:

- производиться уборка, чистка и кормление животных задолго до дойки;
- для облегчения уборки помещения пол должен быть выполнен из бетона или другого влагонепроницаемого материала;
- в помещении должны быть хорошая вентиляция и освещение; это облегчит содержание помещения в должной чистоте. Окна должны быть покрыты сетками (Щелкунов, 2000).

Обслуживающий персонал. Источником обсеменения молока микроорганизмами могут быть руки оператора, если им не соблюдались правила личной гигиены. Микробы обнаруживаются на поверхности рук, в складках кожи и под ногтями. Особо стоит отметить вероятность попадания в молоко с рук и одежды обслуживающего персонала патогенных бактерий и кишечной палочки.

Мокрыми руками доить нежелательно, так как при этом вероятность загрязнения молока повышается еще больше. Регулярные медицинские осмотры работников, контактирующих с дойными коровами и молоком, наличие на скотном дворе умывальника с чистым полотенцем и тщательное мытье рук с мылом перед каждым доением должны стать обязательными требованиями при получении молока.

Торговля молоком, полученным от животных, больных сибирской язвой, бешенством, паратуберкулезом, оспой, ящуром, лептоспирозом, сальмонеллезом, туберкулезом, гастроэнтеритом, бруцеллезом, лейкозом и другими заболеваниями, строго запрещена (Мармузова, 2000).

1.4. Способы инаktivации молочной микрофлоры

Есть много способов влияния на микрофлору молока, но к наименее дорогостоящим относятся методы, базирующиеся на применении низких и высоких температур (Зобнина, 2005).

Холод не порождает гибель микроорганизмов, а лишь тормозит их рост и развитие – переводит микроорганизмы в анабиотическое состояние. С помощью холода хранится исключительно свободное от бактерий молоко. Если до замораживания молоко было обсеменено, то с повышением температуры и его оттаивании микроорганизмы возобновляют свою жизнедеятельность, что приводит к изменениям свойств молока (Ларионов, Щипцова, Вязова, 2012).

Тепло вызывает гибель микроорганизмов, что останавливает порчу молока в процессе хранения. Тем не менее, когда температура увеличивается, структура белков, жиров, ферментов, витаминов меняется. Степень их разрушения зависит от температуры и длительности воздействия (Галынкин, Заикина, Миндукшев, 2003).

Почти все молоко, которое имеется в магазине, подвергается промышленной термической обработке, что в значительной степени гарантирует безопасность потребления этого молока, но польза его, естественно, меньше по сравнению с парным молоком. Срок годности продукта зависит от температуры и времени термической обработки (Шалыгина, Калинина, 2004).

К термическим способам обработки молока относятся: ультрапастеризация, пастеризация, стерилизация (Полищук, 1978).

Пастеризация – способ обеззараживания молока при температуре 63–95°C. При пастеризации погибает 99,9% вегетативных форм микроорганизмов, а также разрушаются и антимикробные вещества молока, что снижает его качество. Молоко от здоровых животных пастеризуют в различных режимах (Закиров, 2019).

При *длительной пастеризации* молоко нагревают до 63–65°C, оставляя при этой температуре в течение 30 минут при постоянном помешивании. В этом режиме все основные свойства молока сохраняются.

При *кратковременной пастеризации* молоко нагревают до 72–74°C с выдержкой в течение 15–20 секунд. При таком режиме коагулирует 13–25% глобулинов и альбуминов молока.

При *моментальной пастеризации* молоко доводится до температуры 85–87°C без выдержки. При таком режиме коагулируют почти все альбумины и до 30% иммунных глобулинов. Моментальную пастеризацию осуществляют в молочно-консервной и маслодельной промышленности. Десять минут пастеризации молока при температуре 95°C проводят при производстве молочных продуктов. Пастеризованное молоко сохраняется при температуре 0–8°C не более 36 часов с момента выпуска. Качество пастеризованного молока проверяется следующими параметрами: температура, содержание жира, вкус и запах, кислотность, проба на

пастеризацию, титр кишечной палочки и бактериальная обсемененность (Мирошникова, 2005).

Стерилизация – обеззараживание молока и молочных продуктов при температуре свыше 100°C. При стерилизации гибнут вегетативные и споровые формы микробов. Стерилизованное молоко получают из коровьего молока того же состава, что и пастеризованное, но подвергают термической обработке при температуре свыше 100°C. При производстве стерилизованного молока к начальному сырью предъявляются более высокие требования. Оно должно быть термоустойчивым, с минимальным механическим и бактериальным обсеменением (Золотин, 1979).

Технологический процесс производства стерилизованного молока реализуется по двум схемам: с одноступенчатым и двухступенчатым режимом стерилизации.

При *одноступенчатой стерилизации* молоко подвергают тепловой обработке один раз до розлива или после него. Стерилизованное молоко сохраняется до 10 дней при температуре 20°C. Хранить его нужно при отсутствии прямых солнечных лучей.

При *двухступенчатой стерилизации* молоко подвергается температурной обработке дважды: до розлива (в потоке) и после розлива (в таре). Вследствие этого способа стерилизации в молоке происходят более глубокие модификации, чем при одноступенчатом режиме стерилизации. В нем возникает более сильный привкус кипяченого молока, снижается содержание витаминов, усиливаются вязкость и кислотность. Данное молоко при установленных температурных условиях может храниться в течение года (Твердохлебов, Рамановская, 2006).

Высокотемпературная стерилизация – это обеззараживание молока при температуре 120-140 °C в течение 2–10 секунд.

Длительная стерилизация – это обеззараживание при температуре 115°C в течение 15–20 минут (Оноприйко, Хранцов, 2004).

Ультрастерилизация – нагревание молока в течение одной секунды до температуры 150°C в трубчатых аппаратах химически чистым паром путем введения его непосредственно в молоко. В этом режиме ликвидируются окислительные процессы, что приводит к разрушению витамина С. Молоко, подвергшееся ультрастерилизации можно хранить длительное время. Молоко, приготовленное для стерилизации заранее, нагревают до температуры 78–82°C и центробежно очищают для удаления дестабилизированного белка. Нагретое очищенное молоко гомогенизируют при давлении 15020 Мпа. (Позняковский, 2007).

