**Министерство образования Российской Федерации**

**Московский Государственный Университет Прикладной Биотехнологии**

**Ветеринарно-санитарный факультет**

**Кафедра микробиологии и иммунологии**

**Курсовая работа**

**тема:**

**Микробиологические процессы при выработке варено-копченых и сырокопченых колбас**

Выполнил:

студент 4 курса 8 группы

***Успенский Игорь***

Проверила:

**проф. *Корнелаева Раиса Петровна***

Москва 2006

Введение

Колбасные изделия представляют собой продукт, который предназначен для употребления в пищу без дополнительной термической обработки. Поэтому к колбасным изделиям и технологическому процессу их изготовления предъявляют повышенные санитарные требования.

В процессе приготовления колбасных изделий колбасный фарш обсеменяется микроорганизмами, попадающими в него в различных источников. Если бактериальная обсемененность высокая, то существует опасность ее последующего отрицательного влияния на производственный процесс, что может привести к ухудшению качества получаемых продуктов и их микробной порче. Кроме того, это может и отразиться и на сроках хранения продуктов.

Степень исходной микробной обсемененности колбасного фарша зависит и от санитарно-гигиенических условий производства и соблюдения технологических режимов.

В силу различий технологических процессов выработки вареных и копченых колбасных изделий состав микрофлоры этих продуктов изменяется неодинаково. При нарушении сроков и режимов хранения готовых колбасных изделий в результате протекающих в них микробиологических процессов может ухудшаться их качество.

*Обсеменение колбасного фарша микроорганизмами*

В колбасный фарш микроорганизмы могут попадать из различных источников на всех основных этапах технологического процесса его приготовления: из сырья, при подготовке мяса (разрубке туш, обвалке, жиловке), посоле, составлении колбасного фарша, наполнении колбасной оболочки фаршем.

Сырье. К сырью в колбасном производстве предъявляют высокие санитарные требования, поскольку оно является одним из источников микробного обсеменения.

Мясо и субпродукты имеют различную степень обсеменения микроорганизмами в зависимости от предубойного состояния животных, от которых они получены. Для выработки колбасных изделий применяют сырье, полученное от здоровых, упитанных животных.

Обсемененность микроорганизмами сырья, благополучного в санитарном отношении (т. е. полученного от здоровых животных), также может быть различной в зависимости от санитарно-гигиенических условий его получения, хранения, транспортирования и предварительной обработки, а также температурных режимов. Например, размороженное мясо содержит больше микробов, чем охлажденное, так как в процессе оттаивания мороженых продуктов создаются благоприятные условия дм размножения микроорганизмов. При этом микробная обсемененность поверхности размороженного мяса зависит от санитарно-гигиенических условий и соблюдения технологических режимов оттаивания.

В несвежем и ослизшем, а также с загрязненной поверхностью (кровь, содержимое желудочно-кишечного тракта и др.) сырье микроорганизмы содержатся в большом количестве. В производство такое сырье допускают только после предварительной тщательной санитарной обработки (зачистка, промывание и т. д.).

Подготовка мяса. Количество микроорганизмов в мясе резко увеличивается при разрубке туш, обвалке, жиловке, так как эти операции выполняют вручную. Например, только после разрубки к обвалки обсемененность мяса микроорганизмами иногда возрастает в 100 раз и более.

Обычно мышечная ткань при ненарушенной ее целостности представляет собой значительное препятствие для внедрения микробов с поверхности мясной туши в толщу мышечной ткани. Несмотря на то, что на поверхности туши иногда находится значительное количество микроорганизмов, они довольно медленно проникают в глубь тканей.

В процессе разрубки, обвалки и жиловки мышечная ткань обнажается и измельчается, вследствие чего увеличивается площадь ее соприкосновения с внешней средой, и неизбежно попадание в мясо различных сапрофитных и условно-патогенных (гнилостные неспорообразующие и споровые бактерии, энтерококки, актиномицеты, споры плесневых грибов, дрожжи, Е. сой, бактерии рода Proteus, стафилококки и др.), а иногда и патогенных микроорганизмов (сальмонеллы и др.). Микроорганизмы попадают в мясо с рук рабочих, со спецодежды, инструментов, обвалочных столов, инвентаря, тары, из воздуха производственных помещений и др. Происходит также перераспределение микроорганизмов, имеющихся на поверхности туши, на обнажаемые при разрезе новые (внутренние) участки мышечной ткани. Степень обсеменения мяса зависит от величины кусков, на которые разделяется туша: чем больше отношение поверхности к объему куска (т. е. меньше его величины), тем больше степень обсемененности микроорганизмами.

В целях максимального снижения степени микробного обсеменения сырья необходимо, чтобы процесс подготовки был кратковременным (не более нескольких часов) и проводилось при пониженной температуре производственных помещений. Кроме того, следует строго соблюдать санитарно-гигиенический режим производства (тщательная санитарная обработка помещений, обвалочных столов, инструментов, тары,спецодежды, соблюдение правил личной гигиены рабочими и т. д.).

Посол. При посоле дальнейшее увеличение количества микроорганизмов в мясе происходит главным образом в результате попадания вместе с посолочной смесью (или рассолом) различных солеустойчивых и солелюбивых микроорганизмов (Вас. subtilis, Bac. mesentericus, пигментные кокки, дрожжи, споры плесневых грибов, актиномицеты и др.). Для исключения этого источника дополнительного загрязнения мяса микроорганизмами рекомендуется для посола применять стерильную посолочную смесь.

Микроорганизмы попадают в мясо также с оборудования и инвентаря, используемого при посоле.

При соблюдении температурного режима (температура не выше 2—4°С) и сроков посола (не более 1—3 сут. для вареных и не более 5—10 сут для сырокопченых колбас) дальнейшего значительного увеличения количества микроорганизмов не происходит.

Составление колбасного фарша. В процессе изготовления колбасного фарша происходит дальнейшее увеличение количества микроорганизмов в результате обсеменения при выполнении механических операций (измельчение мяса на волчке и куттере, обработка фарша в смесительной машине), с оборудования, рук рабочих, тары, инвентаря, воздуха помещений. Соблюдение установленного санитарного режима при выполнении этих операций будет способствовать значительному снижению степени микробного обсеменения фарша

Дополнительное обсеменение фарша возможно при добавлении шпика и специй. Со специями, особенно с перцем, в фарш попадает значительное количество споровых бактерий. Как показали исследования, микробная обсемененность перца исчисляется миллионами или даже десятками миллионов микробов в 1 г. Подавляющая масса микробов, находящихся в перце, приходится на споровые виды: Вас. subtilis, Bac. mesentericus, Bac. cereus, Bac. mycoides и др. О влиянии специй на обсемененность колбасного фарша споровыми бактериями можно судить по данным таблицы.

Влияние специй на обсемененность колбасного фарша

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер пробы | Количество споровых бактерий в 1 г сырых колбасных фаршей | | Номер пробы | Количество споровых бактерий в 1 г сырых колбасных фаршей | |
| до внесения специй | после внесения специй | До внесения специй | после внесения специй |
| 1  2  3 | 50  20  310 | 1230  5800  1500 | 4  5  6 | 200  20  40 | 2500  1800  3000 |

Использование стерилизованных специй позволяет устранить этот источник микробного загрязнения фарша.

