

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна

Должность: проректор по учебной работе

Дата подписания: 30.10.2023 14:52:14

Уникальный программный ключ:

0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d088

## МИНОБРАЗОВАНИЯ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Юго-Западный государственный университет»  
(ЮЗГУ)

Кафедра товароведения, технологии и экспертизы товаров



### МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ И ТЕХНОХИМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Методические указания по выполнению лабораторных работ  
для студентов направления 19.04.03 «Продукты питания  
животного происхождения» заочной формы обучения.

Курск 2021

УДК: 664

Составитель: А.Г. Беляев

Рецензент

Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А.Г. Калужских*

**Микробиологический и технохимический контроль в производстве продуктов питания животного происхождения:** методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев. Курск, 2021. 41 с.: Библиогр.: с.39

Приводится перечень лабораторных работ, цель их выполнения, вопросы для подготовки, краткие теоретические сведения, задания, рекомендуемая литература.

Предназначены для студентов направления подготовки 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения» заочной формы обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать      Формат 60x84 1/16.  
Усл. печ. л. 2,38    Уч.-изд. л.2,15    Тираж 50 экз. Заказ.      Бесплатно.  
Юго-Западный государственный университет.  
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

**СОДЕРЖАНИЕ**

Введение	4
Лабораторная работа №1 Органолептическое исследование мяса. Бактериоскопическое исследование мяса.	6
Лабораторная работа № 2 Санитарно-микробиологический контроль на предприятиях по переработке мяса	15
Лабораторная работа № 3 Организация и схема микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности	20
Лабораторная работа № 4 Методы контроля качества молока и молочных продуктов	27
Лабораторная работа № 5 Бактериологический контроль качества заквасок, применяемых при изготовлении молочных продуктов	35
Список рекомендуемой литературы	39

## **ВВЕДЕНИЕ**

Методические указания к выполнению практических работ предназначены для студентов направления подготовки 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения» с целью закрепления и углубления ими знаний, полученных на лекциях и при самостоятельном изучении учебной литературы.

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта. Перечень лабораторных работ, их объем соответствуют учебному плану и рабочей программе дисциплины. При подготовке к занятиям студенты должны изучить соответствующий теоретический материал по учебной литературе, конспекту лекций, выполнить задания для самостоятельной работы. Студенты должны ознакомиться с содержанием и порядком выполнения лабораторной работы.

Каждое занятие содержит цель его выполнения, материальное обеспечение, рекомендуемые для изучения литературные источники, вопросы для подготовки, краткие теоретические сведения, задания для выполнения. При выполнении лабораторных работ основным методом обучения является самостоятельная работа студентов с высоким уровнем индивидуализации заданий под руководством преподавателя. Результаты выполненных каждым студентом заданий обсуждаются в конце занятий. Оценка преподавателем лабораторной работы студента осуществляется комплексно: по результатам выполненного задания, устному сообщению и качеству оформления работы, что может быть учтено в рейтинговой оценке знаний студента.

## **Правила оформления работ**

1. Отчеты по каждой теме практического занятия оформляются в отдельной тетради.
2. Перед оформлением каждой работы студент должен четко написать ее название, цель выполнения, краткие ответы на вопросы для подготовки, объекты и результаты исследования. Если предусмотрено оформление работ в виде таблиц, то необходимо все результаты занести в таблицу в тетради. После каждого задания должно быть сделано заключение с обобщением, систематизацией или обоснованием результатов исследований.
3. Каждую выполненную работу студент защищает в течение учебного семестра.

Выполнение и успешная защита работ являются допуском к сдаче теоретического курса на экзамене.

## **Лабораторная работа №1** Органолептическое исследование мяса. Бактериоскопическое исследование мяса.

**Цель работы:** овладеть методами определения степени свежести мяса.

### **План:**

1. Отбор проб.
2. Органолептическое исследование.
  - 2.1. Определение внешнего вида мяса.
  - 2.2. Определение консистенции.
  - 2.3. Определение запаха.
  - 2.4. Определение состояния жира и сухожилий.
  - 2.5. Определение аромата и прозрачности бульона.
3. Лабораторные методы.
  - 3.1. Микроскопический анализ.
  - 3.2. Определение продуктов первичного распада белков в бульоне.
  - 3.3. Определение содержания аминокислотного азота и летучих жирных кислот.
4. Санитарная оценка.

**Задание1:** Провести органолептическое исследование представленных образцов мяса.

**Задание2:** Провести бактериоскопическое исследование представленных образцов мяса.

**Задание3:** Определить продукты первичного распада белка в бульоне дать заключение о степени свежести исследованных проб о результатах исследования.

**Оборудование:** пробы мяса разной степени свежести; чашки Петри; ножницы; пинцет; шпатель; спиртовки; пробиркодержатели; конические колбы; пробирки в штативе, стаканчик с холодной водой; бумажный фильтр; вата; воронка; набор анилиновых красителей; 5% раствор медного купороса; спирт; микроскопы; таблицы; раздаточный материал.

### **Контроль уровня знаний.**

1. Тест (3 варианта);
2. Опрос.

**Тезаурус** Первичные продукты распада белка, аминоаммиачный азот, летучие жирные кислоты, загар, ослизнение, гниение, посинение, покраснение, свечение, зарез.

### **Методические указания**

Мясо - один из важнейших продуктов питания человека, обеспечивающее его организм полноценными животными белками, содержащими незаменимые аминокислоты в их наиболее благоприятном сочетании, полинасыщенными жирными кислотами, витаминами, экстрактивными и минеральными веществами.

Мясо - это туша или ее часть, полученные от убоя скота, содержащая в своем составе мышечную ткань с другими, примыкающими к ней тканями и образованиями: жиром, костями, хрящами, соединительными образованиями, кровеносными сосудами. Мясом также является диафрагмальное и пикальное мясо (мышечный слой пищевода).

Качество мяса определяется пригодностью его в пищу с ветеринарно-санитарной точки зрения, товарными показателями и пищевой ценностью. Мясо считается пригодным в пищу, если оно получено от переработки здоровых животных и в нем отсутствуют патогенная микрофлора и токсины. Оно должно удовлетворять требованиям стандарта по органолептическим показателям - ГОСТ 7269-79 (внешний вид, цвет, консистенция), и по методам химического и микроскопического анализа - ГОСТ 23392-78.

В процессе хранения мясо может подвергаться различным изменениям, одни из которых возникают в результате жизнедеятельности непротеолитических микроорганизмов (посинение, покраснение, свечение), а другие связаны с более глубокими процессами (загар, ослизнение, заплесневение, гниение), в результате чего изменяется не только товарный вид мяса, но и его основные биохимические компоненты (белки, жиры, углеводы). В связи с этим ценность мяса как продукта питания снижается, и оно может оказаться непригодным к использованию на пищевые цели.

Для определения свежести мяса пользуются органолептическими и лабораторными методами.

Органолептическими методами устанавливают доброкачественность мяса или его свежесть; если возникают хотя бы малейшие

сомнения относительно свежести мяса, то проводят лабораторные исследования.

Исследование мяса на свежесть начинается с отбора проб:

1) от каждой исследуемой мясной туши или ее части отбирают мясо целым куском массой не менее 200г в следующих частях туши:

- у зареза (вместе с жиром и сухожилиями) против 4-5 шейных позвонков;
- из мышц в области лопатки;
- в области бедра из толстых частей мышц;

2) от замороженных или охлажденных блоков мяса и субпродуктов или от отдельных блоков сомнительной свежести - по 200г целым куском. Каждую пробу упаковывают в пергаментную бумагу и простым карандашом обозначают наименование ткани или органа и номер туши. Образцы от каждой отдельной туши упаковывают вместе в бумажный пакет и укладывают в тару, которую опечатывают, пломбируют. К образцам прилагают документ - сопроводительную, в котором должны быть записаны дата и место отбора, вид мяса, номер туши, причины и цели исследования и подпись отправителя.

При поступлении в лабораторию пробы регистрируются и хранятся до начала анализа не более суток при температуре + 2 градуса.

**Органолептическое исследование мяса (сенсорное исследование).**

Данный метод определения свежести мяса включает: определение внешнего вида туши, цвета мяса, консистенции и запаха, состояния жира, костного мозга, сухожилий и качества бульона при варке.

Таблица 1. Органолептические (сенсорные) показатели степени свежести мяса.