Гомогенизация – дробление (диспергирование) шариков жира на более мелкие и равномерное их разделение в молоке из-за высокого давления в гомогенизаторах. Степень гомогенизации шариков достигает 80-85%. Размеры жировых шариков снижаются в десять раз. Гомогенизация молока препятствует отложению жира. Продукт оказывается более однородным, понижается потеря жира с сывороткой, совершенствуется смешиваемость компонентов и консистенция сырной массы. Гомогенизация применяется при выработке питьевого молока, сливок и кисломолочных продуктов, напитков из них (Крусь, Храмцов, Волокитина и др., 2006).

Кипячение молока, как правило, делают в домашних условиях. При температуре 100°C погибают вегетативные и некоторые споровые формы микроорганизмов, витамины разрушаются, изменяются белки. В зависимости от того, насколько загрязнено молоко его сохранность может варьироваться от одного до нескольких часов (Ведищев, 2005).

В хозяйствах, неблагополучных по инфекционным болезням, молоко обеззараживают при температурах, губительных для болезнетворных микроорганизмов. Режимы обеззараживания предусмотрены ветеринарным законодательством. При сильном обсеменении молока температура и продолжительность воздействия увеличиваются.

Для уничтожения микроорганизмов используются ультрафиолетовое излучение, высокочастотные колебания, антибиотики и химические вещества, электрический ток. Некоторые из этих методов дали обнадеживающие результаты, но до сих пор не нашли широкого использования в практике животноводства (Жарикова, 2007).

1.5. Заболевания, связанные с микробиологическим загрязнением молока

Инфекционные болезни животных, передающиеся с молоком, представляют максимальную опасность (Балыбердин, 2008). Патогенные микробы попадают в молоко не только от больных животных, но и из окружающей среды при транспортировке или переработке.

Микробы, передающиеся через молоко, делятся на две группы. К первой группе относятся возбудители зооантропонозов – болезней, характерных как для человека, так и для животных. К ним относятся туберкулез, ящур, бруцеллез и др. Вторая группа включает возбудителей антропонозов – болезней, передающихся от человека человеку (дизентерия, брюшной тиф, скарлатина, дифтерия) (Богомолов, 1996).

Туберкулез – это хроническое заболевание, возбудитель которого совместно с молоком выделяется в окружающую среду. В такой среде микобактерии сохраняются до 10 дней, в сливочном масле на холоде – до 300, в сырах – до 200 дней. При туберкулезе вымени совершается модификация молока: оно приобретает зеленовато-желтоватый цвет, с хлопьями. Такое молоко кипятят и применяют животным при откорме (Бессарабов, Воронин, 2007).

Бруцеллез – является хроническим заболеванием. В охлажденном молоке бруцеллы хранятся до 8 дней, в замороженном – до 60, в сквашенном – до 4, в сливках – до 10, в масле – 40–60, в сырах – до 40 дней. Бруцеллы

уязвимы перед большими температурами: при 65°C они гибнут через 15 минут, при 70°C – через 5 минут. Молоко от больных животных пастеризуют при температуре 70°C в течение 30 минут (Свириденко, 2008).

Ящур – острая сильноконтагиозная болезнь. Вирус ящура в свежем молоке сохраняется до 12 часов, в охлажденном – до 2 недель. От больных ящуром животных молоко пастеризуют при температуре 80°C в течение 30 минут или кипятят около 5 минут. Обеззараженное молоко превращают в топленое масло или применяют в качестве корма для животных (Свириденко, 2009).

Сальмонеллез – острые желудочно-кишечные болезни, вызванные сальмонеллами и их токсинами, которые вместе с молоком могут оказаться в организме человека. Источниками загрязнения молока сальмонеллами являются больные животные, корма и вода, а также обслуживающий персонал. Люди, которые перенесли сальмонеллез, остаются носителями в течение продолжительного времени (Бухарин, 2000).

Мастит (воспаление вымени) может вызваться микробами, которые попадают в молочную железу. Более 90% инфекционных маститов возбуждают стафилококки и стрептококки, мастит, вызываемый *E. coli* реже, встречается у коров. Энтеротоксигенные стафилококки могут вызывать тяжелые отравления людей, особенно среди детей (Коростелева, Баймишева, 2004).

Качество и безопасность молока и молочных продуктов требуют интенсивного контроля со стороны санитарных органов. При санитарно-эпидемиологической экспертизе молока и молочных продуктов имеет значение эпидемиологическая опасность молока в отношении зоонозных и кишечных инфекций и пищевых отравлений, оцениваются пищевая ценность, физико-химические и микробиологические показатели, органолептические показатели, радиологические и химические показатели безопасности (Шевелева, 2010).

Молоко и молочные продукты могут вызывать микробные пищевые отравления, в первую очередь стафилококковый токсикоз. Его возбудителями являются золотистые стафилококки, которые поступают в молоко от коров, больных маститом. Применять для пищевых целей молоко от коров, больных маститом, запрещено. Поскольку воспалительный процесс в вымени может протекать в подострой форме или скрытно, молоко от этих коров может попасть в сборное молоко, что требует усиленного контроля.

Заболевание коровы маститом можно обнаружить при лабораторном исследовании молока с помощью пробы с димастином (мастидином) или путем обнаружения примесей крови в молоке. При надобности можно провести определение наличия стафилококкового токсина в молоке и молочных продуктах (Серегин, 2009).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Работа проводилась на базе бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае». Материалом для исследования служило сырое коровье молоко 1 сорта и питьевое пастеризованное молоко с массовой долей жира 2,5 и 3,2%.

Сырое молоко – это молоко, не подвергавшееся термической обработке при температуре более 40°C или обработке, в результате которой изменяются его составные части.

Питьевое пастеризованное молоко – это молоко с массовой долей жира не более 9%, произведенное из сырого молока и (или) молочных продуктов и подвергнутое термической обработке в целях соблюдения установленных требований к микробиологическим показателям безопасности и другой обработке в целях регулирования его составных частей (без применения сухого цельного молока, сухого обезжиренного молока) (Горбатова, 2004).

Во время исследования был проведен анализ 235 образцов сырого коровьего молока 1 сорта, 1530 образцов молока с массовой долей жира 2,5% и 465 образцов жирностью 3,2% следующих торговых марок: «Биоснежка», «Молочная сказка», «Коровкино», «Молочная река», «Белый Замок», «Плати Меньше Живи Лучше», «Домик в деревне», «Российское» (табл. 1).

Данные продукты были исследованы на наличие количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), бактерии группы кишечной палочки (БГКП), *St. aureus*, патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл за период 2018–2021 гг.

