

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна

Должность: проректор по учебной работе

Дата подписания: 30.10.2023 10:31:03

Уникальный программный ключ:

0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d088

## МИНОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИИ

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

Кафедра товароведения, технологии и экспертизы товаров

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

О.Г. Локтионова

« 14 » 2022 г.



### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ ПОЛУФАБРИКАТОВ И ГОТОВЫХ ИЗДЕЛИЙ

Методические указания по выполнению практических работ для студентов направления 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья»

Курск 2022

УДК: 540

Составитель: А.Г. Беляев

### Рецензент

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

**Контроль качество сырья, полуфабрикатов и готовых изделий:**  
методические указания по выполнению практических работ / Юго-  
Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев. Курск, 2022. 46 с.: Библиогр.: с.46

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

Предназначены для студентов направления подготовки 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья» очной, заочной и сокращенной форм обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать                      Формат 60x84 1/16.  
Усл. печ. л. 2,67    Уч.-изд. л. 2,42    Тираж 50 экз. Заказ.                      Бесплатно.  
Юго-Западный государственный университет.  
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

## СОДЕРЖАНИЕ

|   |    |
|---|----|
| Введение  | 4  |
| Практическая работа №1 Организация и схема микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности                              | 7  |
| Практическая работа №2 Гигиена воды и водоснабжения на предприятиях пищевой промышленности  | 16 |
| Практическая работа №3 Санитарно-гигиенический контроль на предприятиях отрасли   | 18 |
| Практическая работа №4 Микробиологическое исследование продуктов питания (занятие 1)  | 26 |
| Практическая работа №5 Микробиологическое исследование продуктов питания (занятие 2)  | 34 |
| Практическая работа №6 Санитарно-бактериологическое исследование воздуха  | 37 |
| Практическая работа №7 Определение спорообразующих бактерий в муке методом пробных выпечек  | 39 |
| Практическая работа №8 Технологические способы снижения содержания микробиологических загрязнителей при производстве хлеба и их обнаружение | 44 |
| Практическая работа №9 Санитарно-эпидемиологический и гигиенический контроль токсических элементов и пищевых добавок в продуктах питания    | 46 |
| Список рекомендуемой литературы   | 54 |

## **ВВЕДЕНИЕ**

Методические указания к выполнению лабораторных работ предназначены для студентов направления для студентов направления подготовки 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья» 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, приобрести теоретические и практические знания по вопросам физиологии и биохимии питания.

Студенты должны ознакомиться с содержанием (теоретической частью) и порядком выполнения лабораторной работы.

Каждое занятие содержит цель его выполнения, контрольные вопросы, краткие теоретические сведения, задания для выполнения. При выполнении работ основным методом обучения является самостоятельная работа студентов под руководством преподавателя. Результаты выполненных каждым студентом заданий обсуждаются в конце занятий. Оценка преподавателем 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**

Перед выполнением работы необходимо внимательно ознакомиться с методикой её проведения и предположить ожидаемый результат, вытекающий из теоретического обоснования химизма реакции или процесса. Выполнение работ знакомит студента с методами качественных и количественных исследований сырья и готовой продукции, дополняет и закрепляет теоретический материал наиболее сложных разделов изучаемой дисциплины.

В начале раздела и перед работой излагаются краткие теоретические обоснования по химии, биологической роли и метаболиз-

му органических веществ. К каждой работе дано описание химической реакции или процесса, ожидаемый результат и практическое значение.

Выполняемую работу обязательно записать в тетрадь с указанием номера, названия, цели работы, принципа метода, происходящих реакций или процессов, схемы исследования и полученных результатов. По результатам работы произвести расчет или оформить полученные данные по предложенной схеме и сделать вывод.

1. Отчеты по каждой теме 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, выводы по результатам работ. 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.

## **Практическая работа №1 Организация и схема микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности**

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

**Цель занятия:** Ознакомление с задачами и целями осуществления микробиологического контроля, микробиологическими критериями безопасности молочных продуктов, схемой микробиологического контроля на предприятиях. Приобретение навыков приготовления питательных сред, посуды для проведения микробиологического анализа.

**Приборы и реактивы:** Автоклав, электрические плитки, питательные среды: МПА, среда Сабуро, среда Кесслера, молоко, панкреатин,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ , яичный желток.

**Посуда:** Чашки Петри, колбы на  $500 \text{ см}^3$ , пробирки, пипетки на  $1 \text{ см}^3$ , ватно-марлевые пробки, вата, пергаментная бумага.

### **Краткие теоретические сведения**

Задачей микробиологического контроля на предприятиях является определение различных микробиологических показателей.

### **Группы микробиологических критериев безопасности пищевых продуктов**

#### **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 со-

держанием 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, брюшного тифа, холеры и др.). Для определения БГКП применяют накопительную среду Кесслера, а идентификацию этих бактерий проводят с использованием дифференциально-диагностической среды Эндо.

**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.

### **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).

### **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 договору 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 СанПиН 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 инфицирования 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.

**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 про-

дуктов 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 *Vacillus* 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 сре-

ды, 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).

### **Порядок выполнения работы**

Студенты знакомятся со схемой микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности. Готовят посуду, питательные среды для проведения микробиологического анализа.

#### **Приготовление посуды для микробиологического анализа**

Для проведения микробиологического анализа используют чашки Петри, которые герметично упаковываются в пергаментную бумагу и стерилизуются. Пипетки на 1 см<sup>3</sup> закрывают ватными тампонами и также заворачивают в бумагу.

Стерилизация посуды осуществляется в автоклаве при избыточном давлении 0,1 Мпа в течение 30-40 минут или сухим жаром в сушильном шкафу или печи Пастера при 165-170<sup>0</sup>С в течение 1-1,5 часа.

Стерильную посуду следует хранить в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками в течение не более 30 суток.

### **Приготовление питательных сред из промышленно выпускаемых сухих сред**

Заключается в растворении определенного количества порошка в воде, доведении полученной смеси до кипения и кипячении в течение 5 минут. Далее (при необходимости) среда фильтруется через ватно-марлевый фильтр и разливается в пробирки или колбы, которые закрываются ватно-марлевыми пробками. Далее среды стерилизуют в автоклаве. С использованием сухих сред готовят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), среду Сабуро, среду Кесслера, среду для определения мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

### **Приготовление питательных сред из отдельных компонентов**

#### ***Среды для культивирования молочнокислых бактерий***

Обезжиренное молоко. Молоко отделяют от сливок, разливают в пробирки или колбы, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют в автоклаве при избыточном давлении 0,05 Мпа. Среду используют для изучения физиологических свойств и для группового количественного учета молочнокислых бактерий.

Эту среду используют также для получения лабораторной закваски из сухих и жидких заквасок и бактериальных концентратов.

Агар с гидролизованным молоком. Вначале готовят гидролизованное молоко путем гидролиза стерильного обезжиренного молока с помощью фермента панкреатина при 45<sup>0</sup>С в течение 3-х суток в присутствии хлороформа. Полученный гидролизат разводят водопроводной водой (в соотношении 1:2). Затем вносят 1,5-2% агара и 2-3% мела в виде тонкого порошка. Среду стерилизуют. Агар с гидролизованным молоком используют для количественного учета молочнокислых бактерий в молочных продуктах.

#### ***Среда для количественного учета гнилостных бактерий***

Молочный агар готовят путем внесения 20% горячего стерильного обезжиренного молока в стерильный расплавленный 2% вод-

ный раствор агар-агара. Используется эта среда для количественного учета протеолитических и пептонизирующих бактерий (микрококков, маммококков).

### ***Среды для выявления коагулазоположительных стафилококков***

**Основа** – солевой агар: к мясопептонному бульону с рН 7,2-7,4 добавляют 2%-ного агара и 6,5%-ного хлористого натрия, расплавляют на водяной бане, при необходимости фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают мерным цилиндром по 100 см<sup>3</sup> в колбы вместимостью 250 см<sup>3</sup> и стерилизуют при 121<sup>0</sup>С в течение 30 минут. Получают солевой агар. Вместо МПБ можно использовать сухой питательный агар, добавив к нему 6,5% хлористого натрия.

***Желточно-солевой агар.*** К расплавленному и охлажденному до 45<sup>0</sup>С солевому агару (основе) добавляют 20 см<sup>3</sup> эмульсии яичного желтка. После полного размешивания желточно-солевой агар разливают в стерильные чашки Петри по 20 см<sup>3</sup> и хранят в холодильнике 5-7 дней.

Для приготовления эмульсии яичного желтка на дно стерильной чашки Петри помещают куриное яйцо, которое тщательно протирают ватой, смоченной этиловым спиртом. Стерильным пинцетом пробивают с двух противоположных сторон два отверстия. Через одно из этих отверстий из яйца полностью удаляют белок, а затем, несколько увеличив отверстие, выливают желток в стерильную колбу вместимостью 200 см<sup>3</sup>. Желток добавляют в колбу с 4-мя объемами стерильного физиологического раствора, затем содержимое тщательно встряхивают до получения гомогенной массы.

***Молочно-солевой агар.*** К 100 см<sup>3</sup> расплавленного и охлажденного до 45<sup>0</sup>С солевого агара вносят 10 см<sup>3</sup> обезжиренного стерильного молока, тщательно размешивают и разливают тонким слоем в стерильные чашки Петри.

