Содержание

Введение

1. Обзор литературы

1.1 Классификация и ассортимент кисломолочных напитков

1.2 Процессы, протекающие в кисломолочных напитках при хранении. Дефекты кисломолочных напитков

1.3 Дефекты, происходящие при хранении кисломолочных напитков

1.4 Особенности технологии хранения кисломолочных напитков

1.5 Пути увеличения продолжительности хранения кисломолочных напитков

1.6 Транспортирование и транспортная тара, используемая для кисломолочных напитков

2. Экспериментальная часть

2.1 Методы исследований

2.2 Изменения органолептических показателей кисломолочных напитков в процессе хранения

2.3 Изменения физико-химических показателей кисломолочных напитков в процессе хранения

2.4 Изменения микробиологических показателей в процессе хранения кисломолочных напитков

Заключение

Список используемой литературы

Приложение

# Введение

Заслуженной популярностью пользуются у миллионов людей различных стран мира кисломолочные напитки, т. е. молоко, сквашенное различными видами молочнокислых бактерий. Кисломолочные продукты, и, в частности, напитки имеют многовековую историю. Народы Греции и Рима, Индии и Ближнего Востока, Закавказья уже в далекой древности употребляли кисломолочные напитки, которые приготовляли из коровьего, овечьего или ослиного молока. У скифов был известен кумыс — кисломолочный напиток из кобыльего молока.

Еще великий Гомер в своей бессмертной Одиссее описывает, как герой со своими спутниками нашли в пещере циклопа Полифема, ведра и кружки, полные густого кислого молока. Занимаясь разведением скота, люди заметили, что скисшее молоко дольше хранится, имеет приятный освежающий вкус. Они стали употреблять такое молоко и убедились, что оно оказывает благоприятное влияние на человеческий организм. Через века дошла до наших дней индийская пословица: «...пей кислое молоко и проживешь долго». Таким образом стали появляться у разных народов национальные кисломолочные напитки: простокваша и варенец в России, ряженка на Украине, мацун в Армении, мацони в Грузии, чал в Туркмении, курунга в Северо-Восточной Азии, айран и кефир на Северном Кавказе, кумыс в Башкирии, Татарии, лебен в Египте, ягурт в Болгарии, Греции, Турции, Румынии, погребное молоко в Норвегии и т. д. Можно полагать, что кисломолочные напитки были первыми продуктами, приготовляемыми из молока. Прошло много тысячелетий с того момента, как человек выпил первый кисломолочный напиток и до того, как была определена причина такого превращения молока.

Кисломолочными напитки вырабатывают из пастеризованного молока или сливок путем сквашивания их заквасками, приготовленными на чистых культурах молочнокислых бактерий с добавлением или без добавления культур молочных дрожжей.

В производстве молочнокислых продуктов применяют различные виды молочнокислых бактерий и дрожжей: молочнокислые стрептококки, болгарскую палочку, ацидофильную палочку, ароматообразующие бактерии, молочные дрожжи. Каждый продукт изготовляют с помощью определенных культур микроорганизмов. Причем некоторые молочнокислые бактерии выделяют ферменты, которые частично расщепляют белки на простые соединения, что способствует лучшему усвоению продуктов. В большей степени это происходит в кефире и кумысе, в меньшей - в простокваше. А некоторые ароматообразующие бактерии разлагают лактозу с образованием ароматических веществ (диацетила и др.), обуславливающих аромат кисломолочных продуктов. В результате жизнедеятельности ряда микроорганизмов в кисломолочных напитках происходит синтез витаминов В1, В2, В12 и С, что повышает их диетические свойства.

Молочные продукты (простокваша, кумыс, кефир и др.) являются прекрасным лечебным средством для людей, страдающих желудочно-кишечными заболеваниями, туберкулезом; хороший эффект они дают и при отравлениях.

Включение молочных продуктов в пищевой рацион повышает его полноценность и способствует лучшему усвоению всех компонентов.

Целью курсовой работы является анализ технологии хранение и транспортирования кисломолочных напитков.

Задачами данной курсовой работы являются: изучение свойств и характеристик кисломолочных напитков при хранении, анализ информации для потребителей на упаковке кисломолочных напитков, определение органолептических и физико-химических показателей качества кисломолочных напитков, анализ сохраняемости кисломолочных напитков.

# 1. Обзор литературы

* 1. **Классификация и ассортимент кисломолочных напитков**

Кисломолочные продукты - это продукты, вырабатываемые сквашиванием молока или сливок чистыми культурами молочнокислых бактерий с добавлением или без добавления дрожжей или уксуснокислых бактерий. При производстве некоторых кисломолочных продуктов используются пищевые, вкусовые и ароматические вещества, что также повышает их пищевую и диетическую ценность.

Кисломолочные напитки по характеру брожения подразделяют на две группы:

* напитки, получаемые путем только молочнокислого брожения (простокваши, ацидофильное молоко, йогурт)
* напитки, вырабатываемые в результате смешанного молочнокислого и спиртового брожения (кефир, кумыс, ацидофильно-дрожжевое молоко и др.)

Продукты 1-й группы имеют достаточно плотный, однородный сгусток и кисломолочный вкус, обусловленный накоплением молочной кислоты.

К ним относят:

-простокваши: обыкновенную, мечниковскую, ацидофильную, южную.

**-** ряженку;

**-** варенец;

**-** йогурты: биойогурты, фруктовые (овощные), ароматизированные.

**-**ацидофильные продукты: ацидофильное молоко, ацидофилин, ацидофильно-дрожжевое молоко.

Продукты 2-й группы обладают кисломолочным освежающим, слегка щиплющим вкусом, обусловленным присутствием этилового спирта и углекислоты, и нежным сгустком, пронизанным мельчайшими пузырьками углекислого газа. Сгусток этих продуктов легко разбивается при встряхивании, благодаря чему продукты приобретают однородную жидкую консистенцию, поэтому их часто называют напитками.

Выделяют:

- кефир получают путем сквашивания пастеризованного молока при температуре 20—22 °С кефирным грибком или кефирными зернами.

- кумыс изготавливают из кобыльего молока путем сквашивания его при температуре 30—32 °С кумысной закваской.

Основной микрофлорой кисломолочных продуктов является молочнокислые бактерии и дрожжи. В лабораториях микроорганизмы выделяют в чистом виде и специально выращивают (культивируют). Такие микроорганизмы, выращиваемые в специальных целях, называются культурами (например, культура молочнокислого стрептококка).

При производстве кисломолочных напитков применяют два способа: термостатный и резервуарный.

При термостатном способе производства кисломолочных напитков сквашивание молока и созревание напитков протекают в бутылках в термостатных и хладостатных камерах.

При резервуарном способе производства заквашивание, сквашивание молока и созревание напитков происходят в одной емкости (молочных резервуарах).

## 1.2 Процессы, протекающие в кисломолочных напитках при хранении. Дефекты кисломолочных напитков

Кисломолочные напитки благоприятной средой для развития многих микроорганизмов, поскольку содержат много влаги, белков, углеводов и зольных элементов. В связи с этим во время хранения у них могут измениться кислотность, вкус, запах и консистенция.

Изменениекислотности. Содержащийся в кисломолочных напитках молочный сахар разлагается под действием микроорганизмов с образованием молочной и некоторых других кислот. Титруемая кислотность превышает при этом допустимые нормы, вследствие чего продукт приобретает резко кислый вкус. Сповышением температуры окружающего воздуха скорость нарастания кислотности возрастает.

При длительном хранении в условиях повышенной температуры отмечается снижение кислотности вследствие развития гнилостных процессов. В результате этих процессов происходит распад белков с образованием щелочных соединений. Продукт приобретает пороки вкуса, запаха и консистенции и становится непригодным для употребления.

Изменения вкуса и запаха. Нечистые вкус и запах возникают при развитии в продуктах посторонней микрофлоры.

Уксуснокислый вкус и запах могут появляться в результате развития в них уксуснокислых бактерий, которые окисляют спирт до уксусной кислоты. Эти бактерии при пастеризации молока погибают. Поэтому недостаточная пастеризация кисломолочных напитков, несоблюдение санитарно-гигиенических условий производства и плохая укупорка способствуют появлению этого порока.

Прогорклый вкус появляется в результате гидролиза молочного жира под влиянием липазы плесеней, которые попадают в сметану при нарушении санитарно-гигиенических режимов производства и хранения.