Таблица 1

Количество проанализированных образцов молока разных торговых марок

Торговая марка молока	Количество образцов, шт.	
	м.д.ж. 2,5%	м.д.ж. 3,2%
Биоснежка	125	-
Молочная сказка	255	137
Коровкино	310	64
Молочная река	145	88
Белый Замок	95	83
Плати Меньше Живи Лучше	445	-
Домик в деревне	113	93
Российское	42	-
Сырое молоко 1 с.	235	

Метод определения КМАФАнМ – ГОСТ 10444.15-94.

Метод обнаружения БГКП – ГОСТ 31747-2012.

Метод обнаружения коагулазо-положительных стафилококков и *Staphylococcus aureus* – ГОСТ 31746-2012.

Метод обнаружения патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл – ГОСТ 31659-2012.

2.2. Методы исследования

Метод определения КМАФАнМ (количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов) основан на высеве продукта или разведения навески продукта в агаризированную питательную среду и количественном подсчете всех выросших видимых колоний. Так же

для учета КМАФАнМ использовались микробиологические петрифилмы – 3М Petrifilm Aerobic Count Plate. Петрифильм содержит готовую питательную среду, тетразолиевый индикатор, который облегчает подсчёт колоний на петрифильме и гель, растворимый в холодной воде, который застывает при комнатной температуре.

Для проведения анализа из навески готовят исходное и ряд десятикратных разведений в стерильных растворах хлористого натрия. Масса (объем) навески продукта, предназначенной для приготовления исходного разведения или гомогената составляет не менее $10 \pm 0,1$ г/см³.

Разведения готовятся следующим образом: из проб, отбираемых по объему, берут стерильной пипеткой 1 см³ продукта и вносят в 9 см³ физиологического раствора для разведений (0,85% NaCl). Получается разведение 1:10 (первое разведение). Из первого разведения 1:10 готовят последующие разведения 1:100 и т.д., отбирая 1 см³ предыдущего разведения и добавляя его в пробирку с 9 см³ физ. раствора для разведений (рис. 1). Для приготовления каждого разведения необходимо брать новую стерильную пипетку.

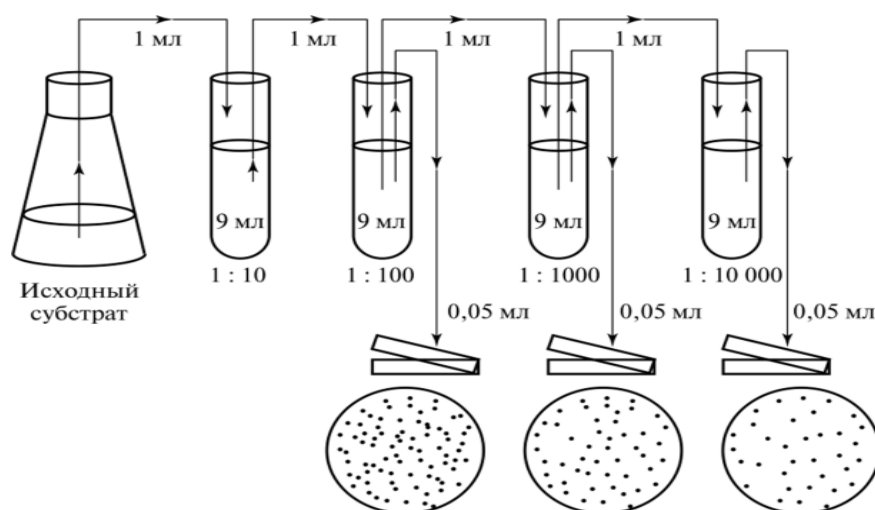


Рис.1. Схема десятикратного разведения

Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов проводится посевом продукта (исходное разведение) и его каждого соответствующего разведения (шестое разведение включительно) по 1 см³ (мл) в чашки Петри методом глубинного посева на агаризированную питательную среду (мясо-пептонный агар). Посевы инкубируют при температуре $+(30\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 72 ± 3 ч. в аэробных условиях (рис. 2). После инкубирования посевов производят учет количества колоний, появившихся на чашках Петри. Для подсчета отбирают чашки, на которых выросло от 15 до 300 колоний.