### **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 коагулозоположительных стафилококков? Как они готовятся?

## **Практическая работа №2 Гигиена воды и водоснабжения на предприятиях пищевой промышленности**

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

### **Санитарно-бактериологический анализ воды.**

**Цель работы:** приобретение навыков определения микробного числа и коли-титра воды.

#### **Общие сведения**

Для санитарно-бактериологической характеристики воды проводятся исследования микробного числа, коли-титра, коли-индекса воды и обнаружение в воде патогенных представителей кишечной группы микробов. Определение общей микробной обсемененности определяется количеством микроорганизмов, содержащихся в 1 мл воды. Результаты обнаружения кишечной палочки в воде регистрируются в виде коли-титра или коли-индекса.

#### **Практическая часть**

Приборы, реактивы, посуда пробирки, чашки Петри, питательный агар, термостат, мембранные фильтры №3, воронки, насос Комовского, среда Эндо, глюкозо-пептонная среда (среда Эйкмана).

#### **Методика выполнения работы**

В стерильные флаконы с пробкой, вместимостью 0,5 л отбирают водопроводную воду. Исследуемую воду разводят стерильной водой 1:10 и 1:100. Затем 1 мл каждого разведения стерильной пипеткой вносят в стерильные чашки Петри. В каждую чашку Петри вливают по 15 мл расплавленного и остуженного до 45°C МПА, равномерно распределяя содержимое по дну чашки Петри. Остывшие чашки переворачивают вверх дном и помещают в термостат на 24 часа при температуре 37 °С. Затем производят подсчет выросших колоний. Число выросших колоний соответствует количеству



микроорганизмов в засеянном объеме воды. Считают число колоний, выросших в каждой чашке, затем умножают на соответствующее разведение. Полученное число является показателем общей микробной обсемененности воды. Водопроводная вода должна иметь микробное число, не превышающее 100 в 1 мл.

Для определения титра кишечной палочки используют мембранные фильтры №3. Перед фильтрованием фильтры помещают в дистиллированную воду температуры 50-60° С и кипятят 2-3 раза по 10-15 минут с обязательной сменой воды. Обработанный фильтр помещают в воронку. Проводят фильтрацию с помощью насоса Комовского. Затем фильтр снимают стерильным пинцетом и накладывают на среду Эндо в чашке Петри. Чашки помещают в термостат на 24 часа, подсчитывают количество выросших колоний, типичных для кишечной палочки. Для идентификации выросших колоний с кишечной палочкой делают посев на глюкозо-пептонную среду (Эйкмана). При наличии характерного роста на этой среде (помутнение и газ) дают положительный ответ.

Оформление работы.

Написать отчет о проделанной работе.

### **Контрольные вопросы**

1. Дайте определение коли-титра и коли-индекса.
2. Какие существуют методы определения титра кишечной палочки?

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

### **Санитарно-гигиенический контроль на предприятиях отрасли**

**Цель:** Ознакомиться с методами дезинфекции рабочего места, контролем чистоты рук, Химическим контролем профилактической дезинфекции, бактериологическим контролем дезинфекции путем смыва с поверхностей.

**Теоретический материал.**

#### ***Организация санитарно-гигиенического контроля на предприятиях пищевой промышленности.***

Санитарно-гигиенический контроль условий производства на предприятиях пищевой промышленности осуществляется общегосударственной и ведомственными службами.

***Государственный санитарный надзор*** осуществляется санитарно-эпидемиологической службой (СЭС) в форме предупредительного (при проектировании и строительстве) и текущего надзора за выполнением установленных для предприятий молочной промышленности санитарно-гигиенических требований. Текущий контроль может быть плановый и внеплановый.

Органы и учреждения государственного санитарного надзора наделены широкими полномочиями. Распоряжения и указания представителей санитарной службы являются обязательными для администрации предприятия. Их невыполнение несет за собой административную ответственность руководителей предприятий, цехов и отделов, отдельных работников.

Принудительные административные меры применяются и при выявлении нарушений, представляющих непосредственную угрозу для здоровья людей. В таких случаях может быть установлен за-

прет на дальнейшую эксплуатацию предприятия (например, запрет на выпуск продукции).

При особо серьезных нарушениях, повлекших или могущих повлечь за собой возникновение пищевых заболеваний или другие вредные последствия, органы санитарного надзора могут привлечь виновных к уголовной ответственности.

***Внутриведомственный санитарный контроль*** осуществляют ведомственная санитарная служба и заводская лаборатория. Они контролируют выполнение требований СанПиНа для предприятий пищевой промышленности, регулярно следят за санитарным состоянием производства, за профилактическими обследованиями работников цехов и соблюдением ими правил личной гигиены. Результаты проведения санитарно-гигиенического контроля фиксируются в специальном журнале.

При отборе проб для микробиологических исследований представителями санитарно-эпидемиологической службы, микробиологи предприятия также проводят отбор проб и их исследование. В случаях систематических расхождений результатов, получаемых службой СЭС и ведомственными лабораториями, проводят по согласованию совместные исследования для уточнения методов анализа и интерпретации их результатов.

***Оценка санитарного состояния воздуха производственных помещений***

Воздух производственных помещений может стать источником микробного загрязнения молочных продуктов.

Санитарно-гигиеническая оценка воздуха производственных помещений проводится по двум микробиологическим показателям: общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) и содержанию санитарно-показательных микроорганизмов – гемолитических стрептококков и стафилококков. Воздух производственных помещений считается чистым, если КМАФАнМ не превышает 1500 КОЕ/м<sup>3</sup>, а гемолитических стрептококков и стафилококков не более 16 в 1 м<sup>3</sup>. В качестве питательных сред используют мясопеп-

тонный агар (для определения КМАФАнМ) и кровяной агар (для определения гемолитических стрептококков и стафилококков).

Для определения микроорганизмов в воздухе используют седиментационный и аспирационный методы.

*Седиментационный метод* основан на самопроизвольном оседании пылинок и капель вместе с микроорганизмами на поверхность плотной питательной среды в открытых чашках Петри.

*Аспирационный метод* заключается в принудительном оседании микроорганизмов из воздуха на поверхности плотных питательных сред. Осуществляется аспирационный метод с помощью специальных приборов (например, прибора Кротова), снабженных вентиляторами, которые засасывают воздух в прибор через клиновидную щель. В приборе воздух ударяется о поверхность плотной питательной среды в открытой чашке Петри.

Помимо нормируемых микробиологических показателей в воздухе производственных цехов и холодильниках на предприятиях пищевой промышленности определяют наличие спор микроскопических грибов и дрожжей, произвольно оседающих на поверхности сусло-агара или среды Сабуро за 5 минут. Посевы культивируют при комнатной температуре в течение 5-и суток. Санитарно-гигиеническая оценка проводится по 3-х бальной шкале. Состояние воздуха отличное, если в посевах споры грибов и дрожжей не обнаружены; хорошее, если на поверхности среды оседает до 2 спор грибов, а споры дрожжей не выявлены; удовлетворительное, если в чашках Петри после культивирования вырастает не более 5-и колоний грибов и 2-х колоний дрожжей.

Для снижения бактериальной обсемененности воздуха на предприятиях молочной промышленности проводят проветривание и влажную уборку помещений. Снизить содержание микроорганизмов в воздухе можно также путем его фильтрации через воздушные фильтры, применяя физические и химические методы обеззараживания воздуха: обработку ультрафиолетовыми лучами, хлорсодержащими препаратами в виде испарений и аэрозолей. Эффективным способом является озонирование воздуха.

### ***Оценка санитарного состояния воды***

Вода, используемая на предприятиях пищевой промышленности, должна отвечать требованиям СанПиНа 2.1.4.1074-01 на питьевую воду.

Для оценки санитарного состояния воды в ней определяют общее микробное число – не более 50 КОЕ/см<sup>3</sup>; термотолерантные колиформные бактерии – не допускаются в 100 см<sup>3</sup>; общие колиформные бактерии также должны отсутствовать в 100 см<sup>3</sup>; споры сульфитредуцирующих клостридий - не допускаются в 20 см<sup>3</sup>; колифаги – в 100 см<sup>3</sup>. Исследование питьевой воды проводят один раз в квартал при пользовании городским водопроводом и один раз в месяц при наличии собственных источников водоснабжения в воде.

*Общее микробное число воды (ОМЧ)* – количество мезофильных аэробных и факультативноанаэробных микроорганизмов, способных образовывать колонии на питательном агаре при 37 °С в течение 24 часов.

*К общим колиформным бактериям* относятся грамотрицательные не образующие спор палочки, не обладающие оксидазной активностью, ферментирующие лактозу или маннит с образованием альдегида, кислоты и газа при температуре 37°С в течение 24 часов.

*Термотолерантные колиформные бактерии* обладают всеми признаками общих колиформных бактерий, которые, кроме этого способны ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре 44 °С в течение 24 часов.

*Сульфитредуцирующие клостридии* (преимущественно *Clostridium perfringens*) – спорообразующие анаэробные палочковидные бактерии, редуцирующие сульфит натрия на железо-сульфитном агаре в течение 24 часов при температуре 44 °С.

*Колифаги* – бактериальные вирусы, способные лизировать кишечную палочку и формировать зоны лизиса через 18±2 часа при температуре 37 °С на ее газоне на питательном агаре. Колифаги – индикаторы очистки питьевой воды в отношении энтеровирусов.

Способами обеззараживания воды являются хлорирование, озонирование, обработка ультрафиолетовыми лучами.

***Контроль оборудования, трубопроводов, посуды, инвентаря, вспомогательных и упаковочных материалов, рук работников***

***Контроль аппаратов и оборудования.*** Контроль проводят непосредственно после мойки, дезинфекции и пропаривания перед началом работы.