Наполнение колбасной оболочки фаршем. При набивке колбасных батонов возможно дальнейшее обсеменение фарша микроорганизмами Одним из источников этого обсеменения является оборудовании (шприцы). Тщательная санитарная обработка (мойка и дезинфекции) шприцев позволяет значительно снизить степень микробного обсеменении Другим источником микробного обсеменения фарша при набивке может служить колбасная оболочка, Применяют естественные (мокросоленые, пресно-сухие) и искусственные оболочки, Естественные кишечные оболочки загрязнены значительным количеством различных микроорганизмов, многие из которых являются возбудителями порчи мяса и мясопродуктов. В мокросоленых кишечных оболочках обычно в большом количестве содержатся галофильные и солеустойчивые микроорганизмы (Bac. halophilum, Micr. carneus, Micr. roseus halophilus? Micr. citreus, Micr. albus, Sarcina flava, Bac. subtilis, Bac. mesentericus, Bac. mycoides, актиномицеты, плесени и др.). В пресно-сухих кишечных оболочках также часто находятся споровые аэробные гнилостных бациллы (Bac. subtilis, Bac. mesentericus и др.), актиномицеты, споры плесневых грибов и различные кокковые бактерии. Предварительная санитарная обработка кишечной оболочки перед использованием (очистка, дезинфекция) резко снижает микробное загрязнение. Искусственные колбасные оболочки более гигиеничны. При соблюдении санитарных условий хранения и транспортировки в них обычно содержится очень незначительное количество микроорганизмов.

По сравнению со шприцеванием набивка фарша в оболочку вручную при приготовлении штучных колбас (слоеная, языковая и др.) приводит к более значительному микробному обсеменению. При исследовании таких колбас в 35,5% случаев выделяли Е. соli и в 20% Proteus vulgaris. Тогда как в колбасах машинной набивки Proteus vulgaris не был обнаружен совсем, а Е. со1i — только в 5,8%. случаев.

После набивки фарша в оболочку какое-либо дополнительное микробное обсеменение извне исключено.

При доследующих технологических операциях, в зависимости от способа приготовления колбас, происходят определенные измененybb микрофлоры фарша.

*Изменение микрофлоры фарша при выработке вареных и полукопченых колбасных изделий*

При выработке вареных и полукопченых изделий после наполнении оболочек фаршем колбасные батоны подвергают осадке, обжарке, варке и охлаждению. Полукопченые колбасы дополнительно коптят и сушат.

Осадка. При соблюдении технологического режима (температура не выше 2°С, относительная влажность 85— 95% и продолжительность не более 2—4 ч) количественный и качественный состав микрофлоры фарша почти не изменяется. Повышение температуры и увеличение продолжительности осадки может привести к значительному размножению микроорганизмов (в том числе иногда Cl. perfringens и других токсигенных бактерий) и увеличению общей микробной обсемененности.

Обжарка (обработка горячим дымом температурой 80-110°С в течение 0,5—*2ч).* Полукопченые колбасы подвергают обжарке в течение 60-90 мин. при 90 ± 10°С. Окончание обжарки определяют по высыханию оболочки и покраснению поверхности. При этом процессе оболочка (а частично сам фарш с краев) пропитывается составными частями дыма, подсушивается. В результате этого создаются условия, неблагоприятные для размножения микробов на поверхности колбасных батонов. Под влиянием горячего дыма фарш нагревается. В колбасных батонах небольшого диаметра (3-5 см) температура в центре повышается до 40—^50°С, а батонов большого диаметра (от 5—15 см и больше) — от 30 до 40°С. Следовательно, в батонах большого диаметра создаются условия, благо-приятные для размножения микробов. Поэтому количество микроорганизмов в глубине батонов несколько возрастает. В связи с этим очень важно правильно соблюдать cроки обжарки, поскольку при их удлинении возможно значительное увеличение количества микроорганизмов в фарше.

Варка. К концу процесса варки в глубине батонов температура в зависимости от вида колбас достигает 68—75°С. При таком температурном режиме погибает до 90% и более микробов, содержащихся в сырых колбасах. Варку полукопченых колбас проводят паром при 80 ± 5°С до повышения температуры в центре батона до 71 ± *1°С.* Продолжительность варки в зависимости от диаметра батона 40-80 *мин.* При этом отмирают все неспоровые патогенные и условно-патогенные бактерии (Е. соli, Proteus vulgaris), большинство сапрофитных неспорообразующих микроорганизмов (кокки, молочнокислые бактерии, дрожжи и др.), вегетативные формы и часть спор спорообразующих бактерий. Под влиянием высокой температуры в процессе варки резко изменяется количественный и групповой состав микрофлоры колбасного фарша.

До варки групповой состав микрофлоры фарша колбасных батонов очень разнообразен и обычно представлен различными видами как неспорообразующих, так и спорообразующих микроорганизмов. Общее количество микробов в 1 г сырого фарша составляет десятки тысяч и более микробных клеток,

После варки в 1 г фарша обычно содержатся только сотни или несколько тысяч микроорганизмов. В глубине батонов количество микроорганизмов бывает несколько больше, чем в поверхностных слоях, которые более интенсивно прогреваются во время варки.

Остаточная микрофлора колбасных изделий после варки состоит в основном из спорообразующих палочковидных сапрофитных бактерий (Вас. subtilis, Bac. mesentericus, C. sporogenes и др.)„ и незначительного количества неспоровых сапрофитных бактерий, главным образом кокков. Количество неспорообразующих микробов в вареных колбасах большого диаметра составляет обычно не более 10—12%, в батонах небольшого диаметра— только *4*—7%, а в сосисках — всего 1—*3%* от общего количества микробов, выживших при варке.

Копчение и сушка. Групповой состав микрофлоры полукопченых колбас после копчения и сушки не изменяется. Общее количество микроорганизмов несколько уменьшается, поскольку часть микробов, выживших при варке, отмирает в процессе дополнительной обработки.

Количественное содержание остаточной микрофлоры вареных и полукопченых колбас может колебаться в значительных пределах в зависимости от исходного количества и группового состава микрофлоры сырого фарша, правильности соблюдения термического режима варки, вида, сорта колбас и др. Так, общая микробная обсемененность мясных колбасных изделий составляет в среднем от нескольких десятков до нескольких сотен или нескольких тысяч микробных клеток в I г, тогда как в ливерных колбасах может содержаться от нескольких десятков тысяч до нескольких сотен тысяч микробов в 1 г. В колбасах Ш сорта всегда содержится больше микроорганизмов, чем в колбасных изделиях I и П сортов,

При соблюдении всех санитарных норм и технологических режимов производства общая микробная обсемененность вареных и полукопченых колбас I и Я сортов должна быть не выше 1000 и колбас III сорта не выше 2000 микробных клеток в 1 г.

В колбасах не должны содержаться патогенные и условно-патогенные микроорганизмы (Е. соli и Proteus vulgaris). Большое количество микроорганизмов в вареных и полукопченых колбасах (более 1000—2000 микробных клеток в 1 г) или наличие Е. соli и Proteus vulgaris независимо от общего микробного обсеменения указывает на нарушение санитарных норм, приводящих кзначительному микробному загрязнению фарша в процессе приготовления колбас, или на несоблюдение технологических режимов осадки, обжарки или варки.