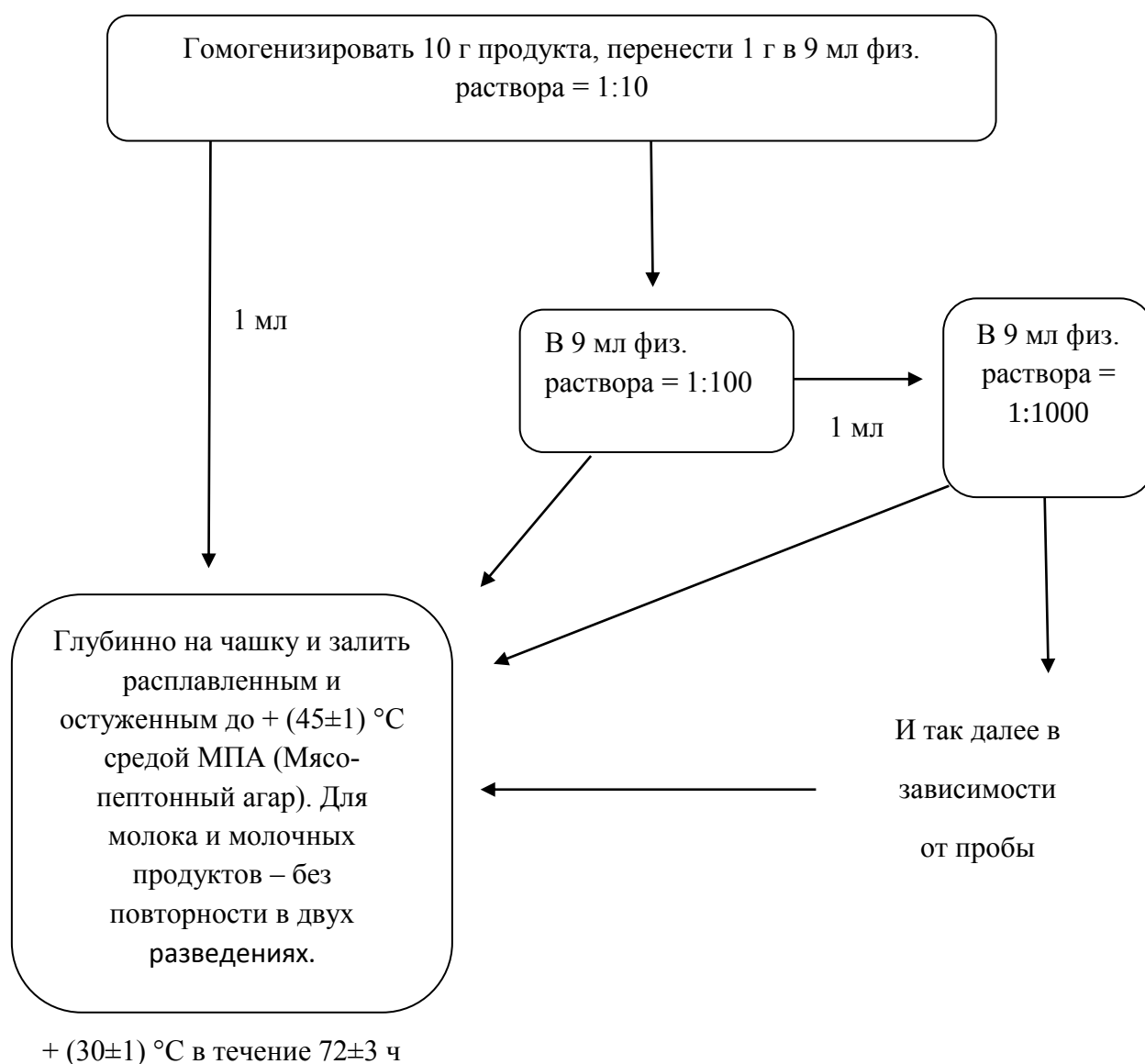


Рис. 2. Схема посева пищевых продуктов на КМАФАнМ

Посев на петрифильм осуществляют по схеме, представленной на рисунке 3. Готовые петрифильмы инкубируют в горизонтальном положении прозрачной стороной вверх, сгруппированными в количестве не более 20 штук, при + 30°C в течение 48–72 часов (МУК 4.2.2884-11).

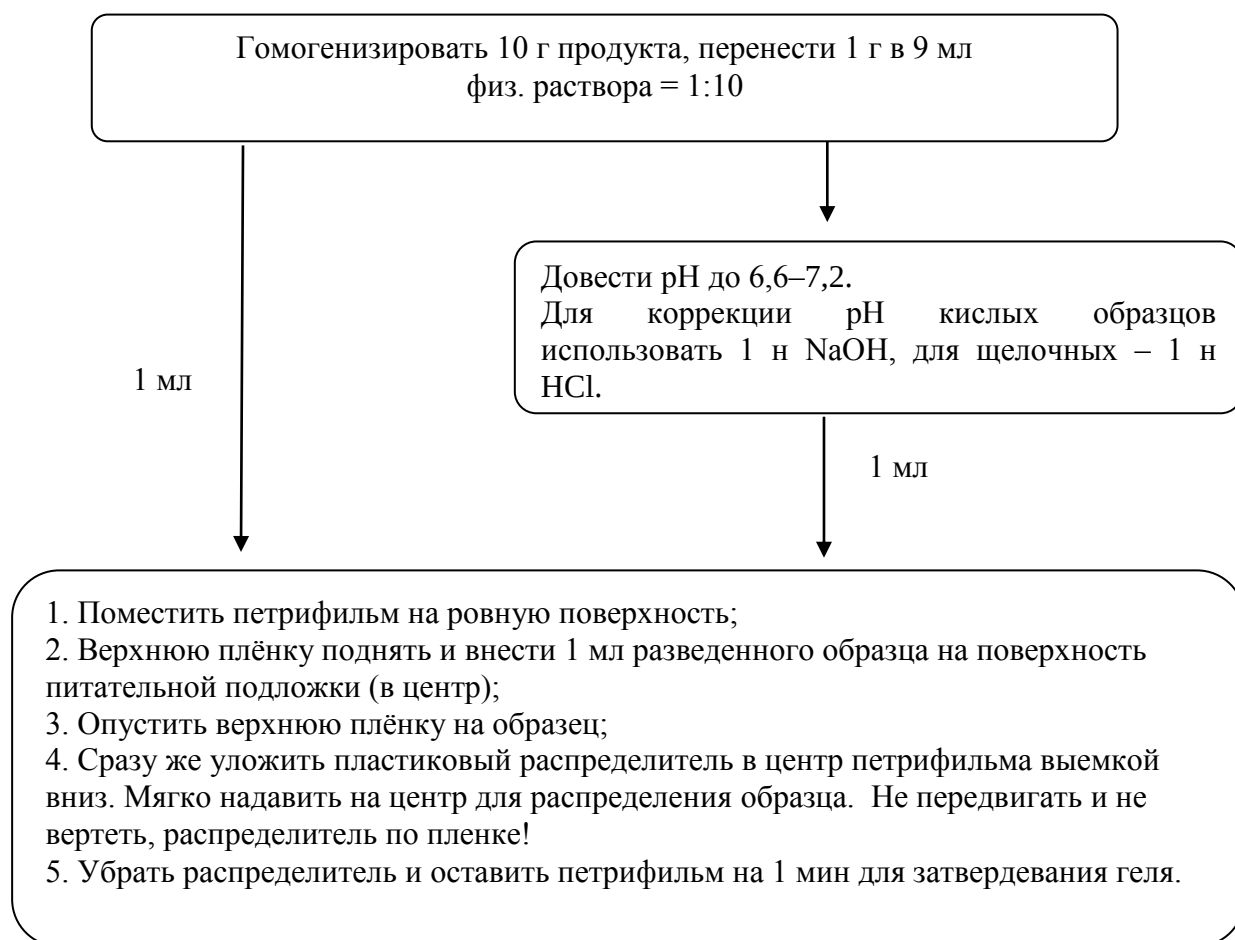


Рис. 3. Схема посева пищевых продуктов на петрифильмы

Колонии, выросшие на плотных питательных средах, считают в посевах того разведения, количество колоний в котором находится в пределах 15–300. По результатам подсчета вычисляют среднеарифметическое значение числа колоний из всех посевов одного разведения. Количество микроорганизмов в 1,0 г (см³) продукта М вычисляют по формуле:

$$M = (N/m) * C,$$

где N – степень разведения навески;

m – количество инокулята, внесенное в чашку Петри, см³;

C – округленное среднеарифметическое значение числа колоний.

При использовании петрифильмов проводят подсчет числа колоний в одном или более квадратах и определяют среднее число колоний в квадрате. Умножив полученное число на 20, получают число колоний на петрифильме (ГОСТ 10444.15-94; СОП 03-17-03).