Пресный вкус получается при слабом развитии молочнокислого брожения.[2]

Плесневение. На поверхности кисломолочных напитков может развиваться белая молочная плесень, которая вызывает нечистый, а иногда прогорклый вкус. Кисломолочные напитки, поступившие в крупной таре с плесенью на поверхности, перед реализацией зачищают.

Тягучая консистенция кисломолочных напитков может быть результатом развития слизеобразующих бактерий или другой посторонней микрофлоры, например уксуснокислых бактерий.

Вспученная консистенция.Этот порок кисломолочных напитков вызывается развитием в продукте газообразующих микроорганизмов, дрожжей, сбраживающих лактозу, или в результате хранения при высоких температурах.

Отделение сыворотки (перекисание) в кисломолочных напитках происходит в результате накопления излишнего количества кислот в процессе производства ихранения при высокой температуре.

Салистый вкус возникает в результате окисления жира под действием солнечного света, повышенной температуры хранения, наличия металлов переменной валентности.

Горький вкус обусловлен расщеплением белковых веществ под действием протеолитических ферментов в процессе длительного хранения.

Металлический привкус возникает при упаковке кисломолочных напитков в металлические фляги с нарушенным слоем внутреннего покрытия.

Усушка.Кисломолочные напитки при хранении могут незначительно терять в весе в результате испарения влаги черёз тару и упаковку. С понижением температуры окружающего воздуха потери эти уменьшаются.

Неоднородная консистенция наблюдается в кисломолочных напитках при их подмораживании вследствие образования комков белка.

Влияние замораживания.

Кисломолочные напитки замораживать нельзя. Образующиеся при замораживании кристаллы льда нарушают структуру продукта, в результате чего при оттаивании выделяется сыворотка, консистенция продукта становится хлопьевидной или крупитчатой. Снижаются и вкусовые достоинства, тара деформируется. [6]

**1.3 Дефекты, происходящие при хранении кисломолочных напитков**

При нарушении режима хранения в кисломолочных продуктах могут происходить нежелательные процессы, снижающие качество и даже приводящие продукт к полной порче. Как следствие, появляются дефекты.

Для кисломолочных напитков выделяют следующие виды дефектов:

- кислый вкус возникает при повышенной температуре хранения вследствие продолжающегося молочнокислого и других видов брожений. Содержащийся в кисломолочных напитках молочный сахар разлагается под действием микроорганизмов с образованием молочной и некоторых других кислот. Титруемая кислотность превышает при этом допустимые нормы и продукт приобретает резко кислый вкус [14];

- салистый привкус в кисломолочных напитках, появляется чаще всего вследствие окисления молочного жира до образования диоксикислот. Активизирует этот процесс солнечный свет, повышенная температура хранения, наличие воздуха в упаковке, металлов-катализаторов;

- горький вкус — следствие расщепления белковых веществ под действием протеолитических ферментов микрофлоры в процессе длительного хранения продуктов, особенно при несоблюдении санитарных условий при транспортировании и хранении;

- прогорклость появляется в результате гидролиза молочного жира под влиянием липазы плесеней, которые попадают в кисломолочные напитки при нарушении санитарно-гигиенических режимов производства и хранения;

- гнилостный привкус — это следствие разложения белка гнилостными бактериями с образованием щелочных соединений, что свидетельствует о длительном хранении в неблагоприятных санитарных условиях. В результате этого процесса отмечается снижение кислотности вследствие развития гнилостных процессов. Продукт приобретает пороки вкуса, запаха и консистенции и становится непригодным для употребления;

- дрожжевой, броженый привкус обнаруживается в изделиях, хранившихся длительное время, появление его сопровождается газообразованием, вспучиванием продукта. Этот порок вызывается развитием в продукте газообразующих микроорганизмов, дрожжей, сбраживающих лактозу, или в результате хранения при повышенных температурах.

- отделение сыворотки происходит при прокисании продукта, синерезисе сгустка, в результате накопления излишнего количества кислот в процессе производства ихранения при высокой температуре. Накопление кислот происходит из-за жизнедеятельности молочнокислых и уксуснокислых бактерий.

## 1.4 Особенности технологии хранения кисломолочных напитков

Хранение – этап технологического цикла товародвижения от выпуска готовой продукции до потребления или утилизации, цель которого – обеспечение стабильности исходных свойств или их изменение с минимальными потерями.

Условия хранения – совокупность внешних воздействий окружающей среды, обусловленных режимом хранения и размещением товаров в хранилище.

Режим хранения – совокупность климатических и санитарно-гигиенических требований, обеспечивающих сохраняемость товаров.

Режимы и условия хранения готовой продукции существенно влияют на ее качество. В большинстве случаев при хранении решается задача сохранения качества и количества продукта. Для некоторых пищевых продуктов хранение при определенных условиях и режимах является продолжением технологической обработки, в результате которой качество продуктов существенно улучшается. Нарушение оптимальных условий и режимов хранения зачастую приводит к потере количества и качества продукта.

Правильная организация хранения товаров, сокращение товарных потерь являются важнейшей обязанностью работников торговли, обеспечивающей вовлечение в реализацию максимального количества товаров, направляющихся в торговую сеть, снижение материальных и трудовых затрат и повышение рентабельности торговли.

Основными условиями, обеспечивающими надлежащее хранение, являются: определенная температура и относительная влажность воздуха, соответствующие освещение и вентиляция; соблюдение товарного соседства; закрепление постоянных мест за товаром; обеспечение материальной ответственности; выполнение санитарно-гигиенических мероприятий предупреждающих убыль и порчу товаров. При хранении товаров укладывают на подтоварники, поддоны, стеллажи, в шкафы, подвешивают на плечики, кронштейны. Хранение товара на полу недопустимо.

Температура хранения – температура воздуха в хранилище. Это один из наиболее значимых показателей режима хранения. С повышением температуры усиливаются химические, физико-химические, биохимические и микробиологические процессы, что приводит к появлению дефектов продукции. [9]

Относительная влажность воздуха (ОВВ) – показатель, характеризующий степень насыщенности воздуха водяными парами. В зависимости от требований к оптимальному влажностному режиму все потребительские товары можно разделить на четыре группы: сухие, умеренные, влажные и повышенной влажности.

Поддержание стабильного температурно-влажностного режима можно обеспечить за счет оптимального воздухообмена.

Воздухообмен – показатель режима, характеризующий интенсивность и кратность обмена воздуха в окружающей товары среде. В процессе воздухообмена создается равномерный температурно-влажностный режим, а также удаляются газообразные вещества, выделяемые хранящимися товарами, тарой, оборудованием ит.п.

Освещенность – показатель режима хранения, характеризующийся интенсивностью света в складе.

Кисломолочные напитки следует хранить без доступа света и исключать воздействие прямых солнечных лучей [2].

При размещении кисломолочных напитков на хранение следует предусматривать возможность быстрого нахождения товара, удобного отбора для подачи в торговый зал учитывать длительность его хранения. Хранить кисломолочные напитки необходимо при температуре не выше 8 0С. Сроки хранения и реализации установлены следующие: простокваши, кефира, кумыса, ацидофилина и ацидофильного молока – 120 ч с момента окончания технологического процесса (без охлаждения не реализуют). Срок хранения йогуртов при температуре от +2 до +6оС не более 30 суток.

Кисломолочные напитки относится к группе – влажные товары, поэтому при их хранении необходимо соблюдать ОВВ 80 – 85 %.

Хранение кисломолочных продуктов при несоблюдении необходимых условий приводит к повышению их кислотности, отделению сыворотки, ухудшению качества и порче. На упаковке кисломолочных продуктов, простокваши, кефира, ацидофилина проставляют число или день конечного срока реализации, а не их выработки.

## 1.5 Пути увеличения продолжительности хранения кисломолочных напитков

На увеличение продолжительности хранения существенно влияет упаковка продукта.

Упаковка – средство или комплекс средств, обеспечивающих защиту товара от повреждений и потерь, а окружающую среду – от загрязнения.

К упаковке предъявляют следующие основополагающие требования: безопасность, надежность, совместимость, экологические свойства, взаимозаменяемость, экономическая эффективность.[9]

Для упаковки кисломолочных напитков используют следующую тару:

- бутылки емкостью 0,25; 0,5 и 1 л по ГОСТ 15844-80;

- пластиковые бутылки различной емкости;

-бумажные пакеты из жироводонепроницаемого картона с полимерными покрытиями емкостью 0,5 и 1,0 л: тетра-пак, пуре-пак, тетра-брик;

- коробочки из полистирола емкостью 0,1 и 0,25 л;

- в пакеты из полиэтиленовой пленки, наполненной титаном емкостью 0,5 и 1,0 л.