Безоболочные виды колбасных изделий (мясные хлеба, карбонад и др.) после надлежащей термической обработки также имеют незначительную общую микробную обсемененность и не должны содержать патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Групповой состав их микрофлоры представлен главным образом споровыми формами сапрофитных микроорганизмов и единичными кокковыми бактериями. После термической обработки эти продукты часто получаются практически стерильными. Но, поскольку они не имеют защитной оболочки, при несоблюдении мер предосторожности на конечных операциях (извлечение из форм, внутризаводских перемещений, упаковка в бумагу или целлофан) их поверхность легко может быть обсеменена микроорганизмами, наиболее часто встречающимися в колбасном производств (Е. соli, Proteus vulgaris споровыми гнилостными бактериями, кокками). В этих случаях на поверхности упакованной продукции количество микробов достигает сотен тысяч на 1 см2 и во всех пробах обнаруживают Е. соli.

*Изменение микрофлоры фарша при выработке копченых колбас*

В зависимости от способа изготовления копченые колбасы подразделяют на сырокопченые и варено-копченые.

Сырокопченые колбасы. При изготовлении сырокопченых колбас колбасные батоны подвергают длительной (5—7 сут) осадке, холодному копчению (при 18—25°С) и сушке (до 1,5 мес). Разновидностью сырокопченых колбас являются сыровяленые (вяленые) колбасы, которые после осадки сушат без предварительного копчения (вяление).

Поскольку в процессе изготовления сырокопченых колбас не применяют тепловой обработки, обеспечивающей уничтожение неспоровых микроорганизмов, микрофлора этих колбас изменяется иначе, чем вареных и полукопченых.

В ходе технологического процесса изготовления сырокопченых и вяленых колбас создаются условия, хотя и замедляющие, но не исключающие жизнедеятельность микроорганизмов в продукте. Поэтому в фарше этих колбас размножаются некоторые группы микроорганизмов. В результате их размножения общая микробная обсемененность фарша постепенно возрастает во время длительной осадки, копчения (у сырокопченых колбас) и в начале процесса сушки, достигая к 10—20-му даю созревания (сушки) продукта миллионов и более микробных клеток в 1 г. Затем общее количество микроорганизмов постепенно снижается и к концу сушки (примерно через 30—50 дней) уменьшается в несколько раз.

При созревании колбас их микрофлора изменяется не только количественно, но и постепенно качественно.

Групповой состав микрофлоры исходного фарша сырокопченых и сыровяленых колбас очень разнообразный. Основную массу микрофлоры составляют грамотрицательные бактерии, в том числе из групп кишечных палочек (Е. соli и др.) и рода Proteus; гнилостные споровые аэробные бациллы (Вас. subtilis, Bac. mesentericus и др.), анаэробные клостридии, энтерококки, стафилококки. Кроме этих трупп микроорганизмов в фарше обычно содержатся в небольших количествах дрожжи, микрококки и молочнокислые бактерии.

В процессе созревания колбас их групповой состав микрофлоры изменяется и становится более однородным. Происходит постепенное увеличение количества молочнокислых бактерий, микрококков, а в некоторых колбасах и дрожжей, г.е. тех групп микроорганизмов, содержание которых в начале сушки было незначительным. Обычно вконце созревания сырокопченых и вяленых колбас молочнокислые бактерии я микрококки составляют наиболее значительную часть общего количества микрофлоры продукта. Грамотрицательные бактерии, преобладавшие в начальный период процесса, по мере созревания колбас постепенно отмирают: бактерии рода Proteus отмирают и не обнаруживаются в фарше примерно к 18—*20—*30-му дню, а Е. соli — через 30—50 дней сушка. В готовых созревших колбасах этимикроорганизмы, как правило, всегда отсутствуют.

Данные, характеризующие изменения количественного и качественного состава микрофлоры, которые происходят в процессе созревания сыровяленых колбас, представлены в таблице.

Изменение количественного и качественного состоя микрофлоры происходящие в процессе созревания сыроваленых колбас

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Продолжительность созревания, дни | | | |
| 1 | 10 | 13 | *36* |
| Общее количество микро-организмов, млн. в 1 *г* фарша | Меньше 1 млн. | 8—10 | 4—5 | Меньше 1 млн. |
| Содержание молочнокислых бактерий, % | 40 | 70 | 75 | 80 |
| Наличие Proteus vulgaris | + | + | -- | -- |
| Наличие Е. со1i | + | + | + | -- |
| Наличие спорообразующих бактерий | + | + | + | + |

Изменение состава микрофлоры сырокопченых и вяленых колбас связано с тем, что на состав и развитие микроорганизмов определенное воздействие оказывают обезвоживание среды и повышение концентрации соли, коптильные вещества (на поверхностную микрофлору сырокопченьгх колбас), изменение рН продукта и микробный антагонизм.

В процессе копчения продукт пропитывается антисептическими веществами коптильного дыма, подавляющими развитие микроорганизмов. Однако к действию коптильных веществ наиболее чувствительны только неспорообразующие микроорганизмы, особенно Е. соli и Proteus vulgaris, стафилококки и вегетативные формы споровых микроорганизмов. Споры аэробных бацилл, анаэробных клостридий и плесени обычно при копчении не погибают.

Кроме того, значительные количества коптильных веществ проникают только в поверхностные слои фарша, а в центре колбасных батонов их концентрация обычно в 10—15 раз ниже. Следовательно, коптильные вещества играют лишь второстепенную роль в подавлении жизнедеятельности микрофлоры фарша. Бактерицидный эффект копчения заключается главным образом в создании бактерицидной зоны в поверхностных участках продукта, защищающей его от проникновения и размножения микроорганизмов извне.

Существенное, определяющее воздействие на развитие микроорганизмов в сырокопченых и вяленых колбасах оказывает обезвоживание продукта и повышение вследствие этого концентрации соли как фактора, определяющего величину осмотического давления в фарше. Обезвоживание и повышение концентрации соли происходит по всей толще продукта неравномерно. Поэтому в центральных, менее обезвоженных участках колбасных батонов благоприятные условия для размножения микроорганизмов сохраняются значительно дольше, чем в поверхностных слоях. По мере обезвоживания и увеличения в связи с этим концентрации соли количество микроорганизмов начинает уменьшаться. При концентрация соли 10% и более происходит резкое снижение количества микробов в колбасном фарше. Дальнейшее уменьшение количества микроорганизмов находится в прямой зависимости от повышения концентрации соли.

Существенное влияние на изменение группового состава микрофлоры при созревании колбас оказывают антагонистические взаимоотношения различных микроорганизмов. Многие штаммы L. plantarun, L. breve, Pediococcus cerevisiae и других молочнокислых бактерий, выделяемые из копченых колбас, обладают выраженным антагонизмом в отношении тест-культур Е. соli и Proteus vulgaris, гнилостных аэробных бацилл (Bac. subtilis и др.) стафилококков. Штаммы дрожжей из рода Penicillium оказывают антагонистическое действие на плесневые грибы из родов Сiadosporium, Aspergillus, Mucor, Endomyces lactis.

Микробы-антагонисты обладают значительной солеустойчивостью, что позволяет им более активно размножаться в процессе постепенного обезвоживания продукта. В результате жизнедеятельности молочнокислых бактерий и микрококков происходит постепенное вытеснение грамотрицательных бактерий, аэробных гнилостных бацилл, стафилококков. Антагонизм молочнокислых бактерий и микрококков обуславливается выработкой антибиотических веществ и сдвигом рН фарша в кислую сторону, неблагоприятную да размножения гнилостных и условно-патогенных бактерий. Активное размножение молочнокислых бактерий и микрококков объясняет факт постепенного увеличения общего количества микроорганизмов в первый период созревания колбас, когда значительная часть других микроорганизмов фарша отмирает под влиянием обезвоживании повышенной концентрации соли, действия коптильных веществ и антагонизма этих микробов.