Методы обнаружения бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) основаны на высеве определенного количества продукта и (или) разведений навески продукта в жидкую селективную среду с лактозой, инкубировании посевов, учёте результатов, учёте положительных пробирок, пересеве культуральной жидкости в жидкую селективную среду для учёта газообразования или пересева (при необходимости) на поверхность агаризированной селективно-диагностической среды для подтверждения по биохимическим и культуральным признакам роста принадлежности выделенных колоний к колиформным бактериям.

Метод посева в жидкие питательные среды заключается в выявлении присутствия (отсутствия) БГКП и определения их таксономических свойств. Для этого в колбу или пробирки с жидкой питательной средой Кесслер и стеклянными поплавками вносят по 1 г/см³ пробы и (или) разведения навески пробы (для молока, пастеризованного второе разведение включительно) и инкубируют при температуре +37°C в течение 18–20 ч.

Далее из пробирок, в которых наблюдался характерный бактериальный рост – газообразование, помутнение среды – для дополнительного подтверждения принадлежности бактерий, выросших на жидкой питательной среде к колиформным бактериям, производят, пересев на поверхность агаризированной селективно-диагностической среды Эндо.

Для этого берут пробирку с проросшими колониями, из неё бактериологической петлёй аккуратно подцепляют некоторое количество

материала и переносят на предварительно подсушенную плотную питательную среду. Для получения изолированных колоний внесенную каплю культуральной жидкости распределяют по поверхности среды микробиологической петлей используя технику истощающего штриха (рис. 4) (ГОСТ 31747-2012, 2013; СОП 03-17-16, 2013).

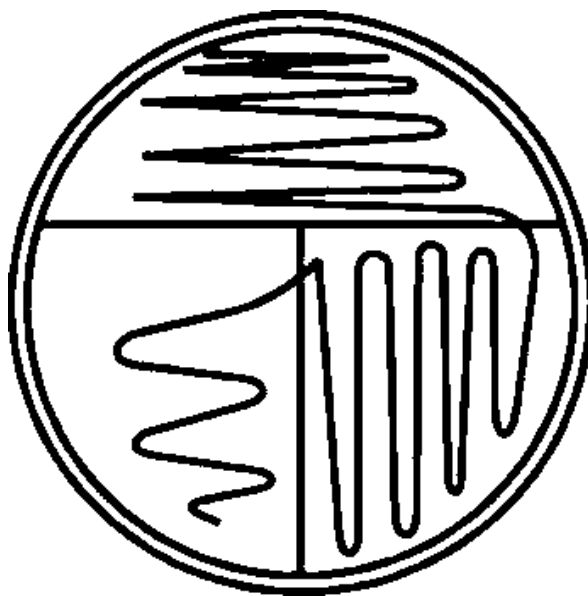


Рис. 4. Техника посева истощающим штрихом

Петлю, которой осуществляется перенос, профламбируют перед и после использования. Вся процедура проводится в боксе, либо за лабораторным столом над пламенем горелки.

Посевы на среде Эндо инкубируют при температуре + 37°C в течение 24 ч. Для дополнительного подтверждения принадлежности выросших колоний бактерий к колиформным отбирают не менее, чем по пять типичных колоний из каждой чашки.

Принадлежность к колиформным бактериям определяют по отношению к окраске по Грамму:

– приготовление мазка. На чистое, хорошо обезжиренное, профламбированное в пламени горелки и остуженное стекло бактериологической петлей наносят каплю стерильной воды, в которую с помощью прокаленной, охлажденной бактериологической петли вносят исследуемый материал и распределяют его на площади 1–2 см² так, чтобы приобрести тонкий равномерный мазок. Сделанные мазки высушивают при комнатной температуре на воздухе.

– фиксирование мазка. Для закрепления клеток микроорганизмов на стекле высушенные мазки фиксируют. Для этого предметное стекло с высушенным мазком, обращённым вверх, берут пинцетом и проводят несколько раз через верхнюю часть пламени горелки с промежутками 5–6 секунд. Зафиксированный мазок охлаждают на воздухе.

– окрашивание мазка. Для окраски по Граму мазки окрашивают раствором кристаллического фиолетового с щавелевокислым аммонием. Через 0,5–1 мин с окрашенного мазка удаляют бумагу и излишки красителей, мазок промывают проточной водой, наносят на него йодный раствор по Бурке. Спустя 0,5–1 мин мазок промывают 96% этиловым спиртом, погружая его последовательно в несколько порций спирта до тех пор, пока с мазка не будут стекать окрашенные струйки. Затем с мазка убирают остатки спирта, промывая его водой. Промытый мазок окрашивают красителем контрастного цвета (фуксин основной), выдерживая 2–3 мин, далее промывают водой и высушивают (Банникова, Королева, Семенихина, 1987).

– просмотр препаратов под микроскопом. Для просмотра приготовленных фиксированных препаратов используют микроскоп «XS-90», увеличение 10×100 с использованием иммерсионного масла (ГОСТ 31747-2012, 2013; СОП 03-17-04, 2013; СОП 03-17-16, 2013).

Метод обнаружения коагулазо-положительных стафилококков и *Staphylococcus aureus* с предварительным обогащением основан на высеве навески продукта и его разведений в жидкую селективную среду,

инкубировании посевов, учете положительных пробирок, пересеве на плотные селективные среды с последующим подтверждением принадлежности выросших колоний к *St. aureus*.