Наименование показателя	Свежее мясо	Сомнительной свежести мясо	Не свежее мясо
Внешний вид и цвет поверхности	Имеет корочку подсыхания бледно-розового	Местами увлажнена, слегка липкая, потем-	Сильно подсыхая, серовато-

туши - определяют при естественном освещении	или бледно-красного цвета	невшая.	коричневого цвета, покрытая слизью или плесенью.
Мышцы на разрезе – определяют влажность путем прикладывания к разрезу кусочка фильтровальной бумаги и липкость	Слегка влажные, не оставляют жирного пятна на фильтровальной бумаге; цвет, свойственный данному виду мяса: для говядины – от светло-красного до темно-красного, для свинины – от светло-розового до красного, для баранины – от красного до красно-вишневого, для ягнятины - розовый	Влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, слегка липкие, темно-красного цвета. Для замороженного мяса с поверхности разреза стекает мясной сок, слегка мутноватый	Влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, липкие, красно-коричневого цвета. Для замороженного мяса – с поверхности стекает мутный мясной сок
Консистенция – определяют надавливанием пальцем на поверхность и наблюдают за скоростью восстановления ямки Определение проводят при	На разрезе мясо плотное, упругое; образующаяся при надавливании ямка быстро выравнивается	На разрезе мясо менее плотное и менее упругое; образующаяся при надавливании ямка выравнивается медленно (в течение 1 мин.), жир мягкий, у разморожен-	На разрезе мясо дряблое; образующаяся при надавливании пальцем ямка не выравнивается, жир мягкий, у разморожен-

температуре мяса 15-20 градусов.		рожденного мяса слегка разрыхлен	ного мяса рыхлый, осадившийся
Запах - определяют на поверхности в глубже лежащих слоях, обращая на запах мышечной ткани, прилегающей к кости. Определяют запах при температуре 15-20 градусов.	Специфический, свойственный каждому виду мяса	Слегка кислотаватый ил с оттенком затхло-сти	Кислый или затхлый или слабо гни-лостный
Состояние жира	Говяжий – цвет белый, желтоватый или желтый, консистенция твердая, при раздавливании крошиться; свиной – цвет белый или светло-розовый, он мягкий эластичный; баранина – цвет белый, консистенция плотная. Жир не должен иметь запаха осаливания или прогоркания.	Оттенок серо-вато-матовый, слегка липнет к пальцам может меть легкий запах осаливания	Имеет серо-вато-матовый оттенок, при раздавливании мажется. Свиной жир может быть покрыт небольшим количеством плесени. Запах прогорк-лый
Состояние су-	Сухожилия упру-	Сухожилия ме-	Сухожилия

хожилий - определяю ощупыванием	гие, плотные, поверхность суставов гладкая, блестящая. У размороженного мяса они мягкие, рыхлые, окрашены в ярко-красный цвет	нее плотные, матово-белового цвета. Суставные поверхности покрыты слизью.	размягчены, сероватого цвета. Суставные поверхности покрыты слизью.
Состояние костного мозга	Упругий, белого, желтоватого цвета, заполняет полость трубчатой кости, на изломе блестящий, не отстает от стенок кости.	Отстает от стенок трубчатой кости, матово-белого или серого цвета, на изломе без блеска.	консистенция мягкая, мажущаяся, цвет грязно-серый.
Проба варкой Методика: мясо измельчить и растереть в ступке, поместить в коническую колбу, добавить воды в соотношении 1:3 и довести до кипения.	Бульон прозрачный, ароматный	Бульон мутноватый, без аромата	бульон мутный, с хлопьями, затхлый или слабо гнилостный запах.

**Бактериоскопия.** Для бактериоскопического исследования пробы мяса берут из поверхностных и глубоких слоев туши. Определяют количество и качественный состав микроорганизмов и интенсивность окраски препаратов.

Чтобы иметь правильное представление о микробном загрязнении мяса, необходимо просматривать несколько полей зрения, так как микробы в мясе распределяются неравномерно.

Из каждой пробы делают на предметных стеклах по два мазка-отпечатка - один из поверхностного, другой из глубокого слоя мяса. Из поверхностного слоя стерильными ножницами вырезают кусочек мяса в 0,5 ... 1 г и прикладывают срезанной поверхностью к предварительно профламбированному предметному стеклу. При приготовлении препарата из глубоких слоев поверхность мяса сначала прижигают нагретым шпателем, а затем стерильным скальпелем делают разрез и вырезают из глубины небольшой кусочек мяса, который прикладывают к профламбированному предметному стеклу. Мазки-отпечатки подсушивают на воздухе, фиксируют трехкратным проведением над пламенем горелки, окрашивают по Граму и микроскопируют.

Просматривают не менее пяти полей зрения, причем в каждом поле подсчитывают отдельно количество кокковых и палочкообразных микроорганизмов и выводят среднее арифметическое количество микроорганизмов в одном поле зрения.

Препарат из *свежего мяса* окрашивается плохо. В препарате, приготовленном из поверхностного слоя мяса, встречается небольшое количество кокков или палочек (до 20); в препаратах из глубоких слоев могут быть единичные микробы или вообще отсутствовать. На стекле незаметно остатков разложившейся ткани мяса.

Препарат из *мяса подозрительной свежести* после окраски ясно заметен, видны следы распавшихся тканей. В препарате, приготовленном из поверхностных слоев, обнаруживают 20 ... 30, а из глубоких до 20 микробов.

Препарат из *несвежего мяса* окрашивается интенсивно, заметны частички распавшихся тканей. В мазке, сделанном как из поверхностных, так и из глубоких слоев, находят более 30 микробов, преимущественно палочки.

**Определение продуктов первичного распада белков в бульоне.** При хранении и порче мяса, в нем накапливаются первичные продукты распада белка - пептиды и полипептиды, которые при взаимодействии с серноокислой медью образуют комплекс, выпадающий в осадок. Метод основан на осаждении белков нагреванием.

Используют бульон, приготовленный для определения его прозрачности и аромата. Горячий бульон фильтруют через плот-

ный слой ваты толщиной не менее 0,5 см в *пробирку*, помещенную в стакан с холодной водой. Если после фильтрации в бульоне остаются хлопья белка, бульон дополнительно фильтруют через фильтровальную бумагу. В пробирку наливают 2 мл фильтрата и добавляют 3 капли 5%-ного раствора сернокислой меди. Пробирку встряхивают 2 ... 3 раза и ставят в штатив. Через 5 минут записывают результаты анализа.

Мясо считают *свежим*, если при добавлении раствора сернокислой меди бульон остается прозрачным.

Мясо считают *сомнительной свежести*, если при добавлении раствора сернокислой меди бульон мутнеет.

Мясо считают *несвежим*, если при добавлении раствора сернокислой меди в бульоне выпадает желеобразный осадок, а в бульоне из размороженного мяса - крупные хлопья.

При расхождении результатов органолептического и химического или микроскопического анализа проводят повторный химический анализ на вновь отобранных образцах от исследуемой туши или ее части. Эти результаты анализа являются окончательными.

**Метод определения аминокислотного азота в мг на 10 мл вытяжки.** Характерным и постоянным признаком порчи мяса является накопление в нем свободных аминокислот и аммиака. Определяют аминокислотный азот по методике А.М.Софронова. Их суммарное количество является наиболее точным показателем свежести мяса.

В колбу наливают 10 мл профильтрованной вытяжки, приготовленной в соотношении мяса к воде 1 : 4. Приливают 40 мл дистиллированной воды и три капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Вытяжку нейтрализуют 0,1 н. раствором едкого натра до слабо-розовой окраски. Затем в колбу добавляют 10 мл формалина, нейтрализованного по фенолфталеину, и содержимое колбы титруют 0,1 н. раствором едкого натра до слабо-розового цвета.

Расчет содержания аминокислотного азота, титруемого по фенолфталеину, в 10 мл вытяжки (X, мг) проводят по формуле:

$$X = 1,4 \times Y ,$$

где Y - количество мл 0,1 н. едкого натра, пошедшее на второе титрование.

В *свежем мясе* содержится до 1,26 мг аминоаммиачного азота, то есть не выше 80 мг % (в мясе кроликов от 0,98 до 1,82 мг);

в *мясе сомнительной свежести* - от 1,27 до 1,68 мг или от 81 до 130 мг % (для мяса кроликов от 1,90 до 2,5 мг);

в *несвежем мясе* - более 1,68 мг или более 130 мг % (для мяса кроликов - более 2,5 мг).