Для проведения исследования готовят ватные или марлевые тампоны, которые закрепляют на деревянном или металлическом стержне и помещают в пробирки с 10 см<sup>3</sup> воды. Пробирки с тампонами стерилизуют в автоклаве при 0,1 МПа в течение 20-30 минут.

Смывы с крупного оборудования и аппаратов берут с помощью нержавеющей металлических трафаретов с вырезанной серединой (площадь выреза 10, 25 или 100 см<sup>3</sup>). Перед взятием пробы трафарет смачивают спиртом, обжигают и накладывают на исследуемую поверхность. Ограниченную поверхность промывают смоченным тампоном, затем тампон погружают в пробирку с водой и содержимое хорошо перемешивают. В смывной воде определяют общую бактериальную обсемененность и наличие кишечной палочки (путем посева на МПА и среду Кесслера). В смывах с хорошо вымытого оборудования общее количество микроорганизмов в смывной воде не должно превышать их содержания в чистой воде, поступающей на мойку. Кишечные палочки должны в смыве отсутствовать. Количество слизиобразующих бактерий не должно быть более 0-5 в 1 мл смыва.

Наличие кишечной палочки можно определить, используя среду Кода. В этом случае тампоном, смоченным в среде Кода, промывают исследуемую поверхность. Далее тампон погружают в среду, а пробирку помещают в термостат с температурой 42<sup>0</sup>С на 18-24 часа. О наличии кишечной палочки судят по изменению цвета среды с зеленого до желтого.

***Контроль трубопроводов, рукавов, шлангов***

Внутренняя поверхность трубопроводов, рукавов, шлангов недоступна для взятия проб с помощью тампонов. В этом случае общую бактериальную обсемененность и коли-индекс определяют в последней промывной воде. Эти показатели не должны отличаться от показателей воды, применяемой в производстве.

Качество мойки трубопроводов можно также оценить путем отбора 10 мл смывной воды в стерильную посуду с последующим центрифугированием при 1500-2000 об/мин в течение 10 минут и микроскопированием осадка в 10 полях зрения. При этом должно обнаруживаться не более 5-6 клеток микроорганизмов.

### ***Контроль посуды и инвентаря***

Для анализа санитарного состояния стеклянных бутылок и банок смыв делают путем обмывания внутренней поверхности последовательно 10 единиц посуды 20 см<sup>3</sup> воды. Санитарное состояние бочек, бидонов, цистерн проверяют путем посева последней смывной воды. Смыв с мелкого инвентаря (мешалки, пробники, термометры и др.) готовят путем смачивания всей поверхности стерильным тампоном, а при анализе санитарного состояния стеллажей, лотков, ведер, лопат пользуются трафаретом. В смывах определяют общую бактериальную обсемененность и наличие кишечной палочки. Кишечная палочка должна отсутствовать в смывах.

### ***Контроль вспомогательных и упаковочных материалов***

Пергамент, фольгу, пленку, комбинированные материалы для упаковки молока и молочных продуктов разворачивают и с внутренней стороны берут смыв стерильным ватным тампоном (со 100 см<sup>3</sup> поверхности). Определяют наличие микроскопических грибов и наличие кишечной палочки. Кишечная палочка в смывах должна отсутствовать, а содержание плесеней не должно превышать 5 в 1 см<sup>3</sup> смыва.

Поваренную соль контролируют на общую бактериальную обсемененность. Для разведения берут 5 г соли и растворяют ее в 95 см<sup>3</sup> воды. Содержание микроорганизмов в соли не должно превышать 100 КОЕ/г.

Сахар исследуют на наличие дрожжей и плесеней, растворяя 10 г сахара в 90 см<sup>3</sup> воды. Дрожжи и микроскопические грибы должны отсутствовать.

### ***Контроль чистоты рук и спецодежды работников***

Анализ чистоты рук работников производят (без предварительного предупреждения) пред началом производственного процесса только у рабочих, которые непосредственно соприкасаются с чистым оборудованием или продукцией.

Перед анализом тампон смачивают стерильной водой или физиологическим раствором и обтирают им обе руки и пальцы каждого работника. Тампон ополаскивают в воде, в которой проводилось его смачивание, хорошо взбалтывают, отбирают 1 мл и подготавливают разведения (1:10 и 1:100). Для определения общего количества микроорганизмов в 1 мл смыва производят посев разведений на МПА в стерильные чашки Петри и далее проводят термостатирование при 37 °С в течение 48 часов. Остаток смыва вместе с тампоном высевают в 5 см<sup>3</sup> среды Кесслера или Кода, а затем проводят культивирование при температуре 42-43 °С в течение 18-24 часов. Наличие в смыве кишечной палочки недопустимо.

Можно применить и такой метод: в сложенные ладонями вместе кисти рук наливают 100 мл стерильной воды так, чтобы вода хорошо промыла пальцы. Стерильным тампоном протирают ладони и ногти. Воду собирают в стерильную склянку и туда же бросают тампон. Смывную воду перемешивают и производят аналогичные высевы. Чистоту рук оценивают по количеству микроорганизмов в 1 мл смыва при отсутствии кишечных палочек: Количество микроорганизмов в 1 мл смыва с рук До 1000 Отлично, 1000-5000 Хорошо, 5000-10000 Удовлетворительно, Свыше 10000 Плохо.

Периодически проводят контроль обработки рук хлорной известью, для чего отдельные участки рук протирают ватным тампоном, смоченным йодкрахмальным раствором (смесь растворов - 6% раствора йодистого калия и 4% раствора растворимого крахмала в равных соотношениях). Если тампон и поверхности рук в местах соприкосновения с тампоном окрашиваются в сине-бурый цвет, то это свидетельствует о присутствии ионов хлора.

Чистоту рук можно проверить также с помощью индикаторных бумажек для определения бактерий группы кишечной палочки. Для этого индикаторную бумажку смачивают в стерильной воде и накладывают на руку. Затем бумажку помещают в пакет, запаивают и термостатируют в течение 12 часов при 37 °С. Появление розовых пятен свидетельствует о присутствии БГКП.

Халаты, куртки, передники, перчатки из ткани периодически исследуют на присутствие кишечных палочек посевом 1 см<sup>3</sup> смывной воды в среду Кесслера. Кишечные палочки на спецодежде должны отсутствовать.



*Задание 1. Провести дезинфекцию рабочего места раствором хлорамина.*

Поставить на стол сосуд с дезраствором (2% раствором хлорамина или 2% раствора гидроксида натрия), контейнер для отходов, спиртовку, баночку со стерильной ватой, баночку со спиртом, штатив для пробирок, чашку Петри с карандашами по стеклу. Затем приготовить инструменты (шприц, иглы, пинцет) для стерилизации и кипятить в стерилизаторе. Отработать навык работы с пипеткой и грушей.

*Задание 2. Химический контроль профилактической дезинфекции. Изучить йодкрахмальный метод контроля применения хлорсодержащих препаратов.*

*Техническое оснащение:* 5% раствор хлорамина, тампоны ватные, смесь 3% раствора йодида калия с 2% крахмальным клейстером.

*Методические указания:* с помощью тампонов обрабатывают часть поверхности лабораторного стола размером 10 x 10 см. После этого другим тампоном, смоченным в растворе KI с крахмалом, проводят по обработанной поверхности. Специфическое окрашивание поверхности в этом месте говорит о применении для дезинфекции хлорсодержащих препаратов.

*Задание 3. Бактериологический контроль дезинфекции путем смыва с поверхностей*

*Техническое оснащение:* шаблоны 10x10см, пробирки с нейтрализатором (гипосульфат Na) или дистиллированной водой стерилизованные, ватные тампоны с пробками стерилизованные, чашки Петри с МПА или средой Хейфеца, спиртовки.

*Методические указания:* с помощью ватных тампонов, смоченных в растворе нейтрализатора и шаблонов, делают смывы с поверхности 10x10см, обработанной 5% раствором хлорамина и не обработанной. После этого тампоны промывают в пробирке с дистиллированной водой и делают высевы на чашки Петри. Чашки Петри помещают в термостат на 2 суток при 37°C. Учёт роста на чашках производят на следующем занятии.

*Задание 4. Контроль чистоты рук*

*Техническое оснащение:* чашки Петри с МПА.

*Методические указания:* делают высевы с рук на чашки Петри путем прикосновения пальцев к поверхности агара. После этого производят мытье рук с мылом и делают высевы на другие чашки Петри. Чашки помещают в термостат на 2 суток при 37°C. Учет роста на чашках производят на следующем занятии.

**Задание 5. Бактериологическое исследование воздуха.**

*Техническое оснащение:* Чашки Петри с МПА, аппарат Кротова.

1) Открыть чашки Петри на 5 минут, после чего закрыть и поместить в термостат при 37°C на 2 суток (седиментационный метод).

2) Определить бактериальную обсемененность воздуха аспирационным методом при помощи аппарата Кротова. Чашки с посевом ставят в термостат на 2 суток при 37°C.

Учет роста на чашках производят на следующем занятии.

## **Практическая работа №4 Микробиологическое исследование продуктов питания (занятие 1)**

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

## **Микробиологическое исследование продуктов питания (занятие 1)**

**Цель работы:** Ознакомиться с принципами проведения микробиологического контроля сырья, полуфабрикатов и готовой продукции. Освоить методы определения микроорганизмов в пищевых продуктах в соответствии с требованиями нормативной документации. Изучить качественный состав микрофлоры исследуемого продукта.