Допускаются отклонения от установленного объема в процентах, не более: для тары емкостью 0,2 и 0,25 л – +5; для тары емкостью 0,5 л – +3; для тары емкостью 1,0 л – +2.

Наиболее эффективным видом упаковки кисломолочных напитков являются современные бумажные пакеты из жироводонепроницаемого картона с полимерными покрытиями. Они могут быть разнообразной формы: тетра-пак (трехгранная призма), пуре-пак (высокий столбик с квадратным основанием), тетра-брик (в форме кирпича). От формы пакета зависит многое: удобство покупки для покупателя, вид транспортной тары, устойчивость упаковки в процессе производства и товародвижения. Чем острее углы в пакетах (тетра-пак), тем быстрее они повреждаются, дают течь, что влечет определенные потери. Для укладки тетра-паков разработана и применяется специальная тара — ящики шестигранной формы из полиэтилена низкого давления. Кисломолочные напитки в упаковках пуре-пак и тетра-брик блоками по 10—12 шт. покрывают термоусадочной пленкой и укладывают в тару-оборудование. Фин-пак — мягкий полимерный пакет также удобен для товародвижения кисломолочных напитков. Применение этих упаковок позволяет отказаться от использования возвратной стеклянной тары. Однако надо помнить, что вся полимерная тара у нас пока не утилизируется и загрязняет окружающую среду.

Помимо применения новых видов упаковки, сохраняемость кисломолочных напитков продуктов можно улучшить за счет максимального исключения роста микроорганизмов (обязательные, посторонние) в готовом продукте, ограничением ферментативных и химических процессов в продукте. При этом сохраняемость может колебаться от 10 дней до нескольких месяцев.

Основные пути увеличения продолжительности хранения:

**-** применение специальных заквасок с незначительной тенденцией к перекисанию;

- инактивация микроорганизмов путем термической обработки готового продукта;

- исключение бактериальных загрязнений путем стерилизации установок и асептической упаковки;

- охлаждение продукта до низких температур;

- применение различных консервирующих средств.

Применение специальной закваски состоит в том, что применяемые штаммы должны быть с незначительной тенденцией к перекисанию и, несмотря на быструю инактивацию при охлаждении, должны проявлять нормальную ферментативную активность. Кроме того, способность к ароматообразованию, которое после окончания выращивания еще не закончено, не должна полностью исчезать из-за охлаждения.

Основные проблемы термической обработки состоят в том, чтобы сохранить эмульсионную стабильность продуктов (исключение хлопьеобразования и синерезиса) и желаемые вкусовые качества (не слишком кислый вкус). На термическую обработку кисломолочных продуктов благоприятное воздействие оказывает тот факт, что микроорганизмы закваски в кислой среде инактивируются уже при сравнительно низких температурах; например, более 99 % отмирает при 60—65 °С при выдержке в течение 5 мин.

Факторами, понижающими тенденцию к разрушению сгустка и одновременно увеличивающими его плотность являются:

- интенсивное нагревание перерабатываемого молока до выпадения сывороточного белка (нагревание до температуры выше 90 оС с последующей выдержкой, нагревание до сверхвысоких температур, стерилизация);

- добавление стабилизаторов и связывающих средств;

- термическая обработка продукта при низких температурах (60—65°С) и низких значениях рН (4,5 и ниже), причем из-за возможного появления слишком кислого привкуса дают верхний предел значения рН;

- применение слизеобразующих культур микроорганизмов.

Термическая обработка оказывает свое положительное действие только при одновременном применении асептической технологии. Она состоит в изготовлении свободных от загрязнения заквасок; ферментации без повторного бактериального загрязнения; асептической расфасовки в стерильную упаковку; полном обеспложивании оборудования путем промывки и стерилизации горячей водой или паром при 150 °С.

Не следует недооценивать влияние охлаждения до низких температур и строгое соблюдение цепочки холода на сохраняемость кисломолочных напитков, поскольку в этом случае можно обеспечить производство стерильных или бедных микробами продуктов. При этом следует производить быстрое охлаждение до t 0-2 оС и поддерживать эту температурудо потребителя.

Для консервирования можно применять сорбиновую кислоту или сорбенты, а также антиокислители если стандарты не препятствуют этому.[8]

**1.6 Транспортирование и транспортная тара, используемая для кисломолочных напитков**

При транспортировании товаров важную роль играет выбор транспортных средств, вид тары, способ укладки и др. На каждую единицу потребительской тары должна быть нанесена типографским способом несмывающейся не пахнущей краской, разрешенной Минздравом РФ для контакта с пищевыми продуктами маркировка с указанием следующих информационных данных: наименование или номер предприятия-изготовителя или товарный знак предприятия; наименование вида продукта; масса нетто; информационные данные о массовой доле жира, белка, углеводов, калорийности; обозначение соответствующего стандарта; дата конечного срока реализации (наносится компостером или тиснением, или штемпелем).

Транспортная тара должна иметь этикетку или ярлык, с указанием: наименование предприятия-изготовителя товарный знак предприятия; наименование вида продукта; масса брутто, нетто, тары товара; количество единиц и масса нетто каждой упаковочной единицы и каждого места; дата конечного срока реализации; номер партии и номер места; обозначение соответствующего стандарта.

Все кисломолочные напитки должны транспортироваться в автомобилях-фургонах с изотермическим кузовом или автомобилях рефрижераторах, железнодорожным транспортом в изотермических вагонах с охлаждением, или водным транспортом в соответствии с правилами по перевозке скоропортящихся грузов, действующими на соответствующем виде транспорта. Транспортируют кисломолочные напитки при температуре 4 ± 2 °С на небольшие расстояния и при температуре 0 ± 1 оС – при длительных перевозках. Нельзя допускать резких перепадов температур и относительной влажности воздуха, т. к. это может вызвать нежелательные процессы, снижающие качество кисломолочных напитков.

# 2. Экспериментальная часть

**2.1 Методы исследований**

Образцом для испытаний явился кефир классический 3,2 % жирности различных производителей: «Простоквашино», «Вкуснотеево», «Авида». Срок годности кефира составляет 5 суток при температуре 4±2 0С.

По органолептическим показателям кефир должен соответствовать ГОСТ Р 52093 – 2003 «Кефир. Технические условия». Определение органолептических показателей проводят методом дегустации через 24, 96 и 144 часа хранения. Выделяют следующие показатели:

- внешний вид и консистенция;

- вкус и запах;

- цвет.

Физико-химические показатели кефира определяют на соответствие требованиям ГОСТ Р 52093 - 2003 «Кефир. Технические условия». Важнейшими физико-химическими показателями качества кефира являются:

- массовая доля жира;

- кислотность.

Определение массовой доли жира кислотным методом осуществляется в соответствие с ГОСТ 5867-69 «Молоко и молочные продукты. Определение массовой доли жира».

Метод основан на выделении жира из навески продукта под действием концентрированной серной кислоты и изоамилового спирта с последующим центрифугированием. Содержание массовой доли жира определяется по градировочной части жиромера. [17]

Определение кислотности с применением индикатора фенолфталеина проводится в соответствии с ГОСТ 3624 «Молоко и молочные продукты. Определение кислотности».

Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором гидроокиси натрия в присутствии индикатора фенолфталеина.

Кислотность рассчитываю по формуле:

Х = V×К , (1)

Где V– объем раствора гидроокиси натрия, затраченного на нейтрализацию кислот, см3;

К – коэффициент (20 – для кефира) [16]

Для кефира определяются следующие микробиологические показатели:

- St. aureus

- плесени

Определение St. aureus

В соответствии с СанПиН в 1 г кефира не должны быть обнаружены St. aureus. Определение проводится по ГОСТ 30347-97 «Молоко и молочные продукты. Методы определения St. аureus».

Метод определения количества St. aureus основан на высеве продукта или разведения его на поверхности плотной среды, инкубировании и подсчете типичных колоний.

На молочно-солевом агаре колонии St. aureus растут в виде непрозрачных колоний, окрашенных от белого до золотистого цвета, диаметром 2 - 4 мм, слегка выпуклых.