Более объективным является **стандартный (арбитражный) метод**, в который входят:

- сенсорные исследования (органолептические)
- бактериоскопия
- определение первичных продуктов распада с сернокислой медью
- определение аминоаммиачного азота
- количественное определение летучих жирных кислот.

Арбитражный (стандартный) метод применяется при исследовании туш, доставленных большими партиями и при ветсанэкспертизе туш промысловых животных.

**Определение летучих жирных кислот.** Летучие кислоты образуются при разложении мяса и аминоаммиачного азота. Метод основан на выщелении летучих кислот и определении их количества титрованием дистиллята гидроокисью калия.

В *свежем мясе* летучих жирных кислот до 4 мг гидроокиси калия;

в *мясе сомнительной свежести* - от 4,1 до 9 мг гидроокиси калия;

в *несвежем мясе* - свыше 9 мг гидроокиси калия.

Для получения наиболее полного результата с целью суждения о свежести мяса предусмотрено установление категории мяса по 25-балльной оценке. На органолептические показатели отводится 13 баллов, на лабораторные - 12. В зависимости от отклонений от показателей, характеризующих свежее мясо, проводят скидку баллов.

В зависимости от окончательной балльной оценки мясо относится к одной из следующих категорий:

Свежее - 21 ... 25 баллов

подозрительной свежести - 10 ... 20 баллов

несвежее - 0 ... 9 баллов.

### **Санитарная оценка мяса**

*Свежее мясо* используется в пищу людям без ограничений.

*Мясо сомнительной свежести* может быть использовано на корм зверям или добавлено в низкосортные сорта колбас в количестве не более 10 %.

*Несвежее мясо* направляется на техническую утилизацию.

### **Контрольные вопросы.**

1. Органолептические показатели свежего мяса.
2. Органолептические показатели мяса сомнительной свежести.
3. Органолептические показатели несвежего мяса.
4. Правила отбора проб.
5. Методика окраски по Граму.
6. Сущность метода определения продуктов первичного распада белка.
7. Санитарная оценка мяса различной степени свежести.

**Лабораторная работа №2** Санитарно-микробиологический контроль на предприятиях по переработке мяса

**Цель работы:** изучение видов и методов микробиологического контроля на предприятиях по переработке мяса.

Задачей санитарно-микробиологического контроля является максимально быстрое обнаружение микроорганизмов-вредителей, выявление путей их проникновения, возможности накопления на отдельных этапах технологического процесса и попадания в готовые изделия. Целью микробиологического контроля является предотвращение развития посторонней микрофлоры путем соблюдения санитарного режима и проведения профилактических мероприятий.

Микробиологический контроль на предприятиях по переработке мяса производится для определения санитарного качества сырья, полуфабрикатов и готовой продукции, выявления причин и источников загрязнения продуктов микроорганизмами в ходе тех-

нологического процесса. Он включает контроль сырья и готовой продукции, контроль условий производства и санитарного состояния оборудования.

Различают внутриведомственный и вневедомственный контроль. Внутриведомственный контроль выполняется микробиологом предприятия регулярно по графику. Вневедомственный контроль носит инспекционный характер и осуществляется 1 раз в год органами санэпиднадзора или центром стандартизации.

Санитарно-гигиенический контроль производится для выявления обсемененности микроорганизмами воздуха, воды, аппаратуры, тары, инвентаря, рук и спецодежды работников. Регулярно проводимое санитарно-бактериологическое обследование условий производства позволяет выявить источники микробного загрязнения продукции, оценить качество мойки и дезинфекции оборудования.

**Исследование микрофлоры воздуха.** Санитарную оценку воздуха помещений производят по следующим показателям: КМАФАнМ, количество санитарно-показательных микроорганизмов, количество спор плесневых грибов в  $1 \text{ м}^3$ .

Анализы микрофлоры воздуха выполняют седиментационным и аспирационным методами. Более доступным является метод седиментационный, основанный на самопроизвольном осаждении микробов из воздуха на поверхность плотных питательных сред в чашках Петри. Чашки с питательными средами помещают на путях движения воздуха, в местах со стоячим воздухом, вблизи выпуска продукции и оставляют открытыми в течение 5-10 мин. Затем их закрывают и помещают в термостат для инкубации, после чего подсчитывают число выросших колоний. Этот метод не дает точных данных о количестве микробов, но при регулярном применении позволяет оценить динамику санитарного состояния воздуха. Более точным является аспирационный метод анализа микрофлоры воздуха с использованием приборов Дьяконова, Кротова и др.

По ГОСТу в воздухе производственных помещений нормируется КМАФАнМ - не более 1500 КОЕ в  $1 \text{ м}^3$ ; количество гемолитических стрептококков - не более 16-ти, стафилококков - не более 20-ти; количество спор плесневых грибов - не более 10-ти клеток в  $1 \text{ м}^3$ .

Для определения КМАФАнМ используют чашки с мясо-пептонным агаром, которые инкубируют при температуре 30-32 °С в течение 72-х часов; для выявления плесневых грибов применяют сусло-агар или среду Сабуро с инкубацией при температуре 25-27 °С в течение 3-4 суток; гемолитические стрептококки и стафилококки определяют на кровяном агаре (МПА с добавлением 5 % цитратной крови), чашки термостатируют при температуре 37 °С и через сутки подсчитывают колонии с зонами гемолиза бесцветными или зеленого цвета.

При подсчете числа выросших колоний предполагают, что каждая колония выросла из одной осевшей клетки. В зависимости от числа колоний микроорганизмов санитарное состояние воздуха оценивают по четырехбалльной системе (отлично, хорошо, удовлетворительно, плохо). Можно произвести перерасчет количества колоний на объем воздуха по правилу Омелянского: «За пять минут на 100 см<sup>2</sup> поверхности оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха».

Содержание спор плесневых грибов определяют в воздухе холодильных камер до и после дезинфекции, а также в процессе хранения продукции. Если в одной чашке Петри вырастает не более 10-ти колоний, то санитарное состояние воздуха считают хорошим.

Определение санитарно-показательных микроорганизмов в воздухе (гемолитических стрептококков и стафилококков) позволяет косвенно оценить уровень загрязнения воздуха патогенными микроорганизмами, возбудителями воздушно-капельных инфекций. Значительное содержание этих микробов в воздухе указывает на плохую вентиляцию помещений. В этих условиях возможно распространение инфекционных заболеваний, заражение сырья и готовой продукции.

Исследования микрофлоры воздуха на предприятиях пищевой промышленности проводятся не реже 2-х раз в месяц.

**Исследование микрофлоры воды.** Анализ микрофлоры воды производят не реже 1 раза в квартал при наличии централизованного водоснабжения. Пробы воды отбирают в стерильную посуду емкостью 0,5-1 л и закрывают стерильными пробками и бумажными колпачками. Вначале воду спускают в течение 10-ти ми-

нут, затем кран обжигают и набирают воду в количестве не менее 500 мл.

По ГОСТ 2874-73 питьевая вода должна соответствовать следующим микробиологическим показателям: КМАФАнМ - не более 100 КОЕ в 1 мл; коли-титр - не менее 300 мл; коли-индекс - не более 3-х. На мясоперерабатывающих предприятиях разрешается использовать воду, отвечающую требованиям ГОСТа для питьевой воды.

**Контроль санитарного состояния производства.** Контроль качества мойки и дезинфекции оборудования, тары, инвентаря, спецодежды и рук работающих производится не реже 1-го раза в 15 дней путем исследования смывов. В смывах определяют наличие кишечных палочек и в некоторых случаях общее количество бактерий. Смывы берут стерильными ватными или марлевыми тампонами на металлических стержнях.

Для обнаружения кишечных палочек применяют среду Кода, в которой смачивают тампон и протирают им объект. Оборудование с плоской поверхностью протирают тампоном на площади 25 см<sup>2</sup>, используя металлические трафареты в форме квадрата. Взятие смывов с оборудования, инвентаря, тары производят после их санитарной обработки (мойки, дезинфекции, пропаривания) перед началом работы.

Для взятия смывов с рук работников влажным тампоном протирают ладони, пальцы и околоногтевые участки обеих рук. Смывы с рук берут перед началом работы или во время работы.