**Оборудование, материалы:** Исследуемые пищевые продукты крем; пробирки с 9 мл стерильной воды; стерильные пипетки на 1 мл и чашки Петри; пробирки со стерильными питательными средами: с МПА или средой для определения КМАФАнМ; со средой

Сабуро или сусло-агаром; средой Кесслера с поплавками; с солевым агаром и т.п.; набор красок по Граму; бактериологические петли и препаровальные иглы; фильтровальная бумага; предметные и покровные стекла; микроскоп; спиртовка; лоток с рельсами; промывалка; термостаты.

Студенты знакомятся с принципами микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности; группами микробиологических критериев безопасности пищевых продуктов особенностями проведения и схемой микробиологического исследования кондитерского крема. Далее они готовят разведения анализируемого продукта и проводят посев этих разведений на плотные и жидкие питательные среды для определения нормируемых микробиологических показателей и определения содержания микроорганизмов.

При проведении микробиологического исследования пищевых продуктов руководствуются медико-биологическими требованиями и санитарными нормами качества продовольственного сырья и пищевых продуктов.

### **Теоретическая часть**

#### ***Кремовые кондитерские изделия***

Кремы, используемые для изготовления тортов и пирожных, является скоропортящейся продукцией, которая может послужить причиной пищевых отравлений. Помимо различных споровых и неспоровых бактерий, дрожжей, спор плесеней, в кремах могут присутствовать патогенные микроорганизмы. Особенно опасен заварной крем, который отличается от других кремов низкой концентрацией сахара, повышенной влажностью и содержанием муки. Помимо того, что заварной крем быстро закисает в результате развития кислотообразующих бактерий, в нем могут развиваться токсигенный золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) и некоторые условно-патогенные микроорганизмы (например, энтеропатогенные кишечные палочки). Следует помнить, что накопление токсинов в кремовых изделиях происходит при температуре от 15 до 22 °С.

Причинами инфицирования крема может быть сырье (молоко, сливки, сахар, масло, яйца). Нарушение технологического режима и санитарных правил при изготовлении и хранении крема и кремо-

вых изделий приводит к интенсивному развитию микроорганизмов, внесенных с сырьем и микроорганизмов, попадающих в крем в процессе его производства и хранения. Поэтому, в соответствии с требованиями ми по хранению и реализации скоропортящихся продуктов торты и пирожные с различными кремами разрешается хранить при температуре не выше  $6^{\circ}\text{C}$  в течение ограниченного времени (например, с белково-сбивным кремом не более 72 часов).

Готовые кремные изделия подвергают микробиологическому контролю. КМАФАнМ в зависимости от вида крема должно быть не выше значения  $1 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$  КОЕ/г; БГКП не допускаются в 0,01 г; золотистый стафилококк – в 1 г заварного и в 0,01 г сливочного крема. Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы должны отсутствовать в 25 г крема.

#### **Схема разведения пищевого продукта и проведения микробиологического исследования**

Для приготовления разведений продукта используют пробирки с  $9 \text{ см}^3$  стерильной воды. Иногда для приготовления разведений используются стерильные растворы разбавленного фосфатного буфера, изотонического раствора хлорида натрия, пептонной воды или лимоннокислого натрия. В первую пробирку стерильной пипеткой вносят  $1 \text{ см}^3$  продукта. Новой стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки (разведение 1:10). Затем этой же пипеткой из пробирки с разведением 1:10 отбирают  $1 \text{ см}^3$  жидкости и переносят во вторую пробирку с водой (разведение 1:100). Количество разведений рассчитывают таким образом, чтобы в чашках Петри выросло от 30 до 300 колоний.

Так, при исследовании пастеризованного молока рекомендуется готовить I, II и III разведение продукта, так как нормируемое значение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в питьевом молоке не более 50...200 тыс. КОЕ/см<sup>3</sup>

1 г крема или маргарина взвешивают с соблюдением правил асептики и вносят в пробирку с  $9 \text{ см}^3$  воды. Затем пробирку помещают в водяную баню с температурой 50...55  $^{\circ}\text{C}$ . Выдерживают пробирку на водяной бане до полного расплавления крема. Содержимое пробирки тщательно перемешивают и для последующих

разведений отбирают  $1 \text{ см}^3$  жидкости, находящейся под слоем масла;

### **Чашечные методы количественного учета микроорганизмов**

*Сущность чашечных методов количественного учета микроорганизмов* заключается в посеве разведений продукта на стерильные плотные питательные среды в чашки Петри с последующим культивированием и подсчетом выросших в чашках колоний. При этом считается, что каждая колония является результатом размножения одной клетки.

#### ***Учет результатов при использовании чашечных методов***

Количество выросших колоний подсчитывают в каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением от 4 до 10 раз. При большом количестве колоний и равномерном их распределении дно чашки делят на сектора, подсчитывают число колоний в 2-3 секторах, находят среднеарифметическое число колоний и умножают на разведение (10 – при первом разведении продукта, 100 – при втором разведении и т.д.).

Если инкубированные чашки с первым разведением (1:10) не содержат колоний, то результат выражают так: меньше  $1 \times 10 \text{ КОЕ/см}^3$  (КОЕ – колониобразующие единицы);

Если в чашках Петри с I разведением (1:10) содержится меньше, чем 15 колоний, то результат выражается так: количество микроорганизмов менее  $M \times 10 \text{ КОЕ/г}$ , где M – число выросших колоний;

Если количество колоний более 15, то подсчитывают количество колоний в чашках, умножают на разведение и полученный результат округляют в соответствии с ГОСТом 26670-91 «Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов»:

- до числа, кратного 5, если количество колоний в чашке менее 100;
- до числа, кратного 10, если количество колоний в чашке более 100.

***Пример:*** Посеяно I разведение продукта 1:10. В чашке Петри выросло 194 колонии. Полученный результат округляем до 200.

Количество микроорганизмов в продукте:  
 $200 \times 10 = 2,0 \times 10^3 \text{ КОЕ/г}$ .

Чашечными методами определяют следующие микробиологические показатели: КМАФАнМ, количество спор грибов и дрожжей, содержание гнилостных бактерий, коагулазоположительных стафилококков.

*Задание 1. Определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)*

Перед посевом чашки маркируют.

По 1 см<sup>3</sup> разведений продукта вносят в чашки Петри. Пипетку с посевным материалом держат под углом 45<sup>0</sup>С, касаясь концом пипетки дна чашки. Затем в каждую чашку наливают по 12-15 см<sup>3</sup> мясопептонного агара или среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, расплавленной и охлажденной до 45<sup>0</sup>С. Сразу после заливки агара содержимое тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала. Если ожидают ползучий рост микроорганизмов посевы после застывания агара заливают вторым слоем питательной среды или 3...5 см<sup>3</sup> водного раствора агара. После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и помещают в термостат при (30±1)<sup>0</sup>С на 72 часа (допускается предварительный учет через 48 часов с последующим окончательным учетом через 24 часа).

*Задание 2. Определение количества грибов и дрожжей*

Ведут так же, как и определение КМАФАнМ, только в качестве питательной среды используют сусло-агар или среду Сабуро. Инкубацию посевов ведут при температуре 24<sup>0</sup>С в течение 5 суток с предварительным учетом через 3 суток.

*Задание 3. Определение протеолитических (гнилостных) бактерий*

Соответствующее разведение продукта засевают на молочный агар инкубацию посевов проводят при 30<sup>0</sup>С в течение 72 часов. Протеолитические бактерии на молочном агаре при своем росте образуют зоны просветления агара (зоны протеолиза). Пептонизирующие бактерии образуют узкие зоны пептонизации.

*Задание 4. Определение коагулазоположительных стафилококков*

Ведут так же, как и определение КМАФАнМ. В качестве питательной среды используют молочно-солевой или желточно-солевой агар. Культивирование проводят при 37 °С в течение 24...48 часов. При росте на желточно-солевом агаре вокруг колоний образуются перламутровые зоны помутнения агара, а на молочно-солевом агаре – небольшие зоны пептонизации.

*Задание 5. Определение аэробных спорообразующих бактерий рода Bacillus*

Исследуемый материал или разведение продукта перед посевом пастеризуют при 75...85 °С в течение 20 мин. Далее ведут определение так же, как и при определении КМАФАнМ. После пастеризации вегетативные клетки погибают, а споры после посева на МПА и культивирования при 37 °С прорастают и в течение 24...48 час образуют колонии.

**Методы, основанные на накоплении микроорганизмов с последующей их идентификацией**

Эти методы используются для выявления микроорганизмов, содержание которых незначительно в сравнении с общим количеством микроорганизмов. *Сущность этих методов* заключается в посеве продукта или его разведений на накопительные жидкие среды. Если после культивирования обнаруживают рост микроорганизмов (образование осадка, помутнение среды, накопление газа в поплавках), то в дальнейшем проводят пересев из пробирок, в которых замечен рост на дифференциально-диагностические среды для идентификации выросших на накопительной среде микроорганизмов.

К таким методам относятся определение наличия БГКП, сальмонелл.

***Определение бактерий группы кишечной палочки***

Для посева используют то количество продукта, в котором предусматривается отсутствие БГКП (1 см<sup>3</sup> молока или 1 см<sup>3</sup> первого разведения молока). Посев проводят в пробирки со средой Кесслера с поплавками. Посевы помещают в термостат с температурой 37<sup>0</sup>С на 24 часа.

При отсутствии признаков роста (газообразования в поплавках, помутнения среды) дают заключение об отсутствии БГКП и соответствии исследуемого продукта нормативу на БГКП.

При положительной бродильной пробе для окончательного заключения о наличии в продуктах БГКП из подозрительных пробирок производят посев на чашки со средой Эндо или Левина. Посев производят петлей из каждой пробирки так, чтобы получить рост изолированных колоний. Чашки помещают в термостат.