Таким образом, типичными представителями микрофлоры готовых созревших сырокопченых и сыровяленых колбас являются некоторые виды молочнокислых бактерий (L. plantarum, L. breve, Pediococcus cerevisae и др.) и различные виды микрококков. В некоторых сыровяленых и копченых колбасах (сервелат, салями и др.),кроме указанных групп микроорганизмов к типичной микрофлоре относятся дрожжи преимущественно из родов Debaryomyces и Candida составе микрофлоры сырокопченых и вяленых колбас в незначительных количествах присутствуют споровые аэробные бациллы (Вас. subtilis, Bac. mesentericus и др.), анаэробные клостридии (С. sporogenes, C. putrificus) и другие сапрофитные микроорганизмы.

Основная микрофлора сырокопченых и сыровяленых колбас (молочнокислые бактерии, микрококкки, дрожжи) оказывает существенное влияние на созревание и формирование специфического аромата, вкуса, цвета и других органолептических свойств продукта

Варено-копченые колбасы. В отличие от сырокопченых варено-копченые колбасы подвергают менее длительной осадке (1—*2* сут) горячему копчению (при 50— 60°С), варке, вторичному копчению (при 32—45°С) и менее продолжительной сушке (7—15 сут). Особенности технологического процесса влияют на изменение состава микрофлоры колбас при их изготовлении.

Во время осадки и первичного копчения, как и при изготовлении сырокопченых колбас, происходит размножение некоторых групп микроорганизмов (микрококки, молочнокислые бактерии) и количество микробов в фарше увеличивается.

При варке значительная часть микрофлоры фарша погибает. В том числе отмирают Е. coli,Proteus, часть молочнокислых бактерий, микрококков и споровых бактерий.

В процессе вторичного копчения и сушки часть микроорганизмов, выживших при варке, главным образом молочнокислые бактерии и микрококки, размножаются. Однако в сравнении с сырокопчеными колбасами общее количество микроорганизмов в фарше готовых варено-копченых колбас значительно ниже.

Групповой состав микрофлоры варено-копченых колбас в конце сушки (созревания) почти не отличается от группового состава микрофлоры сырокопченых колбас. В нем преобладают те же группы микроорганизмов (микрококки, молочнокислые бактерии), жизнедеятельность которых играет определенную роль в процессе формирования цвета, специфического аромата и вкуса продукта.

Для улучшения качества копченых мясопродуктов в настоящее время в качестве ингибирующих факторов часто прибегают к введению в рецептуру различного рода добавок, таких как стартовые культуры микрорганизмов и фитопрепараты. Стартовые культуры представляют собой сублимированную смесь специально подготовленных живых активных клеток лактобактерий, микрококков, педиококков, стафилококков, дрожжей рода Debariomycens и др. видов микроорганизмов. Стартовые культуры целенаправленно вытесняют нежелательную бактериальную микрофлору, а благодаря образованию молочной кислоты и восстановлению нитрата обеспечивают контролируемый ход созревания продукта.

Антагонистическое воздействие стартовых культур на гнилостную микрофлору мясного фарша является чрезвычайно важным фактором улучшения его санитарно-гигиенического состояния. Споровые культуры при добавлении в мясо активно размножаются, они преобладают над исходной микрофлорой и тормозят рост нежелательных микроорганизмов. Негативное влияние заключается также и в снижении рН сырья за счет образования молочной кислоты и накопление в процессе жизнедеятельности ингибирующих веществ, антибиотиков, перекисей в т.п. Применение стартовых культур микроорганизмов в процессе производства мясопродуктов способствует выпуску доброкачественной продукции, увеличению сроков их созревания и хранения.

*Изменение микрофлоры колбасных изделий при хранении*

Стойкость колбасных изделий при хранении неодинакова, что обусловлено рядом факторов: степенью обезвоживания, содержанием поваренной соли, значением рН, консистенцией, пропиткой коптильными веществами, химическим составом фарша и в значительной степени количественным и качественным составом остаточной микрофлоры.

Наиболее устойчивы при хранении сырокопченые и сыровяленые колбасы, так как они содержат наименьший процент влаги, имеют более плотную консистенцию и наибольшую концентрацию соли, в составе их микрофлоры почти отсутствуют гнилостные бактерии. Кроме того, копченые колбасы содержат много антисептических веществ коптильного дыма.

Вареные колбасы содержат более 50% влаги, слабо посолены, имеют менее плотную консистенцию, лишь в незначительной степени пропитаны коптильными веществами (при обжарке), поэтому они значительно менее стойки, при хранении, чем копченые (сырокопченые, сыровяленые и др.). Из вареных колбас наименее стойки субпродуктовые колбасы, которые не подвергают обжарке, имеют наиболее рыхлую консистенцию и более высокий, чем мясные, рН (6,7—6,9 вместо 6,2-6,4 у мясных).

При неправильном хранении остаточная микрофлора' колбас и микроорганизмы, попавшие на их поверхность в процессе хранения, могут размножаться и вызывать порчу этих продуктов. Различают несколько видов порчи колбас: гниение, прогорклость, кислое брожение, плесневение.

Гниение. Гниение колбас обусловлено жизнедеятельностью тех же неспорообразующих и спорообразующих гнилостных бактерий, которые вызывают гниение мяса (Ps. fluorescens, Ps. pyocyanea, Proteus vulgaris, Bac. subtilis, C. sporogenes и др.) В отличие от гниения мяса гнилостное разложение колбас наступает одновременно по всей толще батона. Оно сопровождается, как и при гниении мяса, выделением дурно-пахнущих продуктов разложения белков, жиров и углеводов. Под влиянием выделяющихся газообразных продуктов жизнедеятельности гнилостных бактерий колбасный фарш приобретает более рыхлую консистенцию. В копченых колбасах специфический гнилостный запах маскируется запахом коптильных веществ, что затрудняет обнаружение признаков порчи продукта.

Прогорклость колбас. Этот вид порчи чаще всего наблюдается при длительном хранении копченых колбас. Прогорклость является результатом размножения в продукте микроорганизмов, обладающих липолитическими свойствами (Ps. fluorescens, Bact. prodigiosum, Endomycens, Cladosporium herbarum и др.).

Липолитические микроорганизмы расщепляют жиры на глицерин и жирные кислоты, которые окисляются, образуя альдегиды и кетоны, придающие продукту прогорклый вкус и едкий запах.

Кислотное брожение. Возбудителями кислотного брожения колбас являются *те же* микроорганизмы, которые вызывают аналогичный порок в мясе, молочнокислые бактерии, дрожжи и др. Этот вид порчи обычно характерен для вареных мясных и ливерных колбас, содержащих большое количество веществ, богатых углеводами (мука, растительные примеси) и имеющих высокую влажность. В копченых колбасах этот вид порчи встречается редко. В результате накопления органических кислот, образующихся при разложении микроорганизмами углеводов, продукт приобретает кислые запах и вкус. Консистенция и цвет фарша не изменяются. В дальнейшем при широком доступе кислорода может появиться серовато-зеленая окраска фарша.

Плесневение. Плесневение — наиболее распространенный вид порчи сырокопченых и сыровяленых колбас при неправильном хранении этих продуктов в условиях повышенной влажности. Обладая способностью хорошо размножаться при повышенном осмотическом давлении и устойчивостью к коптильным веществам, плесневые грибы (Endomicens lactis, Cladosporium herbarum и др.) способны размножаться на увлажненных оболочках колбасных батонов в результате чего образуются сухие или влажные налеты. При неплотной набивке плесени могут прорастать внутрь батонов.