После протирания объекта тампон помещают в ту же пробирку. Составляется список смывов, согласно которому нумеруют пробирки. Затем штатив со смывами отправляют в лабораторию.

В лаборатории смывы помещают в термостат с температурой 37 °С на 24 часа. Кишечные палочки размножаются в среде Кода, вызывают сбраживание лактозы с образованием кислоты, в результате чего изменяется цвет среды: она вместо зеленого цвета становится желтой. Среда Кода является накопительной средой для кишечных палочек, в ней содержится индикатор, который меняет цвет при накоплении кислоты. Затем производят идентификацию кишечных палочек на среде Эндо, на которой они образуют колонии характерного красного цвета с металлическим блеском. Нали-

чие кишечных палочек свидетельствует о фекальном загрязнении объекта, обусловленного некачественной санитарной обработкой, несоблюдением правил личной гигиены.

При выполнении анализов с целью определения общего количества бактерий на поверхности объекта смывы берут тампонами, смоченными в стерильной воде или физиологическом растворе. Из полученных смывов готовят разведения и делают посевы в чашки Петри на мясо-пептонный агар с последующей инкубацией и подсчетом выросших колоний. Санитарное состояние объекта считается удовлетворительным, если на  $1 \text{ см}^2$  поверхности обнаруживается не более 500 клеток бактерий. Смывы с упаковочных материалов, колбасных оболочек дополнительно исследуют на содержание плесневых грибов и дрожжей.

В тех случаях, когда в смывах выявляют кишечные палочки, высокую обсемененность бактериями или грибами, производят тщательную мойку и дезинфекцию с последующим микробиологическим исследованием объектов.

**Задание 1** Произвести исследование микрофлоры воздуха седиментационным методом, используя чашки Петри с разными питательными средами. Поместить чашки в термостат.

**Задание 2** Взять смывы с рук, инструментов, столов для определения кишечных палочек и поместить в термостат.

**Задание 3** Оценить результаты по исследованиям, выполненным студентами предыдущих групп.

**Задание 4** Составить протоколы исследований микрофлоры воздуха и смывов и оценить санитарное состояние объектов.

### **Контрольные вопросы**

1. Из каких составных частей состоит микробиологический контроль на предприятиях пищевой промышленности?
2. С какой целью осуществляют санитарно-гигиенический контроль?
3. По каким микробиологическим показателям оценивают санитарное состояние воздуха?

4. Назовите микробиологические показатели питьевой воды.
5. Каким образом берут смывы с оборудования, рук?
6. Какие микроорганизмы определяют в смывах?

### **Лабораторная работа №3 Организация и схема микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности**

**Цель работы:** Ознакомление с задачами и целями осуществления микробиологического контроля, микробиологическими критериями безопасности молочных продуктов, схемой микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности. Задачей микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности является определение различных микробиологических показателей.

#### **Группа показателей санитарного состояния**

Непосредственное выявление патогенных микроорганизмов (возбудителей пищевых инфекций) в пищевых продуктах невозможно из-за низкого их содержания в продукте по сравнению с содержанием сапрофитной микрофлоры.

Поэтому при санитарной оценке пищевых продуктов используют косвенные методы, позволяющие определить уровень загрязнения человека выделениями человека. Чем выше этот уровень, тем вероятнее попадание в объект патогенных микроорганизмов – возбудителей кишечных инфекций.

Санитарная оценка пищевых продуктов проводится по двум микробиологическим показателям: общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) и наличию бактерий группы кишечной палочки (БГКП).

*Общая бактериальная обсемененность (КМАФАнМ)* - количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г или 1 см<sup>3</sup> продукта.

Высокая бактериальная обсемененность пищевых продуктов свидетельствует о недостаточной термической обработке сырья,

недостаточно тщательной мойке и дезинфекции оборудования, неудовлетворительных условиях хранения и транспортировки продукции.

Общую бактериальную обсемененность определяют в молочных продуктах, в которых отсутствует технически полезная микрофлора (микрофлора заквасок). Для определения этого показателя используют универсальные питательные среды: мясопептонный агар (МПА) или среду для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

*Наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП)* наблюдается во всех молочных продуктах (за исключением стерилизованных). БГКП объединяют представителей нормальной микрофлоры кишечника человека и относятся к семейству Enterobacteriaceae родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*. БГКП выполняют функцию индикатора фекального загрязнения и относятся к санитарно-показательным микроорганизмам.

Выбор БГКП в качестве санитарно-показательных микроорганизмов для оценки санитарного состояния пищевых продуктов не случаен. Санитарно-показательные микроорганизмы должны отвечать следующим требованиям:

- Эти микроорганизмы должны являться представителями нормальной микрофлоры организма, в нем развиваться и размножаться;
- Они должны в больших количествах выделяться из организма;
- В окружающей среде они должны длительное время сохранять свою жизнеспособность, но не размножаться;
- Определение этих микроорганизмов должно осуществляться простыми методами.

В нормативных документах (государственных, отраслевых стандартах (ГОСТ, ОСТ), технических условиях, требованиях СанПиНа) обычно указывается количество продукта, в котором БГКП не допускаются. При высоком уровне загрязнения продукта БГКП возрастает вероятность нахождения в нем патогенных микроорганизмов – возбудителей кишечных инфекций (дизентерии, брюшно-го тифа, холеры и др.). Для определения БГКП применяют накопи-

тельную среду Кесслера, а идентификацию этих бактерий проводят с использованием дифференциально-диагностической среды Эндо.

## **2. Группа условно-показательных микроорганизмов.**

К этой группе относятся микроорганизмы – возбудители пищевых отравлений, таких как *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*.

В молочных продуктах, богатых белком (например, твороге, сыре) нормируется содержание коагулазоположительного золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) – возбудителя пищевой интоксикации. При определении золотистого стафилококка используют элективные питательные среды: молочно-солевой (МСА) или желточно-солевой (ЖСА) агар.

## **3. Группа патогенных микроорганизмов**

Из патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах определяют сальмонеллы. Проводят исследования на наличие сальмонелл органы Санэпиднадзора. Обычно, сальмонеллы не допускаются в 25 г (см<sup>3</sup>) продукта. Для определения сальмонелл используют накопительные питательные среды (селенитовую, Кауфмана, Мюллера) и дифференциально-диагностические среды (Плоскирева, Левина).

**4. Группа показателей микробиологической стабильности продукта.** К этой группе относятся микроскопические грибы и дрожжи, которые, как известно, являются возбудителями порчи продукта. Этот показатель нормируется в молочных продуктах с растительными добавками. Динамику роста грибов и дрожжей определяют при установлении сроков годности и режимов хранения новых видов продуктов.

Кроме вышеперечисленных микробиологических показателей для прогнозирования качества выпускаемой молочной продукции целесообразно определять отдельные группы микроорганизмов, которые относятся к представителям технически вредной микрофлоры (липолитические, протеолитические бактерии) и полезной микрофлоры (молочнокислые и др. бактерии)

### **Организация микробиологического контроля**

Микробиологический контроль осуществляется в лаборатории предприятия. При отсутствии микробиологической лаборатории на предприятии указанный контроль может осуществляться по хоздоговору с органами госсанэпиднадзора или лабораториями, аккредитованными для проведения микробиологических исследований.

Для проведения микробиологических исследований в лаборатории должен быть оборудован бокс, состоящий из двух помещений – собственно бокса и предбоксника. В боксе должны быть установлены бактерицидные лампы, количество которых определяют из расчета  $2,5 \text{ Вт/м}^2$ .

Кроме того в лаборатории должно иметься следующее оборудование: термостаты (для культивирования микроорганизмов при определенной температуре), автоклав (для стерилизации питательных сред, посуды, инструментов), сушильный шкаф или печь Пастера (для стерилизации посуды), микроскопы (для определения качественного состава микрофлоры). Лаборатории молочных заводов должны быть аккредитованы государственной санитарно-эпидемиологической службой на право проведения исследований, характеризующих гигиенические показатели безопасности выпускаемой продукции.

При организации микробиологического контроля руководствуются «Инструкцией по микробиологическому контролю производства на предприятиях молочной промышленности, утвержденной 28.12.87 Госагропромом СССР, а также санитарными правилами и нормами СанПиНа 2.3.4. 551-96, государственными, отраслевыми стандартами и техническими условиями на различные группы молочных продуктов.