Учет результатов. При отсутствии на среде Эндо или Левина колоний, типичных для БГКП (на среде Эндо – красных с металлическим блеском, на среде Левина – черных с металлическим блеском, темных с черным центром, сиреневых с темным центром) считают, что продукт соответствует нормативу. При наличии на среде Эндо или Левина типичных колоний их окрашивают по Граму и микроскопируют. Обнаружение грамотрицательных, не содержащих спор палочек указывает на наличие БГКП в анализируемой пробе и несоответствии продукта по микробиологическому нормативу.

#### ***Определение сальмонелл***

Асептически взвешенные навески сухих компонентов или стерильно отмеренные объемы жидких компонентов (обычно 25 г или 25 см<sup>3</sup>) засевают в колбы с магниевой средой или средой Мюллера (накопительные среды для сальмонелл), соблюдая соотношение продукта и среды не менее 1 : 9.

Для жидких продуктов допускается использование среды с двойной концентрацией ингредиентов при соотношении продукта и среды 1 : 1.

Колбы с посевами помещают в термостат с температурой 37 °С на 18...24 часа.

После инкубации в термостате производят высев из колб с накопительными средами на поверхность дифференциально-диагностических сред (среду Плоскирева или висмут-сульфитный агар). Для получения отдельных колоний петлей берут минимальное количество посевного материала и производят посев штрихом. Чашки с посевами помещают в термостат с температурой 37 °С. Проверку посевов осуществляют дважды: через 24 и 48 ч после инкубации в термостате.

Учет результатов. На среде Плоскирева колонии сальмонелл бесцветные, прозрачные, плоские, на висмут-сульфитном агаре – черные, с характерным металлическим блеском, зеленоватые с



черным ободком, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией.

При отсутствии типичных колоний сальмонелл на каждой из сред конечный результат анализа записывают как «отрицательный», т.е. в исследуемой массе продукта сальмонеллы отсутствуют.

При наличии на любой из питательных сред на чашках Петри типичных или подозрительных колоний на сальмонеллы, производят их дальнейшее изучение по биохимическим и другим признакам.

#### ***Определение анаэробных сульфитредуцирующих клостридий***

В пробирки, содержащие 9 см<sup>3</sup> расплавленной и охлажденной до 45 °С плотной среды Вильсона-Блера вносят, соблюдая правила асептики, 1 см<sup>3</sup> соответствующих разведений исследуемого продукта. Тщательно перемешивают содержимое пробирки, помещают в термостат и культивируют при 37°С в течение 24 часов. За положительный титр принимают то максимальное разведение продукта, в посеве которого произошло почернение среды.

#### ***Определение бактерий рода *Proteus****

Ведут методом Шукевича. Для определения 0,5 см<sup>3</sup> анализируемой взвеси (разведения) вносят в конденсационную воду свежескошенного агара, не касаясь поверхности среды.

Вертикально поставленные пробирки термостатируют при 37 °С в течение 24 часов. На скошенном агаре палочка протей прорастает в виде голубоватого вуалеобразного налета. При микроскопии препарата обнаруживаются грамотрицательные неспорообразующие палочки.

## **Практическая работа №5 Микробиологическое исследование продуктов питания (занятие 2)**

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

### **Микробиологическое исследование продуктов питания (занятие 2)**

Студенты исследуют посеvy разведений продукта, подсчитывают количество выросших колоний в чашках Петри на мясопептонном агаре или среде для определения мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, среде Сабуро и т.д. Изучают посеvy продукта или его разведений в пробирках со средой Кесслера и поплавками. Если в пробирках со средой Кесслера газообразования в поплавках не наблюдается, то делают заключение об отсутствии БГКП во взятом на анализ объеме продукта. Полученные данные сравнивают с нормируемым значением. Затем изучают качественный состав микрофлоры исследуемого продукта.

*Задание 1. Изучение культуральных свойств выросших в чашках колоний*

Чашки с посевами внимательно осматривают. Отмечают колонии микроорганизмов, отличающиеся по культуральным свойствам. Рассматривая выросшие колонии в проходящем свете невооруженным глазом (макроскопически) и с помощью лупы описывают культуральные свойства.

*Задание 2. Изучение морфологических свойств микроорганизмов*

При изучении морфологии выросших в чашках колоний на предметных стеклах готовят фиксированные мазки (при исследовании колоний одноклеточных микроорганизмов: бактерий, дрожжей) или препараты типа «раздавленная капля» (при исследовании колоний микроскопических грибов).

Фиксированные мазки окрашивают по Граму и микроскопируют с использованием иммерсионного объектива (на x90). При

микроскопировании препаратов обращают внимание на форму клеток; их взаимное расположение; наличие спор; отношение к окраске по Граму. Эти признаки позволяют отнести микроорганизмы к определенной группе.

### **Оформление и анализ результатов исследований**

В отчете студенты кратко конспектируют теоретический материал. Результаты определения микробиологических показателей записывают, сравнивают с нормируемыми значениями. По результатам исследований студенты делают вывод о качестве исследованного продукта.

При изучении качественного состава микрофлоры продукта результаты исследований вносят в таблицу:

Культуральные и морфологические признаки выросших в чашках колоний

| Культуральные свойства   | Питательные среды |     |              |     |    |     |
|--------------------------|-------------------|-----|--------------|-----|----|-----|
|                          | МПА               |     | Среда Сабуро |     | .. |     |
|                          |                   | ... |              | ... |    | ... |
| Форма колоний.           |                   |     |              |     |    |     |
| Консистенция.            |                   |     |              |     |    |     |
| Микроскопическая картина |                   |     |              |     |    |     |

После заполнения таблицы делается вывод о качественном составе микрофлоры исследованного продукта

### ***Контрольные вопросы***

1. Какие микробиологические показатели относятся к группе показателей санитарного состояния пищевых продуктов?
2. Что такое общая бактериальная обсемененность (КМАФАнМ)? С какой целью определяется этот показатель?
3. В каких продуктах КМАФАнМ не определяется?
4. С какой целью в пищевых продуктах определяют БГКП?
5. Какие требования предъявляются к санитарно-показательным микроорганизмам?

6. С какой целью и в каких продуктах определяются условно-патогенные микроорганизмы?
7. Зачем в пищевых продуктах определяют содержание грибов и дрожжей? Во всех ли пищевых продуктах эти показатели нормируются?
8. Какие патогенные микроорганизмы нормируются в пищевых продуктах?
9. Какие микробиологические показатели нормируются в в кремовых изделиях, в колбасных изделиях
10. Как готовятся разведения пищевых продуктов?
11. В чем сущность чашечных методов определения микроорганизмов в пищевых продуктах?
12. Какие микробиологические показатели определяются чашечными методами?
13. В чем сущность методов, основанных на накоплении микроорганизмов с последующей идентификацией? Какие микробиологические показатели определяются этими методами?
14. Какими методами определяются КМАФАнМ, наличие БГКП, титр анаэробных сульфитредуцирующих клостридий?
15. Как описываются культуральные свойства выросших в чашках колоний микроорганизмов?

## **Практическая работа №6 Санитарно-бактериологическое исследование воздуха**

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

### **Санитарно-бактериологическое исследование воздуха**

**Цель работы:** Освоить методику санитарно-бактериологического исследования воздуха.

**Общие сведения**

При исследовании бактериальной загрязненности воздуха учитывается общее количество микробов, содержащихся в определенном объеме воздуха, и качественный состав микрофлоры воздуха.

В воздухе закрытых помещений содержится большое количество сапрофитов - сарцины, пигментные бактерии, спорообразующие палочки, грибы. Дрожжи и так далее.

Санитарно-показательными микроорганизмами воздуха являются а-зеленящий стрептококк, Р-гемолитический стрептококк, гемолитический стафилококк.

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха проводится двумя методами: седиментационным и аспирационным.

Седиментационный метод (по Коху) - оседание микробов под действием силы тяжести. Метод заключается в том, что чашки Петри со средой оставляют открытыми на определенное время (5-10 минут на общую обсемененность и не менее 40 минут на кокковую микрофлору), затем их закрывают, надписывают и выдерживают 24 часа в термостате и 24 часа при комнатной температуре. Количество выросших колоний соответствует степени загрязненности воздуха: по приблизительному подсчету на площадь  $100\text{см}^2$  в течение 5 минут оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха.

Аспирационный метод может быть осуществлен с помощью аппарата Кротова, который дает возможность исследовать опреде-

ленный объем воздуха. Аппарат смонтирован в портативном ящике и состоит из узла для отбора проб воздуха, микроманометра и электромотора.

Исследуемый воздух просасывается через клиновидную щель прозрачного диска из плексигласа, установленного на центробежном вентиляторе. Засасываемый воздух распределяется по поверхности питательной среды чашки Петри, помещенной на вращающемся устройстве. Чашка со средой должна вращаться со скоростью 60 оборотов в минуту, что гарантирует равномерное распределение оседающих микроорганизмов по поверхности питательной среды. Скорость просасывания при отборе проб должна быть 25 л в минуту с экспозицией 4-5 минут для определения общего количества микробов и экспозицией 10-15 минут для обнаружения кокков.

#### **Практическая часть.**

Приборы, реактивы, посуда: чашки Петри, питательный агар, термостат.

#### **Методика выполнения работы**

Приготовить питательную среду питательный агар. Разлить среду в 2 чашки Петри, охладить до комнатной температуры. Чашки Петри с питательными средами оставить открытыми в местах отбора проб воздуха в течение 10 минут.