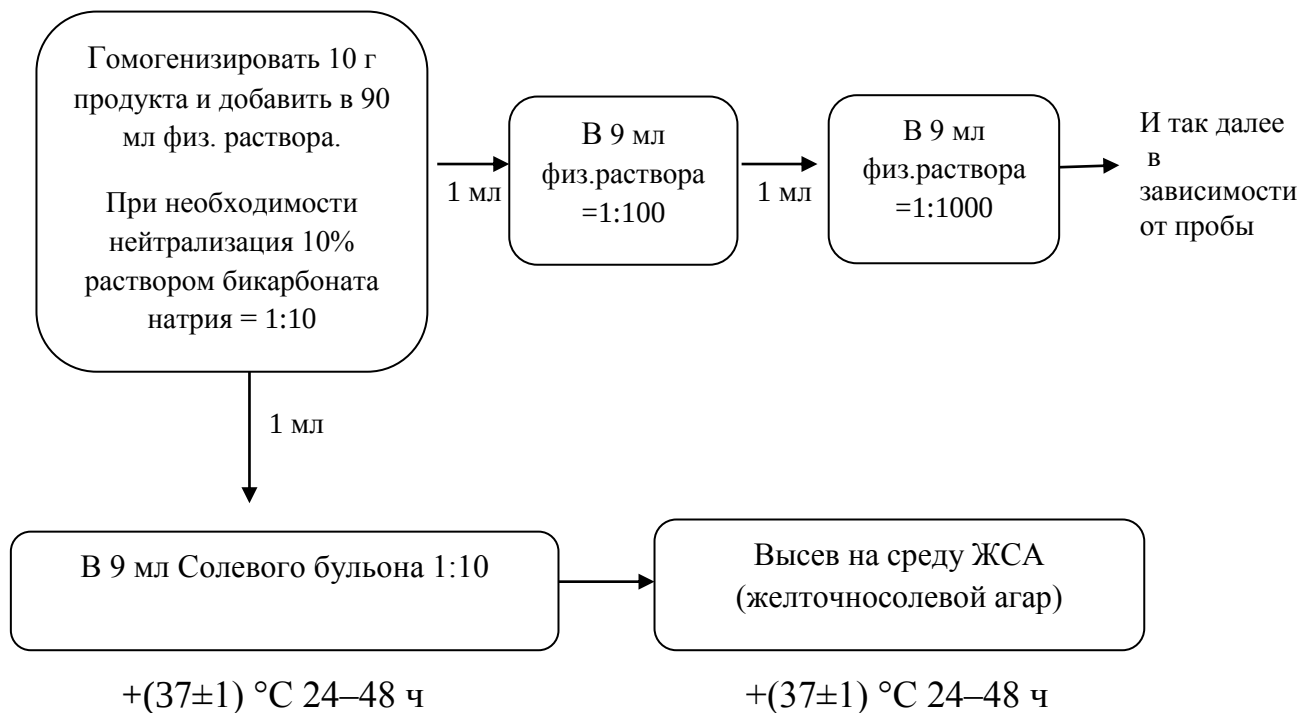


Рис. 5. Схема посева пищевых продуктов на *Staphylococcus aureus*

Из навески продукта готовят ряд десятикратных разведений, чтобы можно было определить наличие или отсутствие *St. aureus* в определенном объеме (массе) того или иного продукта, который указан в нормативном документе ТР ТС 033/2013. Затем в пробирки с 9 мл жидкой средой обогащения (солевой бульон) вносят по 1 см³ пробы и инкубируют при температуре $+37^\circ\text{C}$ в течение 18–20 ч (рис. 5). Далее из пробирок с жидкой средой производят пересев на селективную плотную питательную среду желточно-солевой агар (среда Чистович) и инкубируют при температуре $+(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении 24–48 ч.

На желточно-солевом агаре колонии *St. aureus* вырастают в форме плоских дисков диаметром 2–4 мм белого, желтого, кремового, лимонного, золотистого цвета с ровными краями; вокруг колоний образуется радужное кольцо и зона помутнения среды.

С каждой чашки Петри отбирают не менее пяти характерных колоний и пересевают на поверхность скошенного питательного агара, делают препараты, окрашивают их по Грамму и микроскопируют, также определяют способность образовывать каталазу, определяют плазмокоагулазу (пробирки убирают в термостат и выдерживают при $+(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 3–6 ч).

Определение плазмокоагулазы. Через 6 ч пробиркам, в которых коагуляции плазмы не случилось, продлевают термостатирование до 24 ч. Если через 24 ч плазма не свернулась, то испытуемую культуру стафилококка считают коагулазо-отрицательной. При получении положительной реакции считалось, что в посевах обнаружен *St. aureus* (рис. 6).

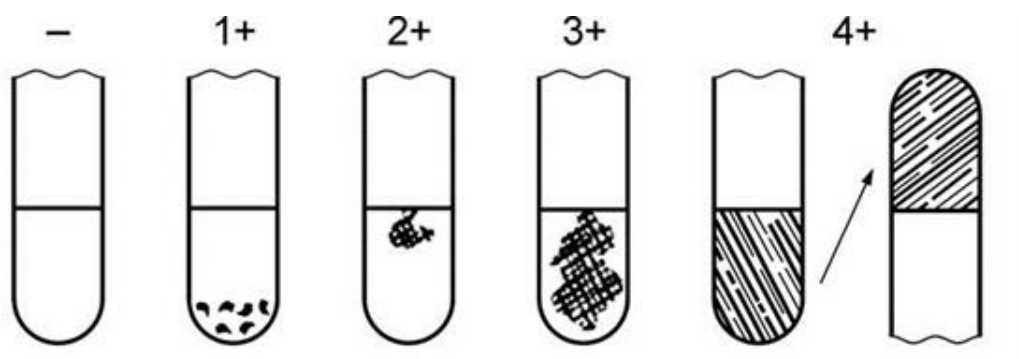


Рис. 6. Результат коагулазного теста

4+ – сгусток плотный; 3+ – сгусток, имеющий небольшой отсек; 2+ – сгусток в виде небольшого мешочка

Посевы с солевым бульоном, в которых наблюдается помутнение среды, далее исследуют на принадлежность выросших микроорганизмов к коагулазо-положительным стафилококкам.

Для получения изолированных колоний стерильной петлей делают пересевы культур из каждой положительной пробирки на поверхность чашки с желточно-солевым агаром методом посева микроорганизмов на плотные питательные среды (метод штриха). Пересевы проводят так же из пробирок, в которых нет видимых признаков роста бактерий. Предположительное присутствие коагулазо-положительных стафилококков определяют по яично-желточной реакции (лецитиназной активности).

Принадлежность выявленных коагулазо-положительных стафилококков к *St. aureus* выявляют по определению их способности образовывать ацетон и ферментировать мальтозу в аэробных условиях (ГОСТ Р 52815-2007, 2011; СОП 03-17-07).

Метод обнаружения патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл. Метод выявления бактерий рода *Salmonella* основан на высеве определенного количества продукта в жидкую неселективную среду, инкубировании посевов, последующем накоплении бактерий в жидких селективных средах, выявлении бактерий, образующих типичные колонии на агаризованных дифференциально-диагностических средах, имеющих типичные для бактерий рода *Salmonella* биохимические и серологические характеристики. Бактерии рода *Salmonella* могут присутствовать в продукте в небольшом количестве вместе с большим количеством других бактерий из семейства *Enterobacteriaceae* или других семейств. Поэтому предварительное обогащение необходимо для выявления небольшого числа бактерий рода *Salmonella* или сублетально поврежденных бактерий рода *Salmonella* (ГОСТ 31659-2012, 2014).