#### ***Микробиологическому контролю подлежат:***

*Сырье* (например, сырое молоко), *полуфабрикаты* (например, закваски), *готовая продукция*. Такой контроль еще называют контролем технологического процесса. Он позволяет установить эффективность процесса пастеризации молока, выявить места инфи-

цирования на различных этапах технологического процесса производства молочных продуктов.

*Оборудование, трубопроводы, вспомогательные материалы, вода, воздух производственных помещений, тара, упаковочные материалы и др.* Микробиологический контроль этих объектов позволяет судить о санитарно-гигиеническом состоянии производства и соблюдении санитарных норм и правил личной гигиены работников производства.

Так, готовая продукция (молоко, сливки, кисломолочные напитки) должны контролироваться микробиологической лабораторией предприятия не реже 1 раза в 5 дней, сметана и творог – не реже 1 раза в 3 дня, качество санитарной обработки оборудования должно оцениваться по каждой единице оборудования не реже 1 раза в 10 дней. Чистоту рук работников следует контролировать не реже 3 раз в месяц.

В приложении 1 приведена схема организации микробиологического контроля на примере производства кисломолочных напитков.

### **Характеристика питательных сред, используемых для микробиологического исследования молочных продуктов**

Для микробиологического исследования молочных продуктов и проведения санитарно-бактериологического контроля условий производства используют *натуральные* (приготовленные из продуктов животного и растительного происхождения) *плотные и жидкие питательные среды*.

*Плотные питательные среды* готовятся из жидких путем внесения гелеобразующих веществ (агар-агара или желатина).

Агар-агар – полисахарид, не используемый микроорганизмами для питания. Получают его из морских водорослей. Плавится агар при температуре около 100<sup>0</sup>С и затвердевает при температуре около 40<sup>0</sup>С.

Плотные питательные среды используют для количественного учета микроорганизмов (каждая клетка вырастает на плотной среде в виде изолированной колонии). Путем посева молочных продуктов и их разведений на плотные питательные среды определяют КМАФАнМ, содержание золотистого стафилококка, микроскопических грибов и дрожжей, количество молочнокислых, гнилостных

бактерий, спор бактерий рода *Bacillus* и др. Содержание агар-агара в плотных питательных средах составляет около 2%.

Желатин – белок, который выделяют из костей и хрящей животных при их вываривании. Многие микроорганизмы, обладающие протеолитической активностью, могут гидролизовать желатин, а продукты гидролиза использовать в качестве источника питания. Способность разжижать среды с желатином является диагностическим признаком при идентификации микроорганизмов.

Питательные среды бывают *универсальные* (для культивирования микроорганизмов различных групп), *накопительные, элективные* (для накопления и выявления микроорганизмов определенных групп) и *дифференциально-диагностические* (для определения видовой принадлежности микроорганизмов).

В качестве универсальных питательных сред используют жидкие (например, мясопептонный бульон - МПБ) и плотные (например, мясопептонный агар (МПА) и среда Сабур).

Накопительные среды имеют жидкую консистенцию и используются для выявления микроорганизмов, содержание которых в продукте незначительное. Накопительные питательные среды используются для выявления наличия бактерий группы кишечной палочки -БГКП (среда Кесслера) и сальмонелл (среда Кауфмана, селенитовая среда). При наличии роста бактерий на накопительных питательных средах в дальнейшем, как правило, делается пересев на плотные дифференциально-диагностические питательные среды, которые используются для идентификации выросших на накопительных средах бактерий. Так, в качестве дифференциально-диагностической среды для идентификации БГКП используется среда Эндо.

Элективные (избирательные) питательные среды имеют плотную консистенцию. Примером элективной питательной среды может являться молочно-солевой агар, который используется для выявления в молочных продуктах золотистого стафилококка.

В заводских лабораториях для приготовления питательных сред обычно используют промышленно изготавливаемые сухие среды, которые представляют собой гигроскопические порошки, легко растворяющиеся в воде. Некоторые питательные среды готовят по

прописям из отдельных компонентов (молока, пептона, дрожжевого экстракта, питательных солей и т.д.).

После приготовления питательных сред их разливают в пробирки или колбы, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют в автоклаве. Наиболее часто автоклавирование ведется при избыточном давлении 0,1 Мпа и, следовательно, температуре 121<sup>0</sup>С в течение 15-30 мин. Некоторые питательные среды стерилизуют при более низком избыточном давлении или текучим паром (не создавая избыточного давления).

### Контрольные вопросы

1. Перечислить группы микробиологических критериев безопасности молочных продуктов.
2. Какие микробиологические показатели определяют для оценки качества молочных продуктов?
3. Что такое КМАФАнМ и в каких видах молочных продуктов определяется этот показатель?
4. Почему бактерии группы кишечной палочки выбраны в качестве санитарно-показательных для молочных продуктов?
5. Какие микроорганизмы из группы условно-патогенных микроорганизмов определяют в сыре, твороге?
6. Какие патогенные микроорганизмы определяют в молоке и молочных продуктах?
7. Какие микробиологические показатели определяют для оценки микробиологической стабильности продукта?
8. Кто осуществляет микробиологический контроль на предприятиях молочной промышленности?
9. Каким оборудованием и какой посудой должна быть оснащена микробиологическая лаборатория?
10. Перечислить объекты микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности.
11. С какой периодичностью осуществляется микробиологический контроль готовой продукции на предприятиях молочной промышленности?
12. Каким образом готовят посуду для проведения микробиологического анализа?

13. Для чего используются накопительные питательные среды?
14. Какие питательные среды используются для определения молочнокислых бактерий в молоке и молочных продуктах?
15. Как готовятся и для чего используются плотные питательные среды?
16. Назовите питательные среды, которые используются для определения микробиологических показателей в молоке и молочных продуктах.
17. Какие питательные среды используются для выявления и идентификации бактерий группы кишечной палочки.
18. Какие питательные среды являются элективными для коагулазоположительных стафилококков? Как они готовятся?

#### **Лабораторная работа №4** Методы контроля качества молока и молочных продуктов

**Цель работы:** ознакомиться с методами контроля качества молока и молочных продуктов. Научиться определять химический состав заготавливаемого молока и оценивать его качество путем сопоставления полученных показателей со стандартными.

**Материальное обеспечение:** сырье: молоко цельное; приборы и реактивы: центрифуга, водяная баня, сушильный шкаф, весы аналитические, ареометр, прибор для определения чистоты, титровальная установка, бюксы с марлевыми кружками, молочные жиरोмеры, пипетки на 1; 5; 10; 10,77; 20 см<sup>3</sup>, химические стаканы на 50 см<sup>3</sup>, пробирки стеклянные стерильные с пробками, мерные цилиндры на 250, 500 см<sup>3</sup>, фильтры, редуктазник, термометры; серная кислота (плотностью 1810 - 1820 кг/м<sup>3</sup>), изоамиловый спирт плотностью 811 - 813 кг/м<sup>3</sup>, 1 %-й раствор фенолфталеина, 0,1 н. раствор гидроксида натрия (или калия), 40 %-й раствор формальдегида, 4 %-й раствор хлорида кальция, 2,5 %-й раствор сернокислого кобальта, раствор резазурина.

**Контроль качества заготавливаемого молока-сырья** Поступившее на предприятие молоко должно соответствовать целому ряду требований, обеспечивающих получение из него доброкачественного в пищевом и санитарном отношении молочных продуктов. На молоко, заготавливаемое распространяются требования ГОСТа и Р52054-2003 г. Молоко должно получено от здоровых коров, должно быть цельным, свежим, соответствовать ветеринарным правилам. Молоко должно быть чистым, без посторонних привкусов и запахов. По внешнему виду консистенции молоко должно быть однородной жидкостью белого до светло-кремового цвета без осадка и хлопьев. Молоко быть не замороженным, плотностью не менее 1027 кг/м<sup>3</sup>. В зависимости от физико-химических и микробиологических показателей молоко подразделяют на сорта:

Таблица 1

Наименование показателя	Норма для молока, сорта		
	высший	первый	второй
Кислотность, °Т	16,00 – 18,00	16,00 – 18,00	16,00 – 21,00
Группа чистот, не ниже	I	I	II
Плотность, кг/м <sup>3</sup> , не менее	1028,0	1027,0	1027,0
Температура замерзания, °С	не выше минус 0,520		

Отбор проб и подготовка их к испытанию осуществляется по ГОСТу 13928 — 84. Органолептические показатели, температуру, плотность, чистоту, кислотность, массовую долю жира и эффективность термической обработки определяют в каждой партии молока. Массовую долю белка, содержание соматических клеток, бактериальную обсемененность, ингибирующие вещества определяют не реже одного раза в декаду.