Затем чашки закрыть и поместить в термостат при температуре 37°C на 24 часа. После этого чашки выдерживать при комнатной температуре 1 сутки.

О степени загрязненности воздуха судят по количеству выросших на поверхности чашек Петри колоний.

Оформление работы.

Написать отчет о проделанной работе.

#### **Контрольные вопросы.**

1. Какие санитарные требования предъявляют к воздуху в помещениях пищевых предприятий?
2. Какие санитарно-показательные микроорганизмы определяют в воздухе?
3. В чем заключаются методы качественного и количественного определения микроорганизмов в воздухе?

## Практическая работа №7 Определение спорообразующих бактерий в муке методом пробных выпечек

### План занятия

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

Определение спорообразующих бактерий в муке методом пробных выпечек

**Цель работы.** Определение зараженности муки «картофельной» болезнью (тягучей порчей).

**Оборудование:** тестомесильная лабораторная машина, расстойный шкаф, хлебопекарная печь, термостат, технические весы с разновесами, мерные цилиндры, фарфоровые ступки, термометры на 100 °С.

**Материалы:** мука пшеничная хлебопекарная общего назначения, соль поваренная пищевая, дрожжи хлебопекарные прессованные, сахар-песок, маргарин, хлебопекарный улучшитель, вода питьевая.

### Теоретическая часть

Тягучая порча (картофельная болезнь) хлеба поражает хлеб и хлебобулочные изделия из пшеничной муки. Возбудителями тягучей порчи хлеба являются споровые палочки видов *Bacillus subtilis* (сенная палочка) и *Bacillus mesentericus* (картофельная палочка). Эти микроорганизмы попадают в муку с поверхности зерна при помолу. Если в 1 г муки содержится более 1000 спор, то такая мука опасна с точки зрения возникновения тягучей порчи.

Сами клетки возбудителей не выдерживают температуру выпечки, тогда как споры сенной и картофельной палочек жизнеспособны, термоустойчивы и не погибают при выпечке хлеба. При благоприятных условиях (например, при медленном остывании изделий или при сильной плотной укладке в лотки) они прорастают в мякише хлеба. Клетки, развившиеся из спор, выделяют в мякиш хлебобулочных изделий амилолитические и протеолитические ферменты.

Амилолитические ферменты способствуют гидролизу крахмала с образованием декстринов, что делает мякиш липким и тянущимся. Протеолитические ферменты способствуют разложению белковых веществ, при этом происходит гниение хлеба с образованием неприятно пахнущих соединений.

Наблюдают четыре стадии развития тягучей порчи хлеба: 1-я стадия – едва уловимая (очень слабо ощущается запах фруктовой гнили); 2-я стадия – слабая (запах гнили ощущается отчетливо); 3-я стадия – средняя (наблюдается липкость и потемнение мякиша); 4-я стадия – сильная (запах становится специфическим, неприятным, мякиш тянется тонкими серебристыми нитями). Хлеб, пораженный картофельной болезнью, в пищу употреблять нельзя.

Для предотвращения заболевания хлеба мука должна проверяться на зараженность картофельной и сенной палочками. Для выявления зараженности муки проводят пробную лабораторную выпечку.

Далее выпеченный, хорошо остывший хлеб помещают в провоцирующие условия. Два раза (через 24, 36 и 72 ч) органолептически оценивают его состояние.

### **Ход работы:**

Практическая работа состоит из двух частей: 1-я часть – приготовление хлеба пшеничного безопарным, опарным, ускоренным способом; 2-я часть – создание провоцирующих условий для проверки зараженности хлеба спорными палочками видов *Bacillus subtilis* (сенная палочка) и *Bacillus mesentericus* (картофельная палочка).

#### *1. Расчет рецептуры и количества воды.*

Расчет воды:  $G_{\text{в}}$ , расходуемой на замес теста, кг

$$G_{\text{в}} = \frac{\sum G_{\text{сырья}} (W_{\text{т}} - W_{\text{ср}})}{100 - W_{\text{т}}},$$

где  $\sum G_{\text{сырья}}$  – сумма сухих веществ всех компонентов теста, кг;  
 $W_{\text{т}}$  – влажность теста, %;  $W_{\text{ср}}$  – средневзвешенная влажность сырья, %:

$$W_{\text{ср}} = \frac{G_{\text{м}}W_{\text{м}} + G_{\text{сл}}W_{\text{сл}} + G_{\text{др}}W_{\text{др}} + G_{\text{сах}}W_{\text{сах}} + G_{\text{марг}}W_{\text{марг}}}{G_{\text{сырья}}},$$



где  $G_m$ ,  $G_{сл}$ ,  $G_{др}$ ,  $G_{сах}$ ,  $G_{марг}$ ,  $G_{сырья}$  – количество муки, соли, дрожжей, сахара, маргарина, расходуемое на приготовление теста, г;  $W_m$ ,  $W_{сл}$ ,  $W_{др}$ ,  $W_{сах}$ ,  $W_{марг}$  – влажность муки, соли, дрожжей, сахара, маргарина, %;  $W_{ср}$  – средневзвешенная влажность, %.

$$W_T = W_{\text{мяк}} + (0,5 \pm 1),$$

где  $W_{\text{мяк}}$  – влажность мякиша хлеба, % (сборник ГОСТов). Влажность хлеба белого из пшеничной муки высшего сорта составляет 43,0 %.

$$W_T = 43 + (0,5 \pm 1) = 44 \text{ \%}.$$

Данные для расчета рецептуры хлеба белого из пшеничной муки приведены в табл. 1.

Таблица 1 Рецептура хлеба белого из пшеничной муки на 100 кг муки

| Наименование сырья                | Количество, кг | Влажность, % | Количество сырья на 300 г муки |
|-----------------------------------|----------------|--------------|--------------------------------|
| Мука пшеничная высшего сорта      | 100            | 14,5         | Рассчитать                     |
| Дрожжи хлебопекарные прессованные | 2,5            | 75           | Рассчитать                     |
| Соль поваренная                   | 1,5            | 0            | Рассчитать                     |
| Сахар-песок                       | 1              | 0,16         | Рассчитать                     |
| Маргарин                          | 1              | 16           | Рассчитать                     |
| Улучшитель                        | 0,33           | 10           | Рассчитать                     |
| Вода водопроводная                | По расчету     |              | По расчету                     |
| Итого                             | 106,33         |              | сырья                          |

Подготовка сырья:

Мука – просеивание, очистка от металлических примесей, взвешивание.

Дрожжи – взвешивание, приготовление суспензии.

Соль – взвешивание, приготовление раствора.

Сахар – взвешивание, приготовление раствора.

Маргарин – взвешивание.

Улучшитель – взвешивание от 0,33 до 1,0 % от массы муки (количество улучшителя зависит от его марки).

Вода – расчет, подогрев до требуемой температуры и отмеривание.

Расчет температуры воды  $t_B$ , расходуемой на замес теста,

$$t_B = \frac{C_M G_M (t_T - t_M)}{C_B G_B} + K,$$

где  $t_T$  – заданная температура теста, °С ( $t_T = 25$  °С),  $C_M$  – теплоёмкость муки, кДж/(кг·К) ( $C_M = 1,257$ );  $C_B$  – теплоёмкость воды, кДж/(кг·К) ( $C_B = 4,19$ );  $G_M$  – количество муки, г;  $G_B$  – количество воды в тесте, г;  $t_M$  – температура муки, °С;  $K$  – поправочный коэффициент (летом принимается равным 1, в весеннее и осеннее время – 2; в зимнее – 3).

#### Замес и анализ теста

Цель замеса – получить однородную во всем объеме массу с оптимальными физическими свойствами для дальнейшей разделки, расстойки и выпечки.

Перед замесом теста предусмотренное по рецептуре количество муки помещают в сосуд, отмеривают нужное количество воды необходимой температуры для получения теста после замеса температурой 25 °С. В части этой воды предварительно растворяют прессованные дрожжи.

Приготовленное для замеса сырье – соль, сахар-песок и воду – вносят в сосуд с мукой и вначале замешивают со всем количеством муки при помощи шпателя (улучшитель добавляют в муку), а затем – до полного перемешивания составных частей и получения однородной массы.

#### Брожение теста

Замешенное тесто помещают в емкость для брожения, которую устанавливают в расстойный шкаф. В расстойном шкафу поддерживают температуру 35 °С, а относительную влажность воздуха – от 80 до 85 %. Если брожение протекает без увлажнения воздуха, то тесто сверху укрывают мокрой марлей, чтобы оно не заветривалось. Продолжительность брожения теста 30 мин.

#### Разделка теста

После 30-минутного брожения кусок теста формируют вручную на

столе, т. е. придают ему форму. Тестовую заготовку помещают в смазанную растительным маслом металлическую форму. Форму с тестом помещают в расстойный шкаф температуры 35°C и относительной влажности  $W_{отн} = 80 \%$ . Продолжительность расстойки не регламентирована. Окончание расстойки определяют органолептически – по состоянию и виду тестовых заготовок, не допуская их опадания.

#### Выпечка хлеба

Выпечку хлеба проводят в лабораторной печи при температуре от 215 до 220 °С с увлажнением пекарной камеры. Выпекать в течение 25 мин.

#### 2. Органолептическая оценка выпеченного хлеба.

Выпеченный хлеб охладить, завернуть в мокрую бумагу, положить в полиэтиленовый пакет. Далее подготовленный хлеб поместить в термостат с температурой 37 °С и выдерживать в течение 24 ч. Затем хлеб поместить в бокс с ультрафиолетовой лампой, разрезать острым ножом, предварительно смазанным спиртом или слабым раствором уксусной кислоты. Проверить, нет ли в хлебе признаков заражения (фруктовый запах, липкий мякиш, нити). Если признаков порчи не обнаружено, хлеб оставляют в термостате еще на одни сутки. Через 36 ч и 72 ч хлеб вынимают и оценивают органолептически.