Для определения наличия St. aureus в 1 г кефира используют разведение 1:10 (1 г продукта и 9 мл дистиллированной воды) [15].

Определение плесеней

Метод основан на высеве продукта или разведения его на поверхности плотной среды, инкубировании и определении принадлежности выделенных микроорганизмов к плесневым грибам по характерному росту на питательных средах и по морфологии клеток, и в последующем подсчете типичных колоний.

**2.2 Изменения органолептических показателей кисломолочных напитков в процессе хранения**

Анализ качества кефира проводится в соответствии с ГОСТ Р 52093-2003 «Кефир. Технические условия».

Определение органолептических показателей кефира проводилось через 24, 96 и 144 часа хранения при температуре 4±2 0С.

Изменения, которых происходили с органолептическими показателями кефира при хранении в течение указанного срока отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Изменения органолептических показателей кефира при хранении

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование показателя | Требования по ГОСТ Р 52092-2003 | Фактические данные через: | | |
| 24 часа | 96 часов | 144 часа |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Внешний вид и консистенция | Однородная. С нарушенным или ненарушенным сгустком. Допускается газообразование, вызванное действием микрофлоры кефирных грибков | Кефир «Простоквашино» | | |
| Однородная, с нарушенным сгустком. Без газообразования | | Неоднородная, с сильным газообразованием |
| Кефир «Вкуснотеево» | | |
| Однородная, с нарушенным сгустком. Без газообразования | | Неоднородная, с газообразованием |
| Кефир «Авида» | | |
| Однородная, с ненарушенным сгустком. С небольшим газообразованием | | Неоднородная, с сильным газообразованием |
| Вкус и запах | Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов. Вкус слегка острый, допускается дрожжевой привкус | Кефир «Простоквашино» | | |
| Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов | | Излишне кислый вкус и запах, островатый привкус |
| Кефир «Вкуснотеево» | | |
| Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов | | Кислые, с дрожжевым привкусом |
| Кефир «Авида» | | |
| Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов | | Очень кислые, с дрожжевым привкусом |
| Цвет | Молочно-белый, равномерный по всей массе | Кефир «Простоквашино» | | |
| Молочно-белый, равномерный по всей массе | | Молочно-белый, равномерный |
| Кефир «Вкуснотеево» | | |
| Молочно-белый, равномерный по всей массе | | Молочно-белый, равномерный |
| Кефир «Авида» | | |
| Молочно-белый, равномерный по всей массе | | Молочно-белый, равномерный |

Таким образом установлено, что в течение срока годности у всех образцов показатели полностью соответствовали требованиям стандарта. По истечении срока годности (через 144 часа) у всех образцов нарушилась консистенция, появилось сильное газообразование. Вкус и запах всех образцов стал излишне кислым, у образца кефира «Простоквашино» появился острый, а у остальных образцов дрожжевой привкус. Цвет всех образцов остался без изменения.

Следовательно, можно сказать, что при соблюдении требуемых условий хранения органолептические показатели качества не изменяются и соответствуют требованиям ГОСТ Р 52093-2003 «Кефир. Технические условия». Изменения, происходящие после окончания срока годности кефира, связанны с деятельностью молочнокислых микроорганизмов, которые сбраживают молочный сахар, а также дрожжей, образующих углекислый газ в процессе своей жизнедеятельности.

**2.3 Изменения физико-химических показателей кисломолочных напитков в процессе хранения**

Определение физико-химических показателей проводилось через 24, 96 и 144 часа хранения. Результаты этих измерений представлены в таблице 2, а расчет результатов - приложении 1.

Таблица 2 – Динамика изменений физико-химических показателей

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование показателя | Требования по ГОСТ Р 52093-2003 | Фактические значения показателей через: | | |
| 24 часа | 96 часов | 144 часа |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Кислотность, 0Т | 85-130 | Кефир «Простоквашино» | | |
| 90 | 120 | 160 |
| Кефир «Вкуснотеево» | | |
| 85 | 120 | 180 |
| Кефир «Авида» | | |
| 95 | 130 | 190 |
| Массовая доля жира, % | 3,2 | Кефир «Простоквашино» | | |
| 3,2±0,1 | 3,3±0,1 | 3,4±0,1 |
| Кефир «Вкуснотеево» | | |
| 3,2±0,2 | 3,2±0,2 | 3,3±0,2 |
| Кефир «Авида» | | |
| 3,2±0,1 | 3,3±0,1 | 3,3±0,1 |

Результаты физико-химических испытаний подтверждают результаты органолептических и говорят о том, что при хранении кефира в требуемых условиях в те6чение срока годности значения нормируемых показателей остаются в пределах требуемых ГОСТ Р 52093-2003.

Основным физико-химическим показателем, по которому можно наблюдать изменения химического состава кефира, является – кислотность. Данный показатель в предложенных образцах кефира в течение срока годности увеличивается, оставаясь в пределах нормы. По истечении срока годности данный показатель также продолжает увеличиваться, выходя за пределы нормы, указанной в нормативной документации на кефир. Это происходит из-за того, что молочнокислые микроорганизмы, содержащиеся в кефире разлагают молочный сахар с образованием молочной и некоторых других кислот, что приводит к повышению значений кислотности и, как следствие, к образованию кислого вкуса и запаха.

Содержание жира в процессе хранения, а также по истечении срока годности, при оптимальных условиях изменяется незначительно и остается в пределах указанного в нормативной документации значения. Происходит незначительное увеличение содержания жира, возможно за счет испарения из кефира влаги.

## 2.4 Изменения микробиологических показателей в процессе хранения кисломолочных напитков

Для кефира со сроком годности 120 часов основными микробиологическим показателями, подлежащим нормированию, являются содержание St. аureus и плесеней в 1 г продукта.

Для определения содержания St. аureus в выбранных образцах проводились посевы разведений кефира на молочно-солевой агар через 24, 96 и 144 часа хранения. По истечении необходимого срока инкубирования ни на одном посеве не было обнаружено колоний с характерными признаками St. аureus.

Для определения содержания плесеней в образцах кефира производили посев на мясной агар через 24, 96 и 144 часа хранения. По истечении необходимого срока инкубирования плесени не были обнаружены ни на одном образце.

На основе полученных результатов можно сделать вывод о том, что при соблюдении всех необходимых условий хранения в продукте не развивается ни St. аureus, ни плесени, также они не обнаруживается в 1 г продуктов и по истечении срока годности. Это говорит о том, что при производстве кефира на предприятиях-изготовителях соблюдаются все необходимые условия, регламентируемые СанПиН 2.3.2. 1078-2001 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы».

# Заключение

Кисломолочные продукты – это продукты, вырабатываемые сквашиванием молока или сливок чистыми культурами молочнокислых бактерий с добавлением или без добавления дрожжей и уксуснокислых бактерий. Кисломолочные продукты относятся к продуктам биотехнологии. Эти продукты играют особую роль в питании людей, так как кроме высокой пищевой ценности, они имеют большое лечебно-профилактическое значение.

В условиях современного рынка, учитывая высокий спрос на кисломолочные напитки конкуренция все повышается как за счет появления все новых производителей данной продукции, так и за счет расширения ассортимента уже имеющихся производителей. Поэтому проблема сохранения качества кисломолочных напитков в настоящий момент особенно актуальна.

Важнейшей составляющей качества продукции является соблюдение технологии транспортирования и хранения кисломолочных продуктов. Для производителей очень важно соблюдать все необходимые условия поддержания стабильного уровня качества кисломолочных напитков как на стадии хранения и транспортирования, так и во время реализации продукции потребителю.

Качество кисломолочных напитков определяют по органолептическим показателям: вкусу и запаху, внешнему виду и консистенции, цвету, а также по физико-химическим показателям – содержанию жира и общей кислотности. Данные показатели определялись через 24, 96 и 144 часа хранения.

Результаты проведенных опытов показывают, что при соблюдении всех условий хранения продукт сохраняет свои качества и по показателям соответствует требованиям ГОСТ Р 52093-2003 «Кефир. Технические условия».

Значения полученных значений физико-химических показателей подтверждают результаты органолептической оценки: при измерении кислотности через 144 часа хранения она превысила норму (130 0Т), что соответствует появившимся кислому вкусу и запаху анализируемых образцов.