Предварительное обогащение в неселективной жидкой среде осуществляется так: навеску продукта массой 25 г мы вносят в забуференную

пептонную воду, затем инкубируют при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение (18 ± 2) ч. Для большего эффекта перед внесением навески продукта забуференную пептонную воду нагревают до температуры $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$.

Обогащение в селективной жидкой среде проводят инокулированием полученной культурой селенитовой среды. Посевы инкубируют при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение (24 ± 3) ч. Затем культуры пересевают на две селективные агаризованные среды: ксилоза-лизин-дезоксихолатный агар (XLD-агар) и висмут-сульфитный агар (BCA). Посевы на агаризованных средах инкубируют при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение (24 ± 3) ч.

Колонии, предположительно относящиеся к бактериям рода *Salmonella*, полученные на чашках с селективной агаризованной средой идентифицируют с помощью биохимических и серологических тестов согласно ГОСТ 31659-2012 и ГОСТ 20837-2013.

Для идентификации берут из каждой чашки (две чашки среднего или одну большого размера) сначала одну колонию типичную или не совсем типичную, а затем четыре колонии, если первая является отрицательной (в случае эпидемиологической ситуации рекомендуется брать сразу пять колоний для идентификации). Если на одной чашке насчитывается менее пяти типичных или не совсем типичных колоний, то изучают все выросшие колонии.

Отобранные колонии переносят на поверхность заранее подсушенного питательного агара в чашках Петри или на скошенную поверхность среды в пробирках. Для подтверждения применяют полностью изолированные колонии. Инокулированные чашки или пробирки инкубируют при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение (24 ± 3) ч. Из отобранных для биохимической идентификации колоний готовят препараты, окрашивают их по Граму (ГОСТ 30425) и проводят микроскопирование. При микроскопии бактерии рода *Salmonella* представляют собой грамотрицательные палочки с закругленными концами.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОГО КОРОВЬЕГО МОЛОКА РАЗНЫХ ТОРГОВЫХ МАРОК ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

3.1. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

3.2. Бактерии группы кишечной палочки

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

3.3. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

3.4. Интегральная оценка эпидемиологической безопасности молока

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

ВЫВОДЫ

СВЕДЕНИЯ ИЗЪЯТЫ

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Авершина А.С. Исследования источников микробного обсеменения молока-сырья. – Луганск: ГОУ ВПО ЛНР «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», 2019. – С. 11–18.
2. Алексеева Н.Ю. Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности. – М.: Агропромиздат, 1986. – 239 с.
3. Асонов Н.Р. Микробиология. – М.: Колос-Пресс, 2002. – 352 с.
4. Балыбердин Б.Н. Ветеринарный надзор за качеством и безопасностью пищевых продуктов // Ветеринария. – 2008. – № 2. – С. 56–58.
5. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства. – М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.
6. Барабанщиков Н.В. Качество молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 1980. – 255 с.
7. Бессарабов Б.Ф., Воронин А.А. Инфекционные болезни животных. – М.: Колос, 2007. – 671 с.
8. Бузинова О.П., Денежко Е.В., Никитина О.А. Определение качества молока и молочных продуктов // Ветеринарный консультант. – 2003. – № 21–22. – С. 30–31.
9. Богомолов А.С. Организация ветеринарного контроля за продуктами животного происхождения // Ветеринария. – 1996. – № 6. – С. 14–16.
10. Бухарин О.В. Сальмонеллы и сальмонеллезы. – Екатеринбург: Уро РАН, 2000. – 258 с.
11. Ведищев С.М. Технология и механизация первичной обработки и переработки молока. – Тамбов: Изд-во ТГТУ, 2005. – 152 с.
12. Гаврилова Н.Б. Технология молока и молочных продуктов: традиции и инновации. – М.: КолосС, 2012. – 539 с.

13. Галынкин В.А., Заикина Н.А., Миндукшев И.В. Промышленная микробиология. – СПб.: Изд. СПХФА, 2003. – 220 с.
14. Годова Г.В. Основы санитарной микробиологии пищевых продуктов. – Изд-во РГАУ – МСХА им. К. А. Тимирязева, 2009. – 46 с.
15. Горбатова К.К. Химия и физика молока. – СПб.: ГИОГД, 2004. – 145 с.
16. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. – М.: Стандартинформ, 2013. – 25 с.
17. ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – М.: Стандартинформ, 2014. – 20 с.
18. ГОСТ 10444.15-94 Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2002. – 16 с.
19. ГОСТ 31747-2012 Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – М.: Стандартинформ, 2013. – 24 с.
20. Давидов Р.Б., Соколовский В.П. Молоко и молочные продукты в питании человека. – М.: «Медицина», 2013. – 236 с.
21. Дорохина Ю.А. Микробиологические аспекты обеспечения санитарного качества молока // Университетская книга. – 2017. – № 9 – С. 134–138.
22. Еремина И.А. Микробиология молока и молочных продуктов. – Кемерово, 2004. – 80 с.
23. Ефимочкина Н.Р. Наиболее значимые виды микроорганизмов молока и молочной продукции // Молочная промышленность. – 2016. – № 10. – С. 43–50.
24. Жарикова Г.Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена. – М.: Академия, 2007. – 56 с.

25. Загаевский И.С. Санитарный контроль при машинном доении // Молочное и мясное скотоводство. – 1971. – № 2. – С. 135-139.
26. Зобнина З.С. Технологические и технические решения повышения стойкости в хранении молочных продуктов // Молочная промышленность. – 2005. – № 3. – С. 36–43.
27. Золотин Ю.П. Стерилизованное молоко. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 92 с.
28. Ильяшенко Н.Г., Пичугина Т.В., Шабурова Л.Н. Микробиология пищевых продуктов животного и растительного происхождения. – М.: МГУПП, 2009. – 13 с.
29. Иркитова А.Н. Микробиология продуктов животного происхождения. – Барнаул: АлтГУ, 2017. – 152 с.
30. Казакова Г.В. Увеличение срока годности пастеризованного молока // Переработка молока. – 2013. – №8. – С. 18–19.
31. Карпеня М.М., Шляхтунов В.И., Подрез В.Н. Технология производства молока и молочных продуктов. – М.: Инфра-М, Минск: Новое знание, 2015. – 406 с.
32. Красникова Л.В., Гунькова П.И., Маркелова В.В. Микробиология молока и молочных продуктов. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 85 с.
33. Королева Н.С. Санитарная микробиология молока и молочных. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1980. – 256 с.
34. Королева Н.С. Основы микробиологии и гигиены молока и молочных продуктов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 168 с.
35. Королева Н.С., Шидловская В.П., Семенихина В.Ф. и др. Микробиологические и физико-химические процессы при хранении пастеризованного молока и сливок // Молочная промышленность. – 1979. – № 4. – С. 18–23.