Результаты проверки отразить в отчете по следующей форме: «Хлеб не заболел картофельной болезнью через 24 ч» или «Хлеб заболел картофельной болезнью через 24 ч».

3. Написать отчет о проделанной работе.

### Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы вызывают тягучую порчу хлеба?
2. Причины заражения муки *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis*.
3. Микробиологические методы контроля «тягучей» порчи.
4. Как предотвратить «картофельную» болезнь?

## **Практическая работа №8 Технологические способы снижения содержания микробиологических загрязнителей при производстве хлеба и их обнаружение**

### **План занятия**

1. Теоретическая часть.
2. Выполнение заданий по теме занятия
3. Контрольные вопросы

Технологические способы снижения содержания микробиологических загрязнителей при производстве хлеба и их обнаружение

**Цель работы:** приобретение навыков по методам борьбы с тягучей болезнью хлеба.

### **Теоретическая часть**

Одной из мер по профилактике тягучей порчи является ранняя диагностика заболевания. По зараженности муки спорами картофельной и сенной палочек ее подразделяют на три группы: не заражена, слабо заражена, сильно заражена. Для муки высшего и первого сортов показатель «сильно заражена» предполагает перевод ее в категорию бракованной, а слабозараженную муку указанных сортов используют только для кондитерских и мелкоштучных изделий. Пшеничную муку второго сорта и обойную с показателем «сильно заражена» используют на ржано-пшеничные сорта хлеба. Способы подавления размножения *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis* в хлебе основаны на биологических особенностях, а именно – на чувствительности к изменению кислотности среды.

В кислой среде размножение этих бактерий замедляется. Поэтому на пекарнях применяются химические и биологические способы повышения кислотности среды.

К химическим средствам относятся молочная, уксусная, пропионовая кислоты и их соли. Достаточно эффективно действуют такие препараты, как: «Фадона» – сухая подкисляющая добавка, рекомендуемая доза составляет 0,2–0,4 % к массе муки; «Яско

Милл» – средство для предотвращения тягучей порчи в дозировке 0,4–0,8% в зависимости от степени обсеменения муки возбудителями порчи; «Мажимикс розовый» – для предупреждения порчи хлеба рекомендуемая доза 0,5–0,8 % к массе муки; 0,8–1,5 % – при ее появлении.

Порядок выполнения работы:

Приготовить три модельных образца хлеба пшеничного: контрольный образец и два образца с использованием химических средств. Для этого в муку пшеничную предварительно внести зараженную хлебную крошку в количестве от 0,2 до 1,0 % к массе муки. Приготовить хлеб пшеничный ускоренным способом и определить влияние химических добавок на качество муки (см. работу б).

3. Написать отчет о проделанной работе

### **Обнаружение внешнего загрязнения хлеба кишечной палочкой**

**Цель работы:** приобрести навыки в определении наличия кишечной палочки на поверхности хлеба.

**Приборы и посуда:** термостат, микроскоп, пробирки, чашки Петри, бактериологическая петля, пипетка.

**Материалы и реактивы:** хлебобулочные изделия, хлеб ржаной или пшеничный, стерильная вода, среда Эндо.

Порядок выполнения работы:

1. На поверхность хлеба накладывают стерильный трафарет (10×10 см) и ограниченную поверхность протирают ватным тампоном, смоченным в стерильной воде. Тампон помещают в пробирку со стерильной водой. В промывочной воде определяют наличие БГКП путем посева на среду Эндо, на которой эти бактерии образуют ярко-красные блестящие колонии.

2. Написать отчет о проделанной работе.

### **Контрольные вопросы**

1. Какие факторы влияют на жизнедеятельность микроорганизмов в тесте?
2. Какие микроорганизмы входят в состав заквасок для ржаного теста?

### 3. Каковы основные виды микробов, загрязняющих муку?

## **Практическая работа №9 Санитарно-эпидемиологический и гигиенический контроль токсических элементов и пищевых добавок в продуктах питания**

**Цели работы:** изучить законодательное регулирование в области требований безопасности пищевых добавок; приобрести навыки работы с нормативными документами, устанавливающими гигиенические нормативы пищевых добавок.

### **Материальное обеспечение**

1. **ТР ТС 029/2012.** Технический регламент Таможенного союза «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств». - Введ. 2012-07-20.- Минск : Госстандарт : БелГИСС, 2012.

2. **Булдаков, А.** Пищевые добавки : справоч. / А. Булдаков. - СПб. : «Ut», 1996.

### **Задание 1. Изучение законодательного регулирования в области требований безопасности пищевых добавок**

Изучите область применения, цели принятия и структуру ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств».

Результаты оформите по форме таблицы 23.

Таблица 23 - Структура и содержание ТР ТС 029/2012

| Номер статьи | Наименование статьи | Краткое содержание |
|--------------|---------------------|--------------------|
|--------------|---------------------|--------------------|

### **Задание 2. Изучение терминов и определений в области применения пищевых добавок**

Используя ст. 4 ТР ТС 029/2012, изучите указанные определения: ароматизатор пищевой, антиокислитель, антислеживающий агент, вещество вкусоароматическое, влагоудерживающий агент, глазирователь, желирующий агент, загуститель, катализатор, консервант, краситель, наполнитель, пенообразователь, пищевая добавка, подсластитель, разрыхлитель, регулятор кислотности, стабилиза-

тор, усилитель вкуса (аромата), эмульгатор и др. (по указанию преподавателя).

Результаты отразите по форме таблицы 24.

**Таблица 24 - Термины и определения в области применения пищевых добавок**

| Термин | Определение |
|--------|-------------|
|--------|-------------|

### ***Задание 3. Решение задач***

*Задача 1.* Используя ТР ТС 029/2012, представленный в приложении Б, из приведенного ниже перечня пищевых добавок укажите разрешенные для применения при производстве пищевой продукции.

Перечень пищевых добавок: зеленый S, амарант, гуаниловая кислота, L-лейцин, ланолин, ксилит, нитрит натрия, янтарная кислота.

*Задача 2.* В результате проведенных исследований животного топленого свиного жира установлено, что продукт содержит бутилксилол в количестве 180 мг/кг. Определите назначение пищевой добавки и соответствует ли ее содержание в продукте установленным нормам.

*Задача 3.* На основании приложений 9-11 ТР ТС 029/2012 установите, какие пищевые красители допускается использовать для следующей продукции: сухие завтраки, крупа манная, зеленый горошек консервированный, фарш свиной, пиво, мед, молоко пастеризованное.

*Задача 4.* Определите, какие подсластители, согласно гигиеническим нормативам, разрешено применять для следующих продовольственных товаров: спреда, горчица, яблочный сидр, жевательная резинка. Укажите их максимально допустимый уровень в продукции.

*Задача 5.* При проведении исследований показателей безопасности майонезного соуса «Пикантный» установлено наличие камеди карайи в количестве 5,184 г/кг продукта.

Установите группу пищевой добавки и цель ее введения в данный пищевой продукт, согласно приложению 15 ТР ТС 029/2012/, сделайте заключение о соответствии данного показателя гигиеническим нормативам.

*Задача 6.* В ходе проводимых исследований показателей безопасности в чипсах обнаружена пищевая добавка Е620 в количестве 9 г/кг.

Установите группу пищевой добавки и ее целевое назначение. Согласно приложению 16 ТР ТС 029/2012, сделайте заключение о соответствии данного показателя установленным гигиеническим нормативам.

### ***Вопросы и задания для самоконтроля***

1. Какие нормативные документы регламентируют обеспечение безопасности пищевых добавок при международной торговле?
2. Какая законодательная и нормативная база по обеспечению безопасности применения пищевых добавок сформирована и действует в РФ?
3. Дайте определение понятию «пищевая добавка».
4. С какой целью применяют пищевые добавки?
5. Какие в настоящее время существуют системы кодирования пищевых добавок в разных странах мира?
6. В каких случаях пищевые добавки могут иметь потенциальную опасность?
7. Назовите продукты питания, в которых не допускается применение пищевых добавок.

### **Изучение нормативных документов и ответы на поставленные вопросы. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1293-03 "Гигиенические требования по применению пищевых добавок"**

Пищевые добавки - это природные и искусственные вещества и их соединения, специально вводимые в пищевые продукты в процессы изготовления в целях придания им определенных (заданных) свойств или сохранения качества. К вспомогательным средствам относятся любые вещества или материалы (исключая оборудование или посуду), которые преднамеренно используют при переработке сырья и производстве пищевых продуктов для выполнения определенных технологических целей и удаляют в конце процесса



производства (хотя их незначительные количества могут оставаться в готовом продукте)

В настоящее время установлены гигиенические нормативы безопасности для человека пищевых добавок и вспомогательных средств на этапах разработки нормативной документации и постановки на производство новых видов данной продукции, при ее производстве, ввозе в страну и обороте. Все вновь вводимые пищевые добавки должны подвергаться санитарно-эпидемиологической экспертизе и государственной регистрации в установленном порядке. Содержание пищевых добавок и не удаляемых остатков вспомогательных средств в пищевых продуктах должны соответствовать утвержденным требованиям нормативных и технических документов.

Для проведения экспертной оценки новой пищевой добавки и вспомогательного средства и их регистрации в установленном порядке предоставляются документы, свидетельствующие об их безопасности для здоровья человека.