*Бактериологическое исследование колбасных изделий*

Колбасные изделия — продукты переработки мяса, которые употребляют в пищу без дополнительной подготовки, так как мясо, используемое для их изготовления, подвергают специальной механической, физико-химической и тепловой обработке. К этим изделиям относятся фаршированные, вареные, полукопченые, варено-копченые, сырокопченые, ливерные и кровяные колбасы, мясные хлебы, сосиски, сардельки, паштеты, зельцы, студни. Копчености — мясные изделия, приготовленные из свинины, говядины, баранины и мяса других видов убойного скота и птицы и предназначенные для непосредственного употребления. В зависимости от технологии изготовления их подразделяют на сырокопченые, вареные, варено-копченые, запеченные, копчено-запеченные.

Колбасные изделия представляют собой благоприятную среду для развития различных микроорганизмов, вызывающих микробную порчу: молочнокислых термофильных бактерий (закисание), плесневых грибов (плесневение) и протеолитических бацилл (гниение). В наименьшей степени подвержены порче сырокопченые изделия из-за низкого содержания влаги (20—30 %). Быстрее других портятся варено-копченые и вареные колбасные изделия влажностью соответственно более 40 и 50 %, особенно при нарушениях температурно-влажностного режима хранения.

Для приготовления колбасных изделий применяют различное сырье и вспомогательные материалы: мясо, субпродукты, жир, кровь, молочные, яичные и мучные продукты, белковые стабили-заторы, посолочные смеси (соль, сахар, нитраты), пряности, лук, чеснок и другие компоненты. Они являются источниками бактериального обсеменения готовой продукции. Микрофлора колбасных изделий представлена молочнокислыми бактериями, дрожжами, БГКП, присутствуют сальмонеллы, протей, золотистый стафилококк, клостридии.

Микробиологический контроль колбасных изделий и продуктов из мяса (вареные, копчено-вареные, копчено-запеченные, запеченные, жареные, сырокопченые) проводят:

периодически, но не реже одного раза в 10 дней;

по требованию контролирующих организаций;

в случаях установления использования подозрительного по доброкачественности сырья и вспомогательных материалов, нарушения температурного или санитарно-гигиенического режима при изготовлении продукции.

Бактериологический анализ колбасных изделий и продуктов из мяса осуществляют в соответствии с ГОСТ 9958—81 и Санитарными правилами и нормами (СанПиН 2.3.2.560—96). Исследования направлены на выявление четырех групп микроорганизмов:

санитарно-показательных — мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАнМ) и бактерий группы кишечных палочек (колиформы);

условно-патогенных микроорганизмов, к которым относятся E. coli, S. aureus, бактерии родов Proteus, B. cereus и сульфитредуцирующие клостридии;

патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл;

микроорганизмов порчи — в основном это дрожжи и плесневые грибы.

Порядок исследования представлен на рисунке.

*Отбор и подготовка проб к анализу*

Отбирают точечные пробы в соответствии с ГОСТ 9792^-73, ГОСТ Р 51447—99 и по общепринятым методам по ГОСТ 26668-85.

Особое внимание должно быть уделено обеспечению стерильности посуды, инструментов, материалов, которые соприкасаются с продуктом во время отбора проб. Стерилизацию осуществляют:

насыщенным паром в течение 30 мин в автоклаве при 121±1°С;

горячим воздухом в стерилизаторе;

с принудительной циркуляцией воздуха при температуре от 170 °С в течение 60 мин;

без принудительной циркуляции воздуха при температуре 180—185 "С в течение 15 мин и 160—165 *°С в* течение 120 мин.

Допускается обрабатывать инструменты погружением в этанол с последующим фламбированием.

Пробы продуктов для микробиологического исследования отбирают раньше проб для физико-химического и органолептического анализа асептическим способом, исключающим микробное загрязнение продукта из окружающей среды, в стерильную посуду, горло которой предварительно обжигают в пламени горелки, с помощью стерильных инструментов.

Масса (объем) пробы установлена нормативно-технической документацией на конкретный вид продукции, достаточной для проведения полного микробиологического анализа. От продукции в транспортной или потребительской таре, масса (объем) которой больше массы (объема) пробы, а также от неупакованной продукции отбирают точечные пробы из разных мест и с различной глубины, а также с поверхностных слоев, соприкасающихся с тарой.

Если масса (объем) пробы продукта не установлена в нормативно-технической документации на конкретный вид продукции, то от каждой попавшей в выборку упаковочной единицы продукции в потребительской таре отбирают не меньше 1 шт., продукции в транспортной таре — до 1000 г (1000 см3).

От кусковой продукции массой нетто до 1000 г отбирают точечные пробы ложкой, пинцетом или другим инструментом в зависимости от вида и размера кусков и помещают в посуду или упаковывают в фольгу. От кусковой продукции массой нетто более 1000 г пробы отбирают одним из следующих методов:

отрезают или вырезают часть продукта ножом, пилой или другим инструментом. У изделий квадратной формы разрез делают перпендикулярно к грани, продольной формы — перпендикулярно к продольной оси, шарообразных изделий — клинообразно;

продукт в нескольких местах режут ножом и с поверхности разреза и из глубины продукта скальпелем берут необходимое количество кусков, которые пинцетом переносят в посуду с широким горлом;

срезают поверхностный слой продукта толщиной от 0,5 до 1 см ножом или проволокой, при помощи пробоотборника (буравчика или зонда) и выдавливают продукт в посуду с широким горлом до тех пор, пока не отберут необходимое количество. При отборе пробы из глубины продукта его просверливают в разных местах не менее чем до половины высоты;

от твердого продукта пробы отбирают при помощи долота или другого инструмента.

Каждую отобранную пробу маркируют этикетками с указанием наименования продукта, предприятия-изготовителя, номера партии, даты отбора проб, цели микробиологического анализа, подписи лиц, отбиравших пробу. Пробы, предназначенные для исследования вне предприятия-изготовителя, пломбируют, опечатывают печатью организации, отвечающей за контролируемую продукцию, и транспортируют в лабораторию.

Пробы замороженных продуктов укладывают в изотермическую тару (термос, изотермическая коробка) или обкладывают сухим льдом (СО2), или упаковывают другим способом, обеспечивающим сохранение при температуре, не превышающей —15 °С.

Пробы скоропортящихся продуктов транспортируют при температуре *5 °С* не более 6 ч.

В зависимости от вида продукта объединенную пробу массой 50 г составляют из точечных проб следующим образом.

Колбасные изделия в оболочке, продукты из свинины, барани-ны и говядины помещают в металлический или эмалированный тазик (тарелку), тщательно протирают ватным тампоном, смоченным спиртом, и дважды обжигают над пламенем спиртовой горелки. Затем батоны разрезают продольно стерильным (фламбированным) ножом или скальпелем на две половинки, не рассекая оболочку противоположной стороны батона. Пробу отбирают из нескольких участков центральной части батона и из-под оболочки обеих его половинок.

Из свиных, бараньих, говяжьих продуктов на костях и из бекона пробы вырезают стерильным инструментом из различных участков обожженного образца на глубине 2—3 см от поверхности, предпочтительно ближе к кости.