36. Кондакова Г.В. Санитарная микробиология. – Ярославль: ЯрГУ, 2005 – 84 с.
37. Коростелева Л.А., Баймишева Д.Ш. Мастит коров, его формы проявления и качество молока. – Самарская государственная сельскохозяйственная академия, 2004. – 166 с.
38. Коротышева Л.Б. Показатели микробиологической безопасности питьевого молока // Центр научного сотрудничества «Интерактив плюс». – 2016. – № 3. – С. 196–198.
39. Крусъ Г.Н. Методы исследования молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 2012. – 367с.
40. Крусъ Г.Н., Храмцов А.Г., Волокитина З.В., Кропачев С.В. Технология молока и молочных продуктов. – М.: КолосС, 2006. – 455 с.
41. Кузьмина Н. Медиаактивность молочных марок (на примере российского рынка) // Молочная промышленность. – 2013. – № 8. – С. 8–9.
42. Лаптев С.В., Мезенцева Н.И., Каменская Е.П. Химия, микробиология и экспертиза молока и молочных продуктов. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2012. – 237 с.
43. Ларионов Г.А., Щипцова Н.В., Вязова Л.М. Безопасность молока по химическим и микробиологическим показателям // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 10. – С. 29–30.
44. Литвина В.Г. Микробиология молока. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2012. – 112 с.
45. Мармузова Л.В. Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности. – М.: ИРПО, Академия, 2000. – 132 с.
46. Матвеев В.Ю., Ческов А.Е. Источники загрязнения молока // Нижегородский государственный инженерно-экономический институт (Княгинино). – 2017. – С. 12–125.
47. Мирошникова Е.П. Микробиология молока и молочных продуктов. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2005. – 135 с.

48. МУК 4.2.2884-11 Методы микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием петрифильмов. – Москва, 2011. – 7 с.
49. Ожередова Н.А., Дмитриев А.Ф., Морозов В.Ю. Санитарная микробиология. – Ставрополь: АГРУС, 2014. – 180 с.
50. Оноприйко А.В., Хранцов А.Г. Производство молочных продуктов. – М.: Март, 2004. – 112 с.
51. Поджарая К.С. О загрязнениях молока – сырья и доильного оборудования // Отраслевые ведомости. – 2014. – № 4. – С. 56–57.
52. Поджарая К.С. Основные закономерности микробиологического загрязнения молока и рабочих поверхностей молочно-доильного оборудования // Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ. – 2014. – № 115. – С. 34–37.
53. Ростроса Н.К. Технология молока и молочных продуктов. – М: Пищевая пром-сть, 1980. – 192 с.
54. СанПиН 2.3.4.551-96 Производство молока и молочных продуктов. – М.: Изд-во, 1996 – 80 с.
55. Свириденко Г.М. Основной критерий безопасности молока – сырья здоровье животных (бруцеллез) // Молочная промышленность. – 2008. – № 10. – С. 63–65.
56. Свириденко Г.М. Безопасность молока – сырья – здоровье животных (ящур) // Молочная промышленность. – 2009. – № 1. – С. 63–65.
57. Семушев А.М. Загрязнение молока и молочных продуктов, меры по его предотвращению // Наука образования. – 2014. – № 9. – С. 10–13.
58. Серегин И.Г. Производственный ветеринарно-санитарный контроль молока и молочных продуктов. – М.: ДеЛи принт, 2009. – 401 с.
59. СОП 03-17-16 Методы культивирования микроорганизмов. – Барнаул: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае», 2013. – 9 с.

60. СОП 03-17-03 Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов. – Барнаул: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае», 2013. – 6 с.
61. СОП 03-17-04 Методы обнаружения бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – Барнаул: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае», 2013. – 7 с.
62. СОП 03-17-07 Методы обнаружения коагулазо-положительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. – Барнаул: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае», 2013. – 6 с.
63. Соляник Т.В., Гласкович М.А. Микробиология молока и молочных продуктов. – Горки: БГСХА, 2014. – 75 с.
64. Степанов А.В., Александрина Е.В. Особенности микробиального состава молока. – Екатеринбург: Изд-во УГАУ, 2018. – 26 с.
65. Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов. – Сергиев Посад: ООО «Все для Вас-Подмосковье», 1999. – 345 с.
66. Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов – Изд-во «Сергиев Посад МО», 2006. – 415 с.
67. ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции», 2013. – 129 с.
68. Твердохлебов Г.В., Раманаская Р.И. Химия и физика молока и молочных продуктов. – М.: ДеЛи принт, 2006.
69. Цыбульски А., Зяйка С. Загрязнение молока и молочных продуктов // Молочная промышленность. – 2005. – № 3. – С. 72–74.
70. Черноиванов В. И. Очистка и мойка машин и оборудования. – М.: ГОСНИТИ, 1998. – 99 с.
71. Шалыгина А.М., Калинина Л.В. Общая технология молока и молочных продуктов. – М.: КолосС, 2004. – 196 с.
72. Шевелева С.С. Микробиологическая безопасность пищевых продуктов // Птицеводство. – 2010. – № 1. – С. 52–53.

73. Шидловская В.П. Органолептические свойства молока и молочных продуктов. – М.: КолосС, 2014. – 360 с.
74. Щелкунов Л. Ф. Пища и экология. – Одесса, 2000. – 517 с.
75. Юрова Е.А. Оценка качества молочного сырья и молочной продукции в свете требований федерального законодательства // Переработка молока. – 2012. – № 8. – С. 46–49.
76. Augustin M.A. Minerals salt and their effect on milk functionality // Austral J. Dairy Technol, – 2013. – № 2. – P. 61–64

Выпускная квалификационная работа выполнена мной совершенно самостоятельно. Все использованные в работе материалы и концепции из опубликованной научной литературы и других источников имеют ссылки на них.

« ____ » _____ 20 ____ г.

(подпись выпускника)

(Ф.И.О)