- Характеристик вещества или препарата с указанием его химической формулы, физико-химических свойств, способ получения;
- содержание основного вещества, наличие и содержание полупродуктов, примесей, степень чистоты, токсикологические характеристики, в том числе метаболизм в животном организме, механизм достижения желаемого технологического эффекта, возможные продукты взаимодействия с пищевыми веществами;
- технологическое обоснование применения продукции;
- преимущества перед уже применяемыми добавками;
- перечень пищевых продуктов, в которых используются добавки и вспомогательные вещества, дозировки, необходимые для достижения технологического эффекта;
- техническая документация, в том числе методы контроля пищевой добавки (продуктов ее превращения) в пищевом продукте;
- для импортной продукции дополнительно представляется разрешение органов здравоохранения на их применение в стране-экспортере;

Импортируемые на территорию Российской Федерации пищевые добавки и вспомогательные средства должны отвечать требовани-

ям действующих в Российской Федерации санитарных правил и гигиенических нормативов, если иное не оговорено международными соглашениями. Производство, ввоз в страну, реализация и применение пищевых добавок и вспомогательных средств допускаются при наличии санитарно-эпидемиологического заключения, подтверждающего безопасность продукции и соответствия ее установленным гигиеническим нормативам.

Для производства пищевых продуктов допускаются пищевые добавки и вспомогательные средства, не оказывающие (с учетом установленных регламентов) по данным современных научных исследований вредного воздействия на жизнь и здоровье человека и будущих поколений. Использование пищевых добавок и вспомогательных средств не должно ухудшать органолептические свойства продуктов, а также снижать их пищевую ценность (за исключением некоторых продуктов специального и диетического назначения). Не допускается применение пищевых добавок для сокрытия порчи и недоброкачества сырья или готового пищевого продукта

Безопасность и качество пищевых добавок и вспомогательных средств определяется на основании санитарно-эпидемиологической экспертизы конкретного вида продукции и оценки ее соответствия нормативной документации Российской Федерации и международным требованиям-директивам ЕС и спецификациям ВОЗ, принятым Российской Федерацией. Показатели безопасности пищевых добавок и вспомогательных средств должны гарантировать безопасность пищевых продуктов, при изготовлении которых они применяются.

Для пищевых добавок, не представляющих опасность для здоровья человека, но избыточное количество которых может привести к технической порче продукта, максимальный уровень их внесения в пищевые продукты должен определяться технологическими инструкциями (ТИ). Указанное правило согласно ТИ не применимо к следующим продуктам: необработанные пищевые продукты, мед, вина, неэмульгированные масла и жиры животного и растительного происхождения, масло коровье, пастеризованные и стерилизованные молоко и сливки, природные минеральные воды, кофе (кроме растворимого ароматизированного) и экстракты кофе,

неароматизированный листовый чай, сахар, макаронные изделия, натуральная, неароматизированная пахта (кроме стерилизованной). При производстве и обороте пищевых добавок и вспомогательных средств должны обеспечиваться и соблюдаться условия их транспортировки, хранения и реализация в соответствии с требованиями санитарных правил, нормативной и технической документации. На этикетках пищевой продукции должна быть указана информация об используемых пищевых добавках: название соединения (или функциональный класс) и его международный номер индекс E от 100 до 1521 и далее. За соответствием пищевых добавок и вспомогательных средств требованиям безопасности должен быть организован производственный контроль согласно действующему законодательству и санитарным правилам.

Допускается применение пищевых добавок в виде готовых композиций - многокомпонентных смесей (комплексные пищевые добавки). Комплексные пищевые добавки - готовые для применения композиции, состоящие из пищевых добавок и пищевых компонентов (продуктов): сахара, соли, специй, крахмала. На этикетках комплексных пищевых добавок следует указывать массовую долю в продукте тех пищевых добавок, уровень которых нормируется санитарными правилами.

Для розничной продажи разрешены следующие пищевые добавки: подсластители - аспартам, ацесульфам калия, сахарин и его соли, ксилит, сорбит, стевиозид, цикламаты; консерванты - бензойная кислота, сорбиновая кислота, уксусная кислота; усилители вкуса и аромата - глутаматы, инозиты, тауматин; технологические добавки - лимонная кислота, пищевая сода; ароматизаторы и вкусовые вещества - ванилин и др.; красители пищевые, в том числе для пасхальных яиц.

Новые виды пищевых добавок и вспомогательных средств, которые не регламентированы действующими санитарными правилами, разрешаются к применению в установленном порядке после полного объема необходимых экспертных процедур.

Классификация пищевых добавок.

Для того чтобы упорядочить их использование, Европейский Совет разработал региональную систему цифровой кодификации с лите-

рой «Е». В кодексе ФАО/ВОЗ она именуется международной цифровой системой кодификации.

Каждая пищевая добавка обладает цифровым трех - или четырехзначным номером, которому предшествует литера «Е».

Индекс Е идентифицируют со словом «Европа» и со словами «essbar/edible», которые в переводе означают «съедобный».

Согласно ГОСТ 51074-2003, наличие пищевых добавок в продукте в обязательном порядке указывается на этикетке. При этом эти обозначения могут быть в качестве индивидуальных веществ или в виде функциональных названий с кодом «Е».

Итак, к основным группам пищевых добавок по данной системе относят: -красители - E100 - E182;

- консерванты - E200 и далее;
- антиоксиданты (антиокислители) - E300 и далее;
- эмульгаторы, стабилизаторы консистенции - E400 и далее;
- разрыхлители, регуляторы кислотности - E500 и далее;
- усилители аромата и вкуса - E620 и далее;
- запасные индексы - E700-E800;
- улучшители хлеба, глазирующие агенты - E900 и далее;
- подсластители; добавки для обработки муки, крахмала; добавки, предупреждающие слеживанию соли, сахара - E1000 и далее.

Большая часть пищевых добавок обладает комплексными технологическими функциями, которые обусловлены особенностями пищевой системы. К примеру, для добавки E339 (фосфаты натрия) характерны свойства эмульгатора, регулятора кислотности, стабилизатора, водоудерживающего агента и комплексообразователя.

Группы пищевых добавок согласно «Гигиеническим требованиям по применению пищевых добавок» выделяют следующие группы пищевых добавок:

- антиокислители;
- консерванты;
- красители;
- соли, кислоты и основания;
- фиксаторы цвета;
- глазирователи;
- подсластители;
- улучшители для хлеба и муки;

-ароматизаторы;

Пищевые добавки, предупреждающие процессы комкования и слеживаяния; растворители-наполнители и носители-наполнители; эмульгаторы, стабилизаторы консистенции, загустители, связующие агенты и текстураторы; пищевые добавки, которые усиливают и модифицируют аромат и вкус продукта.

Цель занятия:

Овладеть методами гигиенического контроля за использованием добавок в пищевой промышленности и содержания их в продуктах питания.

Основные задачи практических занятий:

1. Знать классификацию и назначение пищевых добавок.
2. Знать гигиенические требования к добавкам.
3. Знать методы определения остаточных количеств в продуктах питания.
4. Уметь осуществлять гигиенический контроль за использованием добавок в пищевой промышленности.
5. Уметь решать вопросы о пригодности для питания населения продуктами, полученных с использованием пищевых добавок

Вопросы и задания

Вариант №1

Правила применения и хранения пищевых красителей.

Вариант №2.

Какие применяют антибиотики в качестве пищевых добавок и гигиенические требования к их применению?

Вариант №3.

1. Укажите особенности контроля за применением пищевых добавок в практической работе врача по гигиене питания.
2. Как осуществлять контроль на пищевом предприятии за применением добавок?

Вариант №4.

Какие вопросы следует выяснить врачу при осуществлении гигиенического контроля за использованием пищевых добавок на кондитерском производстве?

Вариант №5.

Для каких целей применяют фосфаты и к какой группе они относятся?

Вариант №6.

Для каких целей применяются нитраты в производстве колбасных изделий и к какой группе пищевых добавок они относятся?

Вариант №7.

1. К какой группе пищевых добавок относится глутаминат натрия и каковы его свойства?

2. В каких дозах применяется глутаминат натрия?

3. Какие Вы знаете еще пищевые добавки - «оживители», усилители вкуса

### Список рекомендуемой литературы

1. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. Руководство к практическим занятиям по биологической химии: Учебник. - М.: Высшая школа, 1988. – 239 с.
2. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа. – М.: Наука, 1969. – 740 с.
3. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия: Учебник. -М.: Высшая школа, 2000. - 479с.
4. Кнорре, Д. Г. Биологическая химия [Текст] : учебник для студентов вузов / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. - 3-е изд., испр. - М. : Высшая школа, 2003. - 479 с.
5. Ленинджер А. Основы биохимии: в 3-х т. Т. 1-3. Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. – 1055 с.
6. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений: Учебник. –М.: Агропромиздат, 1985. –255 с.
7. Практикум по биохимии: Учебник / Мешковой Н.П. и Северина С.Е.; Под ред. Н.П. Мешковой. – М.: МГУ. 1979. –430 с.
8. Руководство по лабораторным занятиям по биологической химии/ Под ред. Березова Т.Т. –М.: Медицина, 1976. –294 с.
9. Филипович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянов Г.А. Практикум по общей биохимии: Учебник. – М.: Просвещение, 1982. – 311 с.
10. Биохимия [Текст] : учебник / Под ред. В. Г. Щербакова. - 2-е изд., перераб. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2003. - 440 с

11. Чиркин, А. А. Практикум по биохимии [Текст] : учебное пособие / А. А. Чиркин. - М. : Новое знание, 2002. - 512 с