**Задание 1** Нарисовать пооперационную схему теххимического и микробиологического контроля заготавливаемого молока.

**Задание 2** Исследовать образцы молока и провести оценку их качества в соответствии с ГОСТом 52054-2003.

**Определение чистоты молока (ГОСТ 8218 - 89)** Метод основан на определении механических примесей путем фильтрования определенного объема молока и сравнения загрязненного фильтра с эталоном для установления группы чистоты. Мерной кружкой отбирают 250 см<sup>3</sup> хорошо перемешанного молока (рекомендуется для ускорения фильтрования подогреть его до температуры 35...40 °С) и выливают в сосуд прибора. По окончании фильтрования молока фильтр помещают на лист бумаги, лучше пергаментной, и просушивают на воздухе, предохраняя от попадания пыли. В зависимости от количества на фильтре механической примеси молоко подразделяется на три группы по эталону: 1 - на фильтре отсутствуют частицы механической примеси, 2 - на фильтре имеются отдельные частицы механической примеси, 3 - на фильтре заметный осадок мелких или крупных частиц механической примеси (волоски, частицы сена, песка).

**Определение плотности молока (ГОСТ 3625 - 84)**

Измерение плотности молока производят специальным ареометром (лактоденсиметром), который имеет 2 шкалы. Верхняя шкала показывает температуру молока в °С, а нижняя плотность молока. Плотность натурального молока находится в пределах 1027 - 1031 кг / м<sup>3</sup>. Поскольку меняются третья и четвертая цифра после запятой, то принято цифры, составляемые ими, называть градусами ареометра, например, 27°А (лактоденсиметра). Температура при измерении молока должна быть 20 °С. Если она не соответствует этой величине, то вводится поправка на температуру, равная 0,2 °А на каждый градус. Поскольку при понижении температуры плотность молока возрастает, а при повышении наоборот понижается, то при температуре выше 20 °С поправку следует прибавлять к полученному результату, а при температуре ниже 20 °С - отнимать. Например: плотность молока при 25 °С составила 1028 кг/м<sup>3</sup>. Поправка на температуру составит  $(25 - 20) 0,2 = 1^\circ\text{А} = 0,001 \text{ кг/м}^3$ . Истинная плотность будет равна  $1028 + 0,001 = 1029 \text{ кг/м}^3$ . Если бы температура была 15 С, то поправка составила бы ту же величину, но в данном случае следовало бы вычесть  $(1028 - 0,001 =$

1027 кг/м<sup>3</sup>). Пробу объемом 0,25 или 0,50 дм<sup>3</sup> тщательно перемешивают и осторожно, во избежание образования пены переливают по стенке в сухой цилиндр, который следует держать в слегка наклонном положении. Цилиндр с исследуемой пробой устанавливают на ровной и горизонтальной поверхности. Сухой и чистый ареометр опускают медленно в исследуемую пробу, погружая его до тех пор, пока до предполагаемой отметки ареометрической шкалы не останется 3 - 4 мм, затем оставляют его в свободно плавающем состоянии. Ареометр не должен касаться стенок цилиндра. Отсчет показаний плотности и температуры проводят визуально со шкалы ареометра через 3 минуты после установления его в неподвижном положении. При отсчете показаний плотности глаз должен находиться на уровне мениска. Отсчет показаний проводят по верхнему краю мениска с точностью до 0,0005. Отсчет температуры с точностью до 0,5 °С.

**Определение кислотности молока (ГОСТ3624 - 92)** Кислотность свежего молока обуславливается наличием в нем белков, обладающих кислыми свойствами, кислых солей Na, Ca, Mg, K и углекислого газа. Кислотность молока определяется в градусах Тернера (°Т). Градусы Тернера являются условными единицами и соответствуют количеству мл 0,1 н раствора гидроксида натрия, необходимого для нейтрализации 100 мл молока до слабощелочной реакции с индикатором фенолфталеином.

В коническую колбу вместимостью 150 - 200 см<sup>3</sup>, отмеривают с помощью пипетки 10 см<sup>3</sup> молока, прибавляют 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и три капли раствора фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивают и титруют раствором гидроксида натрия (калия) до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего контрольному эталону окраски, не исчезающего в течение 1 мин. Для приготовления контрольного эталона окраски в такую же колбу вместимостью 150 - 200 см<sup>3</sup> отмеривают пипеткой 10 см<sup>3</sup> молока, 20 см<sup>3</sup> воды и 1 см<sup>3</sup> 2,5 %-го раствора сернокислого кобальта. Эталон пригоден для работы в течение одной смены. Кислотность молока в градусах Тернера равна объему водного раствора гидроксида натрия (калия), затраченному на нейтрализацию 10 см<sup>3</sup> молока, умноженному на 10.

### ***Определение массовой доли жира в молоке (ГОСТ 5867-90)***

Для определения массовой доли жира в молоке применяют метод Гербера. Определение производят с помощью жироскопа. Сущность метода заключается в растворении белков молока серной кислотой, в результате чего жировые шарики теряют свою оболочку и объединяются в единый жировой слой и количество жира легко измерить с помощью шкалы жироскопа. Для ускорения отделения жира от плазмы добавляют изоамиловый спирт, который понижает поверхностное натяжение жировых шариков и способствует их слиянию. В чистый молочный жироскоп, стараясь не смочить горлышко, наливают специальным дозатором 10 см<sup>3</sup> серной кислоты (плотностью 1810 - 1820 кг/м<sup>3</sup>) и осторожно, чтобы жидкости не смешивались, добавляют пипеткой 10,77 см<sup>3</sup> молока, приложив кончик пипетки к стенке горлышка жироскопа под углом (уровень молока в пипетке устанавливают по нижней точке мениска). Молоко из пипетки должно вытекать медленно и после опорожнения пипетку отнимают от горлышка жироскопа не ранее чем через 3 с. Выдувание молока из пипетки не допускается. Затем в жироскоп добавляют специальным дозатором 1 см<sup>3</sup> изоамилового спирта. Жироскоп закрывают сухой пробкой, вводя ее немного более чем на половину в горлышко жироскопа, затем жироскоп встряхивают до полного растворения белковых веществ, перевертывая 4-5 раз так, чтобы жидкости в нем полностью перемешались, после чего жироскоп ставят пробкой вниз на 5 мин в водяную баню с температурой  $(65 \pm 2)$  °С. Вынув из бани, жироскопы вставляют в патроны (стаканы) центрифуги рабочей частью к центру, располагая их симметрично, один против другого. При нечетном заполнении жироскопов центрифугу помещают жироскоп, наполненный водой. Закрыв крышку центрифуги, жироскопы центрифугируют 5 минут со скоростью вращения не менее 1000 с / мин. Затем каждый жироскоп вынимают из центрифуги и движением резиновой пробки регулируют столбик жира в жироскопе так, чтобы он находился в трубке со шкалой. Жироскопы погружают пробками вниз в водяную баню. Уровень воды в бане должен быть несколько выше уровня жира в жироскопе. Температура воды в бане должна быть  $(65+2)$  °С. Через 5 мин жироскопы вынимают из водяной бани и быстро производят отсчет

жира. При отсчете жиромер держат вертикально, граница жира должна находиться на уровне глаз. Движением пробки вверх и вниз устанавливают нижнюю границу столбика жира на целом делении шкалы жиромера и от него отсчитывают число делений до нижней точки мениска столбика жира. Граница раздела жира и кислоты должна быть резкой, а столбик жира прозрачным. При наличии кольца (пробки) буроватого или темно-желтого цвета, а также различных примесей в жировом столбике анализ проводят повторно. Показания жиромера соответствуют массовой доли жира в молоке в процентах. Объем 10 малых делений шкалы молочного жиромера соответствует 1 % жира в продукте. Отсчет жира производят с точностью до одного маленького деления жиромера. Расхождения между параллельными определениями не должна превышать 0,1 % жира.