Изделия без оболочки (мясные хлебы, паштеты, студни и др.) исследуют с поверхности и в глубине. Для этого после развертывания упаковки с каждого из исследуемых образцов делают смыв новым стерильным увлажненным ватным тампоном с тех участков продукта, с которыми могли соприкасаться руки упаковщика. Тампоны помещают в пробирки, заполненные на 3/4 одной из сред: ХБ, Хейфеца или Кесслер. Для анализа глубинных участков продукта образцы помещают в металлический или эмалированный тазик (тарелку), смачивают спиртом и обжигают. Затем делают продольный разрез и отбирают навеску методом, указанным для колбасных изделий и продуктов в оболочке. Составляют одну объединенную пробу для каждого образца в отдельности и помещают ее в предварительно взвешенную стерильную бюксу или чашку Петри.

Из объединенной пробы каждого образца берут в стерильную посуду (пергамент) навеску массой 20 ± 0,1 г. которую помещают в стерильную колбу (стакан) гомогенизатора, добавляют 4-кратное количество стерильного физиологического раствора и гомогенизируют в электрическом смесителе. Вначале материал измельчают на кусочки при замедленной частоте вращения ножей, затем — при 15 000—20 000 об/мин в течение 2,5 мин.

При отсутствии гомогенизатора допускается приготовление испытуемой взвеси в ступке. 20 г продукта растирают в стерильной фарфоровой ступке с 2—3 г стерильного песка, постепенно приливая 80 см3 стерильного физиологического раствора (или 0,1%-ного раствора стерильной пептонной воды). При растирании проб вареных изделий мажущейся консистенции (ливерные, кровяные колбасы) стерильный песок можно не добавлять.

Взвесь 15 мин выдерживают при комнатной температуре и отбирают для посевов на питательные среды стерильной градуированной пипеткой. В 1 см3 приготовленной взвеси содержится 0,2 г продукта.

*Мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы*

Для определения МАФАнМ из каждой пробы делают не менее двух различных по объему посевов, взятых с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. В одну чашку Петри проводят посев 0,1 г, в другую — 0,01 г продукта.

Предварительно готовят первое 10-кратное разведение испытуемой взвеси. Стерильной пипеткой с широким концом отбирают 5 см3 испытуемой взвеси, переносят ее в пробирку с 5 см3 стерильного физиологического раствора или пептонной воды. Конец пипетки надо опускать ниже поверхности раствора, не прикасаясь к стенкам пробирки, чтобы избежать смывания бактерий с наружной стороны. В 1 см3 полученного раствора содержится 0,1 г продукта. Другой стерильной пипеткой содержимое пробирки тщательно перемешивают продуванием, отбирают 1 см3 и переносят в стерильную чашку Петри, слегка приоткрывая крышку.

Для посева 0,01 г продукта готовят второе 10-кратное разведение: стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки с первым разведением, отбирают 1 см3 и переносят в пробирку с *9* см3 стерильного физиологического раствора. 1 см3 вторичного разведения, содержащего 0,01 г продукта, переносят в стерильную чашку Петри. При необходимости таким же образом готовят последующие разведения.

Не позднее чем через 15 мин к внесенной в чашки Петри испытуемой взвеси добавляют по 12—15 см3 мясопептонного агара, расплавленного на водяной бане и охлажденного до 45 ± 1 °С. Края пробирки или бутылки с агаром обязательно фламбируют. Добавленный агар быстро смешивают, осторожно наклоняя чашку или вращая ее по поверхности стола. Необходимо избегать образования пузырьков воздуха, следить, чтобы не оставались незалитые участки дна чашки, среда не попадала на края и крышку чашки.

Для предотвращения роста на поверхности агара спорообразующих микробов и бактерий группы протея в Н-форме рекомендуется наслоить расплавленный и охлажденный голодный агар в количестве 1/3 объема первоначально внесенной в чашку среды. В результате образуется слой толщиной 3—4 мм.

После застывания агара чашки Петри перевертывают и помещают в термостат при 37 "С. Через 48 ч подсчитывают общее количество колоний бактерий, выросших на поверхности и в глубине агара, при помощи лупы с 5-кратным увеличением или специальным прибором. Для этого чашку кладут дном вверх на черный фон и каждую колонию отмечают тушью или чернилами для стекла, чтобы не сосчитать ее повторно.

При определении общего количества МАФАнМ в 1 г продукта подсчитанное количество колоний умножают на степень разведения анализируемого продукта по каждой чашке и выводят среднее арифметическое результатов подсчета двух чашек с разной массой продукта.

*Бактерии группы кишечных палочек*

Цель определения бактерий этой группы — проверка соблюдения режима варки колбас или санитарно-гигиенических условий в процессе производства сырокопченых колбасных изделий. Анализ на БГКП проводят по общепринятой методике с использованием сред, содержащих углеводы (глюкоза, лактоза). К ним относятся среды Хейфеца, ХБ, КОДА, Кесслер. БГКП ферментируют глюкозу и лактозу, поэтому в средах ХБ, Хейфеца и КОДА образуются кислые продукты, меняющие цвет индикаторов, а в среде Кесслер в поплавке образуется газ вследствие расщепления глюкозы.

При микробиологическом контроле колбасных изделий в производственных лабораториях можно ограничиваться обнаружением бактерий из группы кишечной палочки без их биохимической дифференциации. Для выявления БГКП в пробирки с 5 см3 среды ХБ или Хейфеца двойной концентрации либо КОДА вносят по 5 см3 испытуемой взвеси стерильной пипеткой с широким концом вместимостью 5—10см3. Допускается применение среды Кесслер по 10см3.

Посевы термостатируют при 37 °С в течение 18—20ч. Посевы смывов, отобранных тампонами с поверхности изделий без оболочки, выдерживают при температуре 43 °С (для обнаружения повторного бактериального загрязнения). При росте бактерий группы кишечной палочки среды ХБ и КОДА окрашиваются в желтый цвет, среда Хейфеца — в салатно-зеленый, на среде Кесслер в поплавке образуется газ.

Для окончательного заключения о присутствии в продукте БГКП проводят высев со среды Кесслер (забродившие пробы) или Хейфеца (изменение цвета среды) в чашки Петри со средой Эндо (Плоскирева, Левина) и помещают в термостат при 37 °С на 18— 20 ч. На среде Эндо бактерии этой группы образуют темно-красные колонии с металлическим блеском или розово-красные без блеска, на среде Плоскирева — кирпично-красные с глянцевой поверхностью, на среде Левина — темно-фиолетовые или фиолетово-черные блестящие колонии. Из подозреваемых колоний готовят мазки, окрашенные по Граму: при микроскопии обнаруживают грамотрицательные палочки различной величины.

Специфическое изменение сред ХБ и КОДА не требует дальнейшего подтверждения.

При заведомо высокой обсеменности анализируемого продукта его навеску массой не более 0,25 г помещают в пустую пробирку, закладывают комочек стерильной фильтровальной бумаги размером 5 х 5 см и стерильной стеклянной палочкой или фламбированной проволокой проталкивают его до дна (не уплотняя). В пробирку наливают среду ХБ, КОДА или Хейфеца (нормальной концентрации) на 3/4 высоты и помещают ее в термостат с температурой 37 °С на 8—10ч. При росте БГКП среды ХБ и КОДА изменяют цвет из фиолетово-пурпурного в желтый, среда Хейфеца — из красно-фиолетового до салатно-зеленого.

Определение БГКП в пробах, отобранных с поверхности изделий без оболочки тампонами, осуществляют аналогично.