Но по микробиологическим показателям как во время срока годности, так по истечению его сметана соответствовала требованиям СанПиН 2.3.2.1078 – 2001

Для того, чтобы поддерживать требуемый уровень качества кисломолочных напитков предлагаем предприятиям, реализуемым данную продукцию следующие меры:

- оснащать торговые площади совершенным холодильным оборудованием, поддерживающим необходимые условия хранения;

- соблюдать необходимые температурные режимы хранения продукции;

- уделять особое внимание транспортированию и приемке кисломолочных напитков;

- накладывать ответственность на лиц, участвующих в транспортировании, приемке и хранении данной продукции;

# Список используемой литературы

1 Горбатова К. К. Биохимия молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 1997. – 288 с.: ил.

2 Дмитриченко М. И. Экспертиза качества и обнаружение фальсификации продовольственных товаров. – СПб.: Питер, 2003. – 160с.

3 Дмитриченко М. И., Пилипенко Т. В. Товароведение и экспертиза пищевых жиров, молока и молочных продуктов. – СПб.: Питер, 2004. – 352с.

4 Жарикова Г. Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 304с.

5 Зобкова З. С., Фурсова Т. П. Пищевые добавки – улучшители консистенции молочных продуктов // Молочная промышленность. 1998. №7

6 Ильенко-Петровская Т. П., Бухтарева Э. Ф. Товароведение пищевых жиров, молока и молочных товаров: Учебник для товаров. фак. торг. вузов. – М.: Экономика 1980. – 304с.

7 Исследование продовольственных товаров: Учебное пособие для товаровед. фак. торг. вузов / Боровикова Л. А., Гримм А. И., Дорофеев А. Л. и др. – М.: Экономика, 1980. – 336с.

8 Колесник А. А., Елизарова Л. Г. Теоретические основы товароведения продовольственных товаров: Учеб. для вузов. – М.: Экономика, 1990. – 287с.

9 Круглякова Г. В., Кругляков Г. Н. Коммерческое товароведение продовольственных товаров. Учебник. – М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и Ко», 2002. – 496с.

10 Технология молока и молочных продуктов./ Г. В. Твердохлеб, З. Х. Диланян, Л. В. Чекулаева и др. – М.: Агропромиздат, 1991. – 463 с.

11 Тихомирова Н. А. Технология продуктов функционального питания. – М.: ООО «Франтэра», 2002.

12 Товароведение и экспертиза пищевых жиров, молока и молочных продуктов: Учебник для высш. учеб. заведений /М. С. Касторных, В. А. Кузьмина, Ю. С. Пучкова и др. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 288с.

13 Товароведение и экспертиза потребительских товаров: Учебник. – М.: ИНФРА-М, 2001. – 544с.

14 Товароведение продовольственных товаров: Учеб. пособие для торг. вузов / Л. А. Боровикова, В. А. Герасимова, А. М. Евдокимов и др. – М.: Экономика, 1988. – 352с.

16 Торговля и общественное питание: Выпуск 7. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. – М.: ИНФРА-М, 2002. – 216с.

17 Чепурной И. П. Идентификация и фальсификация продовольственных товаров. Учебник. – М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и Ко», 2002. – 460с.

18 Шепелов А.Ф. Товароведение и экспертиза молока и молочных продуктов: учебное пособие/ А.Ф. Шепелов, О.И. Кожухова. – Ростов-на-Дону: Издательский центр «МарТ», 2001. – 128 с.

19 Шидловская В. П. Органолептические свойства молока и молочных продуктов: Справочник. – М.: Колос, 2000. – 280с.

20 Экспертиза качества молока и кисломолочных продуктов. Автор-составитель Кузьмина В. А. Методическое руководство МВШЭ МР-010-2001. – М.: Автономная некоммерческая организация «Московская высшая школа экспертизы», 2001. – 77с.

21 ГОСТ Р 51074-2003 «Продукты пищевые. Информация для потребителя»

22 ГОСТ Р 52093-2003 «Продукты молочные. Кефир. Общие технические условия»

23 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.1078-01. – М.: ФГУП «Интер СЭН», 2002. - 168 с.

**Приложение**

**Приложение 1**

**Расчет физико-химических показателей качества кисломолочных напитков**

Общая кислотность (через 24 часа):

Образец 1:

X=20\*5,5=110,

Образец 2:

X=20\*5=100,

Образец 3:

X=20\*6=120,

Общая кислотность (через 96 часов хранения):

Образец 1:

X=20\*6=120,

Образец 2:

X=20\*6=120,

Образец 3:

X=20\*6,5=130,

Общая кислотность (через 120 часов хранения):

Образец 1:

X=20\*7=140,

Образец 2:

X=20\*7,5=150,

Образец 3:

X=20\*8=160,

**Приложение 2**

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗАТОРА "БАК ТРАК 4100"

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

1. Разработаны сотрудниками Российского информационно- налитического центра (Л.Г. Подуновой, Н.С. Кривопаловой, И.Д. Колпаковой, Р.С. Сорокиной), Госкомсанэпиднадзора России (В.Б. Скачковым) и фирмы "SY-LAB", Австрия (Э. Деннером, М. Шинкингером, Д.М. Соколовым).

2. Утверждены и введены в действие Первым заместителем Председателя Госкомсанэпиднадзора России - заместителем Главного государственного санитарного врача Российской Федерации 18 ноября 1996 года. 3. Введены впервые взамен "Методических рекомендаций по проведению бактериологических исследований с использованием микробиологического экспресс-анализатора "Бак Трак 4100", утвержденных Госкомсанэпиднадзором России 16 января 1996 г., N 01- 19/6-23, и "Методических рекомендаций по проведению бактериологических исследований питьевой воды с использованием микробиологического экспресс-анализатора "Бак Трак 4100", утвержденных 22 мая 1996 г., N 01-19/82-23.

1. Область применения

Методические указания предназначены для центров государственного санитарно-эпидемиологического надзора, других организаций, осуществляющих контроль за качеством продуктов питания и других объектов внешней среды.

2. Сущность метода

Методические указания содержат описание ускоренного метода качественного и количественного обнаружения санитарно-показательных микроорганизмов в пищевых продуктах и других объектах исследования, основанного на регистрации относительного электрического сопротивления питательной среды, происходящего под влиянием процессов роста и жизнеспособности микроорганизмов.

Одной из основных задач, стоящих перед учреждениями Госсанэпидслужбы России в соответствии с Законом РСФСР "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения", является внедрение современных инструментальных методов оценки опасных и потенциально опасных для человека химических, физических и биологических факторов окружающей природной, производственной и социальной среды как в рамках функции Госсанэпиднадзора, так и в системе обязательной сертификации продукции и услуг по показателям ее безопасности для здоровья человека. Классические методы микробиологических исследований, используемые в практической деятельности бактериологических лабораторий учреждений службы, достаточно длительны, трудоемки и позволяют получать результаты через несколько суток, что значительно снижает оперативность и эффективность госсанэпиднадзора, особенно при проведении исследований скоропортящейся продукции.

Существующие в настоящее время микробиологические автоматизированные системы на основе импедансных технологий позволяют получать быстрые (в течение нескольких часов) и надежные результаты для большого числа одновременно исследуемых образцов. В основе метода импедансной микробиологии лежит измерение изменения электрической проводимости питательной среды под воздействием роста микроорганизмов, что впервые было показано Стюартом в 1898 году. Однако этот метод получил свое развитие лишь в 70-е годы с появлением соответствующего электронного оборудования и компьютерной техники. Импедансная микробиология является непрямым культуральным методом обнаружения микроорганизмов путем определения электрического импеданса. Изменение импеданса происходит в питательной среде по мере того, как ее химический состав изменяется в результате роста и метаболической активности микроорганизмов. При этом незаряженные или слабозаряженные составляющие питательной среды превращаются в сильнозаряженные конечные продукты: белки метаболизируются до аминокислот, углеводы и жиры до органических кислот. Эти электрохимические изменения приводят к существенным изменениям импеданса, экспоненциальные изменения сигнала могут наблюдаться, когда количество микробных клеток достигает порога 106 - 107 клеток/мл. Время, необходимое для достижения значимого изменения импеданса, называется временем определения импеданса (IDT), значение которого обратно пропорционально начальной концентрации микроорганизмов в пробе.