***Определение сухого вещества в молоке и кисломолочных напитках (ГОСТ 3626 -71)***

Сухим остатком молока (С) называется сумма всех компонентов молока, которые остаются после высушивания его до постоянного веса. Основу сухого остатка составляют молочный сахар, жир, белок и минеральные соли. Различают также сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО), который представляет собой сухой остаток молока за вычетом жира (Ж):  $СОМО = С - Ж$ ,

Существует несколько методов определения сухого остатка молока: арбитражный, ускоренный, расчетный.

***Ускоренный метод определения сухого вещества*** В металлическую бюксу на дно укладывают два кружка марли, высушивают с открытой крышкой при 105 °С 20 - 30 мин и, закрыв крышкой, охлаждают в эксикаторе в течение 20-30 мин, затем взвешивают. В подготовленную бюксу пипеткой вносят 3 см<sup>3</sup> исследуемого продукта равномерно распределяя его по всей поверхности марли и закрыв крышкой, взвешивают. Затем открытую бюксу и крышку помещают в сушильный шкаф при 105 °С на 60 мин, после чего бюксу закрывают, охлаждают и взвешивают. Высушивание и взвешивание продолжают через 20-30 мин до получения разницы в массе между двумя последовательными взвешиваниями не более 0,001 г. Сухой остаток на поверхности марлевого кружка должен

иметь равномерный светло-желтый цвет. Массовую долю сухого вещества ( С ) в процентах вычисляют по формуле :

$$C = (m_1 - m_0) \cdot 100 / (m - m_0)$$

где  $m_0$  - масса бюксы с марлевым кружком, г;  $m$  - масса бюксы с марлевым кружком и исследуемой пробой молока до высушивания, г  $m_1$  - масса бюксы с марлевым кружком и исследуемой пробой молока после высушивания, г. Массовую долю сухих веществ можно рассчитать по формуле:

$$C = [(4,9 Ж + Д / 4) ] + 0,5$$

где Ж - массовая доля жира, % Д-плотность молока, °А.

**Определение массовой доли белка в молоке (методом формольного титрования)** Метод основан на свойстве нейтрального водного раствора аминогрупп белков в присутствии нейтрального формальдегида повышать кислотность с образованием соединений, которые оттитровываются щелочью. Метод применим только для определения белка в свежем молоке кислотностью не выше 22 °Т. В колбу на 50-100 см<sup>3</sup> отмерить пипеткой 10 см<sup>3</sup> молока, добавить 10 капель 1%-го спиртового раствора фенолфталеина все перемешать и оттитровать 0,1 н. раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Затем в колбу добавить 2 см<sup>3</sup> нейтрализованного формалина, перемешать. В бюретке титровальной установки отметить уровень щелочи и содержимое колбы вновь оттитровать до такого же слабо-розового окрашивания, как и в первый раз. Для установления содержания общего белка количество 0,1 н. раствора щелочи, пошедшее на титрование, после добавления формалина умножить на коэффициент 1,94; а для определения содержания казеина на коэффициент 1,51.

### **Определение бактериальной обсемененности молока (ГОСТ 9225- 84)**

Метод основан на восстановлении резазурина окислительно восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. По продолжительности изменения окраски резазурина оценивают бактериальную обсемененность сырого молока. В пробирку наливают по 1 см<sup>3</sup> рабочего раствора резазурина и по 10 см<sup>3</sup> исследуемого молока, закрывают резиновыми пробками и смеси-

вают путем медленного трехкратного перевертывания пробирок. Пробирки помещают в редуктазник с температурой воды ( $37 \pm 1$ ) °С. Вода в редуктазнике после по-гружения пробирок с молоком должна доходить до уровня жидкости в пробирке или быть немно-го выше, ее поддерживают в течение всего времени определения ( $37 \pm 1$ ) °С. Пробирки с молоком и резазурином на протяжении анализа должны быть защищены от света прямых солнечных лучей (редуктазник должен плотно закрыт крышкой). Время погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа. Показания сни-мают через 20 мин и 1ч, после снятия показаний через 20 мин про-бирки с обесцвеченным молоком удаляют из редуктазника. Появ-ление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывают. По истечении 1 часа оставшиеся пробирки вынимают из редуктазника, осторожно переворачивают. В зависимости от продолжительности обесцвечивания или изменения цвета молоко относят к одному из четырех классов, указанных в таблице 2.

Результаты анализов занести в таблицу и сделать вывод о качестве молока

Таблица 2

Наименование показателя		Молоко		
		1 образец	2 образец	3 образец
Массовая доля сухих веществ, %				
Массовая доля белка, %				
Массовая доля жира, %				
Кислотность, °Т				
Плотность, кг/м <sup>3</sup> ; °А				
Степень чистоты, группа, не ниже				
Бактериальная обсемененность, тыс., класс.				
Сорт молока				
	молока	изменения цвета		бактерий в 1 см <sup>3</sup> молока
1	Хорошее	Через 1 ч	Серо-сиреневая до сиреневой со	До 500 тыс.
2	Удовлетво- рительное	То же	Сиреневая с розовым оттенком или ярко-розовая	От 500 тыс. до 4 млн.
3	Плохое	То же	Бледно-розовая	От 4 млн. до 20
4	Очень	Через	белая	От 20 млн. и

### **Контрольные вопросы**

1. Химический состав молока и факторы, влияющие на него.
2. Физические свойства молока.
3. Методы определения чистоты, плотности, кислотности молока, массовой доли жира, белка, сухих веществ, бактериальной обсемененности.
4. Требования, предъявляемые к молоку, как сырью для молочной промышленности.
5. Правила приемки молока на заводах и оценка его качества.
6. Порядок контроля заготавливаемого молока.
7. Пороки молока и пути их предупреждения.

### **Лабораторное занятие №9 Бактериологический контроль качества заквасок, применяемых при изготовлении молочных продуктов.**

**Цель:** Ознакомиться с методами микробиологического контроля качества заквасок.

#### **План**

1. Требования к молоку, используемому для производства заквасок.
2. Приготовление и применение заквасок.
3. Пороки заквасок.

#### **Вопросы для обсуждения и изучения**

1. Классификация заквасок.
2. Принципы подбора культур в состав заквасок.
3. Микробиологический контроль качества заквасок.

#### **Задания:**

##### **Общие:**

1. Познакомиться с методикой микробиологического контроля качества заквасок.

##### **Индивидуальные:**

1. Приготовить мазки из закваски, окрасить их по Граму, зарисовать микрокартину, сделать заключение.
3. Определить наличие диацетина и ацетоина в закваске.
4. Определить наличие углекислого газа в закваске.

5. Сделать посе́вы закваски в пробирки со средой Кесслера, в стерильное обезжиренное молоко с добавлением парафина и без парафина. Поместить посе́вы в термостат.

### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы**

На предприятиях молочной промышленности применяют чистые культуры бактерий, выпускаемые в виде жидких и сухих заквасок, а также бактериальных концентратов. Жидкие закваски - это чистые культуры молочнокислых бактерий, выращенных в стерильном молоке.

Преимущество этих заквасок - активное состояние микрофлоры и чистота, а недостаток - незначительный срок практической годности (до 2-х недель при температуре 4-6°C).

Сухие закваски - это чистые культуры молочнокислых бактерий, выращенные в стерильном молоке, которые после сквашивания подвергаются обезвоживанию.

Известны следующие способы приготовления сухих заквасок:

1) высушивание культур в сушильном шкафу при 35-40°C в течение 1-2 ч.

2) высушивание на распылительной сушке при температуре поступающего воздуха 130-140°C (температура в зоне распыления 48-50°C). Недостаток - длительное нахождение микрофлоры закваски при высокой температуре приводит к частичной потере ее активности.

3) высушивание методом сублимации - удаление влаги из клеток, находящихся в замороженном состоянии при высоком вакууме. Эта закваска наиболее активна, в 1 г содержится миллиарды бактерий. Срок годности сухих заквасок 3 месяца.

Микробиологический контроль качества заквасок включает:

1) проверку её активности (время сквашивания молока).

2) содержание диацетина и ацетоина.

3) наличие углекислого газа.

4) определение наличия посторонней микрофлоры бактериологическим методом:

а) кишечной палочки,

б) маслянокислых бактерий (анаэробов).

в) аэробных спорообразующих микроорганизмов.