Обнаружение грамотрицательных палочек, специфически изменяющих цвет жидких дифференциально-диагностических сред и образующих характерные колонии на элективных средах с лактозой, указывает на наличие БГКП.

*Сальмонеллы*

Навеску продукта массой 25 г от объединенной пробы, тщательно измельченной стерильными ножницами, вносят во флакон Сокслета, содержащий 100см3 среды обогащения (Мюллера, Кауфмана, хлористо-магниевой) или 225 см3 селенитового бульона. Содержимое перемешивают встряхиванием и помещают в термостат при 37 °С. Через 16—24 ч содержимое флакона тщательно перемешивают бактериологической петлей (диаметр 0,4—0,5 мм) или пастеровской пипеткой и проводят посев из среды обогащения в чашки Петри с предварительно подсушенной средой Эндо, БФА, Плоскирева, Левина или висмут-сульфит-агар (по выбору). При значительном помутнении следует использовать среду Плоскирева.

Посевы помещают в термостат при 37 °С на 16—24 ч. На среде Эндо бактерии из рода сальмонелл образуют бесцветные или с розовым оттенком колонии.

На среде БФА сальмонеллы растут в виде крупных, гладких, красноватого оттенка прозрачных колоний (колонии S. typhi suis как и на среде Эндо, мелкие). Колонии БГКП желто-зеленого цвета. Бактерии группы протея дают рост через 72 ч.

На среде Плоскирева колонии сальмонелл бесцветные, но более плотные и несколько меньшего размера, чем на среде Эндо; при обильном росте среда желтеет.

На среде Левина сальмонеллы растут в виде прозрачных, бледных, нежно-розовых или розовато-фиолетовых колоний.

На висмут-сульфитном агаре сальмонеллы образуют черные или коричневые колонии с металлическим блеском, участок среды под колонией чернеет. Исключение составляют некоторые серологические типы из группы С, растущие на этой среде в виде нежных светло-зеленых или крупных серовато-зеленых колоний.

Изолированные колонии (не менее 5), характерные для бактерий из рода сальмонелл, пересевают на трехсахарный агар Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука штрихом по скошенной поверхности и уколом в столбик и инкубируют при 37 ± 1 °С в течение 12—16 ч.

При росте сальмонелл цвет скошенной поверхности среды Крумвиде — Олькеницкого в модификации Ковальчука розовый, столбик желто-бурый. Газообразование устанавливают по наличию трещин и разрыву столбика агара, образующие сероводород виды вызывают потемнение столбика.

Другие грамотрицательные бактерии семейства энтеробактерий дают следующие изменения цвета трехсахарного агара:

БГКП — равномерное окрашивание в синий или сине-зеленый цвет с образованием газа или без него;

бактерии из группы протея — окрашивание в ярко-красный цвет, в случаях выделения Н2S может образоваться черный осадок;

шигеллы и возбудители брюшного тифа окрашивают скошенную поверхность в розовый цвет, столбик — в синий или сине-зеленый.

Вместо среды Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука допускается посев: на углеводные среды короткого пестрого ряда с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом и мальтозой; полужидкий агар уколом (для определения подвижности); бульон Хоттингера для определения образования индола и сероводорода. При использовании полужидких сред с углеводами и индикатором ВР одновременно с ферментативной активностью можно определить подвижность бактерий.

Для дальнейшей идентификации бактерий готовят мазки, которые окрашивают по Граму, микроскопируют и изучают анти-генные свойства путем постановки пробной агглютинации на предметном стекле с агглютинирующей адсорбированной поливалентной сальмонеллезной О-сывороткой. При получении положительной реакции на стекле с поливалентной сывороткой проводят идентификацию с помощью монорецепторных агглютинирующих О-сывороток. Установив серологическую группу исследуемых бактерий, с помощью Н-сывороток определяют тип (вид) бактерий.

Обнаружение подвижных (кроме S. pullorum и S. gallinarum) грамотрицательных палочек, дающих характерный рост на элективных средах, неферментирующих лактозу и сахарозу, сбраживающих глюкозу и маннит до кислоты и газа (S. typhi suis не ферментирует маннит), образующих сероводород и не образующих индол, дающих положительную реакцию агглютинации с монорецепторными О- и Н-сальмонеллезными сыворотками, указывает на наличие бактерий из рода сальмонелл.

*Протей*

При необходимости проведения исследований на наличие в продукте протея в Н-форме 0,5 см3 анализируемой взвеси вносят в конденсационную воду свежескошенного мясопептонного агара, разлитого в широкие пробирки, не касаясь поверхности среды (метод Шукевича). Вертикально поставленные пробирки помещают в термостат при 37 °С. Через 18—24ч отмечают образование ползучего вуалеобразного налета с голубым оттенком. На скошенном мясопептонном агаре культура поднимается из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды. При появлении характерного роста микробов рода протея микроскопируют окрашенные по Граму мазки и изучают подвижность микробов в раздавленной или висячей капле.

Для обнаружения нероящихся О-форм можно проводить посев на поверхность агара Плоскирева. О-формы протея растут на этой среде в виде прозрачных колоний, слегка подщелачивающих среду, окрашивая ее в желтый цвет. Затем колонии пересевают в среду Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука, которая при наличии бактерий из группы протея окрашивается в ярко-красный цвет (вследствие расщепления мочевины). В результате выделения сероводорода может образовываться черный осадок с возможным разрывом агарового столбика.

Идентификацию протея проводят по морфологическим признакам (это грамотрицательные палочки), способности к гидролизу мочевины и образованию сероводорода. Дополнительно изучают ферментацию глюкозы (положительный результат), лактозы и маннита (отрицательный результат), подвижность в висячей или раздавленной капле либо проводят посев уколом в столбик полужидкой среды.

Обнаружение полиморфных грамотрицательных палочек, подвижных, образующих характерный ползучий рост на скошенном мясопептонном агаре (по Шукевичу), сбраживающих глюкозу и мочевину, неферментрующих лактозу и маннит, указывает на наличие в продукте бактерий из рода протея.

*Стафилококки*

Метод выявления стафилококков в продукте основан на определении морфологии, характера роста на питательных средах и способности отдельных стафилококков ферментировать лецитиназу и коагулировать цитратную плазму крови кролика под воздействием фермента коагулазы.

С этой целью из разведения анализируемой взвеси продукта в физиологическом растворе или пептонной воде (1 : 10) проводят посевы на МПБ, содержащий 6,5 % натрия хлорида. Через 24 ч

после инкубирования проводят пересев на молочно-солевой агар для выявления пигмента и желточно-солевой агар для выявления лецитиназной активности. Посевы термостатируют 24 ч при температуре 36 ± 1 °С и 24 ч выдерживают при комнатной температуре, затем учитывают результат. На поверхности питательной среды колонии стафилококка имеют вид слегка выпуклых блестящих круглых колоний с ровным краем. На молочно-солевом агаре лучше выявляется пигмент (эмалево-белый или золотистый), а на желточно-солевом агаре колонии стафилококков могут образовывать «радужный венчик», что является одним из признаков их патогенности (лецитиназная активность).

Не менее чем из 5 подозрительных колоний готовят препараты, которые окрашивают по Граму. При наличии стафилококков обнаруживают грамположительные кокки, располагающиеся неправильными гроздьями.