5) определение наличия посторонней бактериальной флоры в микроскопическом препарате.

1. Определение активности закваски.

Активность закваски определяется по времени свертывания пастеризованного или кипяченого молока при внесении 5% жидкой закваски или 0,1 г сухой закваски на 200 мл молока. Для закваски молочнокислых стрептококков свертыванию молока должно быть не более 7 часов, для закваски молочнокислых палочек не более 6 часов.

2. Содержание диацетила и ацетоина.

Закваски, в которых присутствуют ароматообразующие стрептококки, контролируют на содержание диацетила и ацетоина. Закваску фильтруют через бумажный фильтр и 3 капли фильтрата смешивают с 3 каплями 40% водного раствора КОН. Если в закваске имеются значительное количество ацетона и диацетила, то через 10-15 минут появится ярко-розовое окрашивание.

3. Наличие углекислого газа в закваске.

Производственную закваску хорошо перемешивают и 20 мл наливают в пробирки диаметром 15 мм, которые помещают в кружку с холодной водой. Воду в кружке нагревают до 90°C и, не вынимая пробирки из воды, отмечают уровень поднятия сгустка.

Если закваска содержит углекислый газ, что свидетельствует о присутствии ароматообразующих стрептококков, то сгусток становится губчатым и приподнимается над сывороткой на 0,6-3 мм и более. При отсутствии углекислого газа он совсем не поднимается, либо поднимается незначительно на 0,3-0,5 мм и не имеет явно выраженной губчатости.

4. Бактериологическое исследование.

1) Кишечная палочка учитывается высевом 3 мл закваски в среду Кесслера. Присутствие кишечной палочки в 3 мл закваски не допускается.

2) Споровые маслянокислые бактерии (анаэробы) выявляются посевом в стерильное обезжиренное молоко с добавлением парафина.

3) Споровые аэробные микроорганизмы выявляют посевом в стерильное обезжиренное молоко без парафина. После посева пробирки помещают в водяную баню при температуре 85°C и выдер-

живают в ней Юмин. Затем пробирки охлаждают и помещают в термостат, при 30°C на двое суток.

#### 5. Микроскопическое исследование.

При микроскопировании препарата из закваски в 10 полях зрения должны быть видны:

1) В закваске для сливочного масла, сметаны, творога, простокваши и сыров с низкой температурой второго нагревания - только молочнокислые стрептококки (цепочки, диплококки).

2) В закваске для ряженки, варенца - молочнокислые стрептококки в виде диплококков и цепочек, и в небольшом количестве палочки.

3) В закваске для южной простокваши, йогурта молочнокислые стрептококки и палочки.

4) В закваске для ацидофильного молока и ацидофильной пасты только ацидофильные палочки.

5) В закваске кефирно-грибковой - молочнокислые стрептококки дрожжи, палочки, в производственной преобладают молочнокислые стрептококки, единичные дрожжи и палочки.

#### **Глоссарий**

1. Кокки – бактерии сферической формы, которые в зависимости от плоскостей деления и расположения в препарате могут делиться на несколько групп.

2. Термофильные молочнокислые бактерии – бактерии, развивающиеся при  $T = 40-45^{\circ}\text{C}$ . При сбраживании сахаров образуют до 3,5% молочной кислоты. Молоко свертывают в течение 6-12 ч.

3. Мезофильные молочнокислые бактерии развиваются при температуре 30°C и располагаются цепочкой, они образуют меньше продуктов жизнедеятельности, кислотность продукта не превышает 180°C.

4. Гетероферментативные молочнокислые бактерии встречаются на растениях, сбраживают сахара с образованием большого количества спирта и углекислого газа.

5. Брожение – анаэробный окислительно-восстановительный процесс, вызываемый как живыми клетками микроорганизмов, так и выделяемыми ими ферментами.

6. Молочнокислые стрептококки – типичный представитель молочнокислого брожения, находиться почти во всех молочных продуктах.

7. Ацидофильная палочка – постоянный обитатель желудочно-кишечного тракта молодняка с/х-ных животных, откуда она и выделяется.

8. Пропионовокислое брожение – сходно с молочнокислым брожением. Вызываются пропионово-кислыми бактериями, которые находятся в молоке, молочных продуктах и почве. Они легко сбраживают молоко. Широко используют в сыроделии

9. Маслянокислое брожение – образуется масляная кислота – летучая жидкость с неприятным запахом. Возбудители его являются фиксаторами атмосферного азота.

### **Список литературы**

1. Асонов Н.Р. Микробиология. – М.: Колос, 2001.
2. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Санитарные требования и нормы СанПиН 2.3.2.562-96. - М., 1997.
3. Молоко и молочные продукты (микробиологический анализ) ГОСТ 9225-84.
4. Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов. – М., 2002.

### **Список рекомендованной литературы**

1. Мудрецова-Висс, Клавдия Алексеевна. Микробиология, санитария и гигиена [Текст]: учебник / К. А. Мудрецова-Висс, В. П. Делюхина. - Москва: Форум, 2014. - 400 с.
2. Манеева, Э. Технохимический контроль продуктов специального назначения [Электронный ресурс]: учебное пособие / Э. Манеева, Т. Крахмалева; Министерство образования и науки Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет». - Оренбург: ОГУ,

2012. - Ч. Часть 1. Продукты детского питания. Лабораторный практикум. - 152 с.: - Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
3. Сидоров, Ю. Д. Технохимический контроль пищевых производств [Электронный ресурс]: лабораторный практикум / Ю.Д. Сидоров, Д.З. Давлетбаева, М. А. Поливанов; Федеральное агентство по образованию, ГОУ ВПО Казанский государственный технологический университет. - Казань: КГТУ, 2008. - 135 с.: - ISBN 978-5-7882-0714-8 - Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
4. Черняева, Л. А. Основы микробиологического контроля производства пищевых продуктов [Электронный ресурс]: учебное пособие / Л. А. Черняева, О. С. Корнеева, Т. В. Свиридова; Министерство образования и науки РФ, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»; науч. ред. О. С. Корнеева. - Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2013. - 136 с.: - ISBN 978-5-00032-020-4 - Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
5. Петухова, Е. В. Пищевая микробиология [Электронный ресурс]: учебное пособие / Е. В. Петухова, А. Ю. Крыницкая, З. А. Канарская; Министерство образования и науки России, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет». - Казань: Издательство КНИТУ, 2014. - 117 с.: - ISBN 978-5-7882-1594-5- Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
6. Санитарная микробиология [Электронный ресурс]: учебное пособие / Н. А. Ожередова, А. Ф. Дмитриев, В. Ю. Морозов и др.; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Ставропольский государственный аграрный университет. - Ставрополь: Агрус, 2014. - 180 с.: - ISBN 978-5-9596-0993-1- Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
7. Технохимический контроль и управление качеством мяса и мясопродуктов [Электронный ресурс]: учебное пособие / Р. Э. Хабибуллин, Х. Р. Хусаинова, Г. О. Ежкова и др.; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет». - Казань: Издатель-

ство КНИТУ, 2008. - 165 с.: - ISBN 978-5-7882-0546-5 - Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>

8. Бубнова В.С. и др. Новый эпифлуоресцентный метод определения свежести мяса // Мясная индустрия. - 2000.-№6. - С. 38.

9. ГОСТ 7269-79 Мясо (Отбор проб и органолептические методы определения свежести).

10. ГОСТ 23392-78 Мясо (Химический и микроскопический анализ свежести).

11. Костенко Ю.Г. и др. Руководство по ветеринарно-санитарной экспертизе и гигиене производства мяса и мясных продуктов. РИФ «Антика» Москва – 1994.

12. Макаров В.А. и др. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства. – М.: Агропромиздат, 1991.

13. Практикум по ВСЭ с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства, Под ред. Макарова В.А.-М.: Агропромиздат, 1991.

14. Санитарные правила и нормы. Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности, показатели пищевой ценности. СанПиН 2.3.2. 1078-0-Москва, 2005.

15. Нецепляев С.В., Панкратов А.Я. Лабораторный практикум по микробиологии пищевых продуктов животного происхождения. - М.: ВО «Агропромиздат», 1990. - 172 с.

16. Сидоров М.А., Билетова Н.К., Корнелаева Р.П. Микробиология мяса, мясных производств и птицепродуктов. - М.: Агропромиздат, 1986. - 288 с.