Одновременно для подтверждения патогенности выделенных стафилококков ставят реакцию плазмокоагуляции. В пробирку с 0,5 см3 цитратной плазмы крови кролика, разведенной физиологическим раствором в соотношении 1 : 4, вносят петлю чистой суточной культуры стафилококка и ставят в термостат при 37 °С. Ре-акцию плазмокоагуляции предварительно учитывают через 3— 4ч (не встряхивая пробирку). В сомнительных случаях оставляют в термостате для окончательного учета через 24 ч. Реакцию считают положительной, если плазма коагулирует в сгусток (на один — четыре плюса).

Для постановки реакции плазмокоагуляции используют, как правило, сухую нитратную плазму крови кролика.

При выявлении S. aureus в определенной навеске продукта поcевы считают положительными, если при подтверждении характерных колоний хотя бы в одной будет обнаружен золотистый стафилококк. При расчете на 1 г продукта количество подсчитанных колоний умножают на степень разведения и делят на объем посевного материала.

В соответствии с ГОСТ 1044.2 — 94 при определении количества S. aureus в 1 г (1 см3) продукта подсчет числа характерных колоний подлежит корректировке. Если в 80 % случаев (в 4 колониях из 5) подтвержден характерный рост, то считают, что все типичные колонии принадлежат к S. aureus.

Пересчет количества S. aureus на 1 г (1 см3) продукта проводят согласно ГОСТ 26670—91:

*M=N/m\*C*

где N— степень разведения навески; *т —* количество инокулята, внесенного в чашку Петри, см3; С— округленное среднеарифметическое значение числа колоний.

Результат выражают числом от 1 до 9,9 • 10n.

*Сульфитредуцирующие клостридии*

Определение основано на учете специфического роста клостридий в железосульфитсодержащих средах. При взаимодействии натрия сульфита с железа хлоридом образуется железа сульфат, который вызывает почернение среды.

Для выявления сульфитредуцирующих клостридий 1 см3 анализируемой взвеси стерильной пипеткой вносят в пробирку с 9 см3 жидкой сульфит-циклосериновой среды или среды Вильсона— Блера. Затем проводят последовательные пересевы на аналогичные объемы среды и получают возрастающие 10-кратные разведения суспензии. Инкубация при 37 ± 1 °С длится 18—20 ч. При наличии сульфитредуцирующих клостридий среда чернеет.

Для подтверждения принадлежности выделенных культур к клостридиям проводят пересев на поверхность агаризованной среды (Вильсона—Блера, улучшенная клостридиальная или др.) и инкубируют в анаэробных условиях при 37 ± 1 °С в течение 24— 48 ч. Отбирают характерные колонии и изучают микроорганизмы по морфологическим (в мазках, окрашенных по Граму и на спору) и некоторым культурально-биохимическим свойствам, в частности по реакции на каталазу (отрицательная).

Если в посевах (в 4 колониях из 5) обнаружены сульфитредуци-рующие грамположительные, нередко спорообразующие палочки, каталазоотрицательные, способные расти в анаэробных условиях, то делают заключение о наличии в продукте сульфитредуцирующих клостридий. Пересчет количества указанных микроорганизмов на 1 г (1 см3) проводят по ГОСТ 26670—91 с использованием той же формулы, что и для стафилококков. В соответствии с ГОСТ 9958—81 допускается не подтверждать принадлежность выделенных культур к сульфитредуцирующим клостридиям, а пересчет проводить на их количество по положительному титру, т. е. по максимальному разведению суспензии, в посеве которого наблюдается почернение среды. Например, если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10-1, то считают, что в 1 г исследуемого продукта содержится 10 (или 1-101) клеток, при аналогичных изменениях в пробирках с разведением 10-2 — 100 (или 1 • 102) клеток.

Санитарно-бактериологический анализ других мясных изделий проводят методами, используемыми для микробиологических исследований колбас и колбасных изделий. Посевные дозы выбирают с учетом нормативных показателей.

*Микробиологические показатели колбасных изделий*

Эти показатели регламентированы СанПиН 2.3.2.1078—01 и представлены в таблице

Микробиологические показатели колбасных изделий и продуктов из мяса убойных животных и птицы

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа продуктов | МАФАнМ, КОЕ/г, не более | Масса продукта, в которой не допускается наличия | | | | |
| БГКП | Сульфитредуцирующие клостридии | S. aureus | Патогенные м-мы | |
| сальмонеллы | листерии |
| Колбаса сырокопченая и полукапченая | -- | 0,1 | 0,01 | 1 | 25 | 25 |
| Колбаса варено-копченая | -- | 1 | 0,01 | 1 | 25 | 25 |
| Колбасные изделия сырокопченые, варено-копченые, полукапченые, нарезанные и упакованные под вакуумом в полимерную пленку | -- | 1 | 0,1 | 1 | 25 | 25 |
| Колбасы вареные высший и I сорт | 1\*103 | 1 | 0,01 | 1 | 25 | 25 |
| Колбасы вареные II сорт | 2,5\*103 | 1 | 0,01 | 1 | 25 | 25 |

При получении неудовлетворительных результатов микробиологического анализа готовой продукции, по требованию контролирующих организаций и постоянно при входном контроле проводят исследования вспомогательных материалов.

Отбор проб, подготовку их к лабораторному анализу и порядок исследования осуществляют в соответствии с действующими ГОСТами, МБТ и другими нормативными документами.

Нормативные сроки исследования колбасных изделий — один раз в декаду.

Заключение

В процессе приготовления колбасных изделий колбасный фарш обсеменяется микроорганизмами, попадающими в него из различных источников. Степень исходной микробной обсемененности колбасного фарша зависит от санитарно-гигиенических условий производства и соблюдения технологических режимов.

В силу различий технологических процессов выработки вареных и копченых колбасных изделий микрофлора этих продуктов изменяется неодинаково. При нарушении сроков и режимов хранения готовых колбасных изделий в результате протекающих в них микробиологических процессов может происходить изменение их качества, т. е. порча этих продуктов.

Список использованной литературы

1. Санитарная микробиология сырья и продуктов животного происхождения. Корнелаева Р. П., Степаненко П.П., Павлова Е. В., —М.: 2006.—407с.
2. Микробиология мяса и мясопродуктов М.А. Сидоров, Р.П. Корнелаева 3е издание. Москва «Колос» 1998—134стр.
3. Санитарная микробиология. Билетова Н. В., Корнелаева Р. П., Кострикина Л.Г. и др. Под ред. Любашенкои С.Я. —М.: Пищевая пром-сть, 1980.—352 с.
4. Руководство по ВСЭ и гигиене производства мяса и мясных продуктов» Ю.Г. Костенко, М.П. Бутко, В.М. Ковбасенко РИФ «Антиква» Москва—1994—153-155стр.
5. **Микрофлора пищевых продуктов.** Серия Микробиология. Т.22. М. ВИНИТИ.
6. **Микробиология мяса и мясопродуктов.** М.А. Сидоров, Р.П. Корнелаева. М., Колос, 1996.
7. **Руководство по ветеринарно-санитарной экспертизе и гигиене производства мяса и мясопродуктов.** Под ред. М.П. Бутко, Ю.Г Костенко. М., Антиква. 1994.
8. **Микробиология продуктов животного происхождения**. Г-Д Мюнх и др.М., Агропромиздат, 1985.
9. **Микробиология пищевых производств** Н.М. Вербина, Ю.В. Каптеева. М., Агропромиздат, 1988.
10. **Микробиологические исследования и санитарная экспертиза пищевых продуктов.** С.П. Аскалонов, И.Б. Добриер, Б.Л. Городин. Киев, Медиздат, 1955.