Среди разработанных и применяющихся в настоящее время исследовательских микробиологических систем, предназначенных для ускоренного обнаружения микроорганизмов на основе импедансных технологий, наибольшее распространение получил микробиологический анализатор "Бак Трак 4100" производства австрийской фирмы "SY- LAB". "Бак Трак 4100" является автоматизированной системой для ускоренной (в течение 6 - 8 часов) количественной и качественной оценки степени микробного загрязнения продуктов питания, питьевой воды, напитков, парфюмерно-косметической продукции, контроля за стерильностью различных материалов и растворов.

Прибор автоматически определяет основные санитарно-значимые показатели - мезофильные аэробы и факультативные анаэробы, бактерии группы кишечных палочек (колиформы), патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы и листерии), сульфитредуцирующие клостридии, лактобациллы, энтерококки, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, а также дрожжи и плесени. Кроме того, прибор позволяет также определять наличие ингибиторных веществ в различных продуктах и пищевом сырье. Главным преимуществом микробиологического анализатора "Бак Трак 4100" по сравнению с аналогичными приборами других фирм (благодаря наличию двух пар электродов в измерительных ячейках) является одновременная регистрация двух параметров: М-параметр - относительное изменение полного электрического импеданса (сопротивление + емкость) питательной среды и Е-параметр - относительное изменение импеданса в зоне двойного электрического слоя между электродами. Оба электрических параметра показывают высокую степень корреляции с кривой роста, однако сдвиги в концентрации ионов, происходящие в процессе жизнедеятельности микроорганизмов, сильнее влияют на Е-параметр, чем на М-параметр, который описывает весь объем образца. В системе "Бак Трак 4100" для обнаружения микроорганизмов, вызывающих незначительные изменения проводимости питательной среды (дрожжи и плесени), используется метод "непрямого импеданса". Сущность метода заключается в регистрации СО , образующегося в 2 процессе метаболизма микроорганизмов, в присутствии щелочи:

СО = 2ОН -> СО + Н О.

Наиболее существенным преимуществом метода "непрямого импеданса" является его большая чувствительность. Так, методом "непрямого импеданса" возможно определять 10 - 10 клеток дрожжей в мл, что на порядок ниже по сравнению с прямым. Таким образом, измерительная система прибора "Бак Трак 4100" реализует принцип разделения импедансного сигнала, регистрируя одновременно как импеданс среды, так и электродный импеданс, а также позволяет проводить измерения прямым и "непрямым методом", что делает возможным использование любых (в том числе и отечественных) питательных сред для проведения исследований.

3. Методики определения санитарно-показательных, потенциально патогенных и патогенных микроорганизмов

3.1. Определение мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов

1. Среда BiMedia 001A (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Дать среде BiMedia 001А уравновеситься при комнатной температуре в течение 6 ч.

2.2. Установить температуру 30 -С на приборе "Bac Trac".

2.3. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 50%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч.

Пороговые значения (Thresholds): выбирается соответствующий калибровочный файл для данного вида продукции и параметры пороговых значений вносятся автоматически.

Учет результатов проводится по М-параметру.

3. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 001A.

4. Внести 1 мл предварительно подготовленного в соответствии с требованиями нормативной документации исследуемого образца продукта в измерительную ячейку с 9 мл среды.

5. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 001А (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция блока будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Вас Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически. При пересечении порогового значения происходит автоматический подсчет численности микроорганизмов в исследуемом образце.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Результат определения КОЕ (CFU) выдается автоматически в виде количества микроорганизмов в 1 мл исследуемого продукта. Если исследуется твердый продукт, то результат определения КОЕ (CFU) необходимо умножить на степень разведения (х 10) для получения КОЕ в 1 г продукта. Примечание. Основные этапы создания калибровочного файла рассмотрены в гл. 4 данных Указаний.

3.2. Определение бактерий группы кишечных палочек - БГКП (колиформ)

1. Среда BiMedia 160B (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

2.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 50%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 5%

Е-параметр 10%

Проводить учет результатов по М-параметру.

Пороговое значение по времени

(Time limit 1) 12 ч

Пороговое значение по времени

(Time limit 2) 18 ч.

3. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 160B.

4. Добавить исследуемый образец из соответствующего разведения продукта, в котором не допускается наличие БГКП.

4.1. Если наличие БГКП не допускается в 0,01 г продукта, то для исследования берется 1 мл из разведения 1:100.

4.2. Если наличие БГКП не допускается в 0,1 г продукта, то для исследования берется 1 мл из разведения 1:10.

4.3. Если наличие БГКП не допускается в 1 г продукта, то для исследования берется 5 мл из разведения 1:5 и добавляется к 5 мл среды 160В двойной концентрации.

Возможен также альтернативный вариант при использовании измерительных ячеек на 100 мл.

4.4. Если наличие БГКП не допускается в 1 г продукта, то для исследования берется 10 мл из разведения 1:10 и добавляется к 90 мл среды BiMedia 160B.

4.5. Если наличие БГКП не допускается в 10 г продукта, то для исследования берется 10 мл из разведения 1:1 и добавляется по 5 мл гомогената в две измерительные ячейки к 5 мл среды 160В двойной концентрации.

Возможен также альтернативный вариант при использовании измерительных ячеек на 100 мл.

4.6. Если наличие БГКП не допускается в 10 г продукта, то для исследования берется 10 мл из разведения 1:5 и добавляется к 50 мл среды BiMedia 160B двойной концентрации.

5. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 160B (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Исследуемое количество продукта содержит единичные клетки БГКП, и проба считается контаминированной колиформами, если изменение импеданса превышает 5%-ное пороговое значение по М-параметру и 10%- ное пороговое значение по Е-параметру в течение 12 ч. При положительном результате наблюдается изменение цвета питательной среды (исходный пурпурный цвет среды меняется на желтый). Дополнение. Если клетки БГКП находились в стрессовом состоянии (термическая обработка, замораживание, высушивание и т.п.), то может наблюдаться более медленный рост культуры с увеличением времени определения по М-параметру до 18 ч. В этом случае проба считается контаминированной, если изменение импеданса превышает 5%-ное пороговое значение по М-параметру и 10%- ное пороговое значение по Е-параметру в течение 18 ч.

3.3. Определение сальмонелл

Определение сальмонелл возможно проводить либо на среде BiMedia 201B, либо на среде BiMedia 205A.

3.3.1. Определение сальмонелл на среде BiMedia 201B.

1. Среда: BiMedia 201B (Rappaport-Vassiliadis) (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Предварительное обогащение.

Смешать необходимое количество продукта, в котором регламентируется отсутствие сальмонелл, со стерильной 1%-ной пептонной водой или средой Pre-Media 205А в соотношении 1:10.

Тщательно перемешать. Инкубировать в течение 14 - 16 ч при 37 -С.

Период предварительной инкубации для мясных, рыбных и молочных продуктов составляет 7 - 8 ч при 37 -С.

3. Протокол измерения.

3.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

3.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 80%

Е-параметр 0 - 80%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 5%

Е-параметр 15%.

Проводить учет результатов по Е-параметру.

Пороговое значение по времени (Time limit) 12 ч 30 мин.

4. Добавить в каждую измерительную ячейку по 10 мл среды BiMedia 201B.

5. Внести 0,1 мл предобогащенного образца в ячейку; тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с

10 мл среды BiMedia 201B (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac". Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор.

Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Образец загрязнен сальмонеллами, если изменение импеданса по Е-параметру превышает 15%-ное пороговое значение в течение 12 ч 30 мин.

9. Подтверждение Salmonella-позитивных образцов. В случае положительного ответа на сальмонеллы проводитсяподтверждение с высевом на селективные питательные среды в соответствии с нормативными документами. Высев производится непосредственно из измерительной ячейки.

3.3.2. Определение сальмонелл на среде BiMedia 205A.

1. Среда BiMedia 205A (Selenite-Cystine media) (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Предварительное обогащение. Смешать необходимое количество продукта, в котором регламентируется отсутствие сальмонелл, со стерильной 1%-ной пептонной водой или средой Pre-Media 205A в соотношении 1:10. Тщательно перемешать. Инкубировать в течение 16 - 18 ч при 37 -С.

3. Протокол измерения.

3.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

3.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 30%

Е-параметр 0 - 30%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

Е-параметр 10%

М-параметр 5%.

Проводить учет результатов по Е-параметру.

Time limit (пороговое значение по времени) 23 ч.

4. Добавить в каждую измерительную ячейку по 10 мл среды BiMedia 205A.

5. Добавить 0,1 мл предобогащенного образца в ячейку; тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 205A (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор.

Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Образец загрязнен сальмонеллами, если изменение импеданса превышает 10%-ное пороговое значение по Е-параметру и 5%-ное пороговое значение по М-параметру в течение 23 ч.

9. Подтверждение Salmonella-позитивных образцов. В случае положительного ответа на сальмонеллы проводится подтверждение с высевом на селективные питательные среды в соответствии с нормативными документами. Высев производится непосредственно из измерительной ячейки.

3.4. Определение энтерококков

1. Среда BiMedia 301А (готовится в соответствии с инструкцией -см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

2.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 50%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 5%

Е-параметр 10%.

Проводить учет результатов по М-параметру.

Пороговое значение по времени (Time limit) 23 ч.

3. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 301А.

4. Добавить исследуемый образец из соответствующего разведения продукта, в котором не допускается наличие энтерококков.

5. Тщательно перемещать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 301А (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Образец загрязнен энтерококками, если изменение импеданса превышает 5%-ное пороговое значение по М-параметру и 10%-ное пороговое значение по Е-параметру в течение 23 ч.

3.5. Определение Staphylococcus aureus

1. Среда BiMedia (Pre-Media 350A и BiMedia 350A) (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Приготовление образца.

Смешать 10 г продукта со стерильной водой в соотношении 1:10, затем тщательно гомогенизировать образец.

3. Предварительное обогащение.

Добавить необходимое количество суспензии продукта, в котором регламентируется отсутствие Staphylococcus aureus (например, 10 мл суспензии, если Staphylococcus aureus определяется в 1 г продукта, и 1 мл суспензии, если Staphylococcus aureus определяется в 0,1 г продукта, к 90 мл или 9 мл среды Pre-Media 350А соответственно).

Инкубировать образец 24 ч.

4. Протокол измерения.

4.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

4.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 30%

Е-параметр 0 - 30%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

Е-параметр 10%

М-параметр 5%.

Проводить учет результатов по Е-параметру.

Пороговое значение по времени (Time limit) 23 ч.

5. Добавить в каждую измерительную ячейку по 10 мл среды BiMedia 350A.

6. Добавить 0,1 мл предобогащенного образца в ячейку; тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

7. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 350A (без инокулята).

8. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

9. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Примечание.

Время между внесением предобогащенных образцов в ячейки и загрузкой измерительных ячеек в инкубаторный блок не должно превышать 15 мин. В случае превышения данного интервала времени могут быть получены ложные результаты!

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Образец загрязнен Staphylococcus aureus, если изменение импеданса превышает 10%-ное пороговое значение по Е-параметру в течение 23 ч.

10. Подтверждение Staphylococcus aureus - позитивных образцов. В случае положительного ответа на Staphylococcus aureus проводится подтверждение в соответствии с нормативными документами (постановка коагулазного, каталазного тестов и теста гемагглютинации). Материал берется непосредственно из измерительной ячейки.

3.6. Определение листерий

1. Среда Pre-Media 403А и BiMedia 403А (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Предварительное обогащение.

Для предварительного обогащения используется среда Pre-Media 403А.

Смешать необходимое количество продукта, в котором регламентируется отсутствие листерий, со средой Pre-Media 403А в соотношении 1:10, затем гомогенизировать образец.

Инкубировать образец со средой Pre-Media 403А в течение 24 ч.

3. Протокол измерения.

3.1. Дать среде BiMedia 403А уравновеситься при комнатной температуре в течение 12 ч.

3.2. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

3.3. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 36 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 20%

Е-параметр 0 - 80%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 5%

Е-параметр 15%.

Проводить учет результатов по Е-параметру.

Пороговое значение по времени (Time limit) 30 ч.

4. Добавить в каждую измерительную ячейку по 10 мл среды BiMedia 403А.

5. Добавить в ячейку 0,1 мл предобогащенного образца; тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 403А (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac". Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ: Образец загрязнен листериями, если изменение импеданса превышает 15%-ное пороговое значение по Е-параметру в течение 30 ч.

9. Подтверждение Listeria-позитивных образцов. В случае положительного ответа на листерии проводится подтверждение с высевом на селективные питательные среды в соответствии с нормативными документами. Высев производится непосредственно из измерительной ячейки.

3.7. Определение дрожжей и плесеней

Определение дрожжей и плесеней основано на использовании непрямого метода определения изменения импеданса среды. Сущность непрямого метода заключается в следующем: СО, образующийся в процессе роста дрожжей (плесеней), поглощается раствором щелочи, изменяя проводимость среды. Изменение проводимости раствора щелочи регистрируется на приборе "Bac Trac". Для данного метода используются ячейки двух типов: 1) измерительные неавтоклавируемые 10 мл КОН-ячейки (стойкие к воздействию щелочи); 2) автоклавируемые 2 мл криопробирки для исследуемых образцов.

1. Среда BiMedia 501B (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

1.1. Для исследования дрожжей рекомендуется использовать среду BiMedia 501B.

1.2. Приготовить 0,2%-ный раствор КОН (2 г твердого КОН растворите в 1 л дистиллированной воды). Раствор КОН должен храниться в холодильнике тщательно закрытым. Срок хранения раствора КОН - 1 неделя.

2. Протокол измерения.

2.1. Установить температуру 30 -С на приборе "Bac Trac".

2.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры: Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters): Время исследования (Duration) 24 ч Масштаб измерений (Scale): М-параметр (-90 - 10)% Е-параметр (-90 - 10)% Время задержки (Delay) 1 ч. Пороговые значения (Thresholds): выбирается соответствующий калибровочный файл для исследования дрожжей (плесеней) и параметры пороговых значений вносятся автоматически либо проводить учет по М- параметру (-20%). Установить значение параметра Drop Stop No.

3. В измерительную КОН-ячейку внести 1 мл 0,2%-ного раствора КОН.

4. Внести 1 мл среды BiMedia 501B в стерильную криопробирку.

5. Внести 1 мл предварительно подготовленного в соответствии с требованиями нормативной документации исследуемого образца продукта в криопробирку с 1 мл среды.

6. При закрытии криопробирки необходимо оставить приблизительно 1 мм на резьбе между флаконом и крышкой с тем, чтобы была возможность выхода СО при его образовании и повышении 2 давления в пробирке. Не открывать крышку криопробирки более, чем рекомендовано, так как это может блокировать работу клапанной системы ячейки. Избегайте прикосновения наконечником пипетки к резьбе криопробирки во время ее заполнения. Жидкость может препятствовать выходу газа из ячейки и вызывать ошибочные сигналы.

7. Для контроля использовать одну криопробирку с 2 мл среды (без инокулята).

8. Поместить криопробирку в КОН-ячейку между 4-мя электродами.

9. Тщательно закрыть КОН-ячейку.

10. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

11. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Вас Trac". Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически. При пересечении порогового значения происходит автоматический подсчет численности дрожжей (плесеней) в исследуемом образце.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Результат определения численности дрожжей (плесеней) КОЕ (CFU) выдается автоматически в виде количества микроорганизмов в 1 мл исследуемого продукта. Если исследуется твердый продукт, то результат определения КОЕ (CFU) необходимо умножить на степень разведения (х 10) для получения КОЕ в 1 г продукта.

3.8. Определение лактобацилл

1. Среда BiMedia 620A (готовится в соответствии с инструкцией -см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

2.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 50%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 5%

Е-параметр 10%.

Проводить учет результатов по М- и Е-параметрам.

Пороговое значение по времени (Time limit) 23 ч.

3. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 620A.

4. Добавить исследуемый образец из соответствующего разведения продукта, в котором не допускается наличие лактобацилл.

5. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 620A (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Образец загрязнен лактобациллами, если изменение импеданса превышает 5%-ное пороговое значение по М-параметру и 10%-ное пороговое значение по Е-параметру в течение 23 ч.

3.9. Определение сульфитредуцирующих клостридий

1. Среда BiMedia 660A (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Установить температуру 43 - С на приборе "Bac Trac".

2.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры: Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters): Время исследования (Duration) 24 ч Масштаб измерений (Scale): М-параметр 0 - 50% Е-параметр 0 - 50% Время задержки (Delay) 1 ч Пороговые значения (Thresholds): М-параметр 5% Е-параметр 10%. Проводить учет результатов по М-параметру. Пороговое значение по времени (Time limit) 23 ч. Определение сульфитредуцирующих клостридий необходимо проводить, используя измерительные ячейки для анаэробов (измерительные ячейки с серыми крышками). Определение сульфитредуцирующих клостридий возможно также проводить, используя обычные измерительные ячейки (см. примечание).

3. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 660A и автоклавировать ячейки с внесенной в них питательной средой (крышки должны быть приоткрыты!).

4. Приготовить соответствующие разведения продукта, в котором не допускается наличия сульфитредуцирующих бактерий.

5. Внести 1 мл исследуемого образца в измерительные ячейки сразу после автоклавирования, не дожидаясь снижения температуры (приблизительно 85 -С).

6. Закрыть измерительные ячейки крышками.

7. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

8. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 660A (без инокулята).

9. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения. 10. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac". Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ: Образец загрязнен сульфитредуцирующими клостридиями, если изменение импеданса превышает 5%-ное пороговое значение по М- параметру и 10%-ное пороговое значение по Е-параметру в течение 23 ч. На стенках измерительной ячейки должен обнаруживаться выпавший осадок черного цвета.

Примечание. Определение сульфитредуцирующих клостридий возможно также проводить, используя обычные измерительные ячейки и парафиновое масло. Для этого необходимо добавить в каждую измерительную ячейку по 8 мл среды BiMedia 660A и 1 мл парафинового масла (как покрывающий слой) и автоклавировать ячейки с внесенной в них питательной средой и парафиновым маслом (крышки должны быть приоткрыты!). Далее следует выполнить пункты 4 - 10 по основной методике (см. выше).

3.10. Определение Bacillus cereus

1. Среда: модификация селективной среды Мозеля (готовится в соответствии с инструкцией - см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Установить температуру 37 -С на приборе "Bac Trac".

2.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 50%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 5%

Е-параметр 10%.

Проводить учет результатов по М-параметру.

Пороговое значение по времени (Time limit) 30 ч.

3. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл модифицированной среды Мозеля.

4. Добавить исследуемый образец из соответствующего разведения продукта, в котором не допускается наличие Bacillus cereus.

5. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

6. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл модифицированной среды Мозеля (без инокулята).

7. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

8. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки вприбор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IД) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Образец загрязнен Bacillus cereus, если изменение импеданса превышает 5%-ное пороговое значение по М-параметру в течение 30 ч.

4. Основные этапы создания калибровочного файла

Для создания калибровочного файла необходимо провести не менее 80 параллельных исследований для одного типа продукции как классическим методом (подсчет КОЕ на чашках Петри), так и автоматическим - с помощью прибора "Бак Трак 4100".

Для этого необходимо:

1. В основном меню программы "Bac Trac" в разделе "Задание пороговых значений" (Thresholds) не указывать пороговые значения (None).

2. Выполнить следующие пункты методики определения мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов:

2.1. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 001А.

2.2. Внести 1 мл предварительно подготовленного в соответствии с требованиями нормативной документации исследуемого образца продукта в измерительную ячейку с 9 мл среды.

2.3. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

2.4. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 001А (без инокулята).

2.5. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

2.6. После того как каждая позиция блока будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

3. Провести параллельный посев исследуемого продукта на чашки Петри с плотной питательной средой для определения КОЕ в 1 мл жидкого или в 0,1 г твердого продукта.

4. По окончании анализа результат высева (КОЕ в 1 мл жидкого или в 0,1 г твердого продукта), полученный на чашках Петри, занести в соответствующий файл данных программы "Bac Trac". Для этого:

4.1. В основном меню программы "Bac Trac" выбрать раздел "Работа с данными" (Data Functions).

4.2. В меню Data Functions выбрать соответствующие файлы исследования данного продукта в разделе "Выбор файлов" (Select files).

4.3. Внести в меню Data Functions в разделе "Ввод численных значений" (Enter values) результаты КОЕ (в 1 мл жидкого или в 0,1 г твердого продукта) для соответствующих исследованных образцов продуктов.

5. После того как будет получено не менее 80 результатов исследования КОЕ для одного типа продукции двумя параллельными методами - классическим (на чашках Петри) и автоматическим – с помощью прибора "Bac Trac", можно приступать к созданию калибровочного файла для данного типа продукта.

6. Основные этапы создания калибровочного файла:

6.1. В основном меню программы "Bac Trac" выбрать раздел "Работа с данными" (Data Functions).

6.2. В меню Data Functions выбрать соответствующие файлы (не менее 80) исследования данного продукта в разделе "Выбор файлов" (Select files) (данные КОЕ в 1 мл жидкого или в 0,1 г твердого продукта должны быть внесены заранее - см. п. 4).

6.3. В меню Data Functions выбрать раздел "Построение калибровочного файла" (Correlation).

6.4. Указать "Пороговое значение" (Threshold) для М- или Е-параметра, по которому будет проводиться построение калибровочной кривой. Как правило, для построения калибровочной кривой используется М-параметр, численное значение которого 5%.

6.5. После задания порогового значения М-параметра необходимо вычислить корреляцию (Calculate).

6.6. Если коэффициент корреляции превышает (-0,85), то данная калибровочная кривая показывает высокую степень корреляции и отвечает требованиям (рис. 4.1 - здесь и далее рисунки не приводятся).

6.6.1. Указать "Пороговое значение по времени" (Time-Limits).

Для этого в полученное уравнение регрессии (уравнение калибровочной кривой) необходимо подставить максимально допустимое значение КОЕ (CFU) в 1 мл для жидкого или в 0,1 г для твердого продукта, взятое из соответствующих нормативных документов. Далее следует вычислить логарифм КОЕ (CFU) и определить из уравнения значение времени - (t). Это и есть величина "Порогового значения по времени" (Time-Limits) для данного продукта.

6.6.2. Теперь данная калибровочная кривая может быть записана на диск (Disk) в виде калибровочного файла (Filename).

6.6.3. При необходимости вносится дополнительный комментарий (Comment) для более детального описания калибровочного файла.

6.7. Если коэффициент корреляции не превышает (-0,85), то необходимо более детально проанализировать полученную зависимость. Как правило, прослеживается общая тенденция - большинство точек находится вблизи калибровочной кривой и имеются лишь отдельные "точки-выбросы", которые расположены вдали от калибровочной кривой. В этом случае необходимо "точки-выбросы" исключить. Это приведет к существенному повышению коэффициента корреляции.

7. После создания калибровочного файла необходимо выбрать данный калибровочный файл при задании пороговых значений Thresholds в главном меню программы "Bac Trac" для автоматического подсчета КОЕ.

5. Исследование пищевых продуктов

Исследование пищевых продуктов проводится по микробиологическим показателям, определяемым в соответствии с "Медико-биологическими требованиями и санитарными нормами качества продовольственного сырья и пищевых продуктов" (МЗ СССР, N 5061-89 от 01.08.89), ГОСТами и другими нормативно-техническими документами. Подготовка проб для исследования осуществляется в соответствии с требованиями нормативной документации, регламентирующей данный этап проведения микробиологических анализов пищевых продуктов (ГОСТ 26669-85, 9958-81, 9225-84 и т.д.). 5.1. Мясные продукты

1) мясо замороженное (говядина, телятина, свинина замороженная куском, птица, фарш говяжий); 2) колбасные изделия (колбасы сырокопченые, полукопченые, варено-копченые; колбасы вареные, сосиски, сардельки, хлеба мясные); 3) мясные вареные и запеченные продукты (окороки, говядина прессованная, баранина в форме, бекон прессованный; буженина, ветчина в оболочке, рулеты); 4) готовые мясные изделия (рубленые изделия, студни, паштеты). Определяемые показатели (указаны для всей группы продуктов): 1) мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы; 2) бактерии группы кишечных палочек; 3) сальмонелла; 4) сульфитредуцирующие клостридии; 5) staphylococcus aureus; 6) энтерококки. Для автоматического подсчета KOE (CFU) в 1 г можно воспользоваться коммерческим калибровочным файлом MEAT. COR. Микробиологические показатели для данной группы пищевых продуктов определяются по методикам, представленным в гл. 3 данных Указаний.

5.2. Рыбные продукты

1) рыба свежая, охлажденная и мороженая;

2) рыба горячего копчения;

3) рыба холодного копчения;

4) кулинарные изделия из рыбы (рыба жареная, фаршевые изделия из рыбы (котлеты), рыбные палочки);

5) икра лососевых рыб, баночная зернистая.

Определяемые показатели (указаны для всей группы продуктов):

1) мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы;

2) бактерии группы кишечных палочек;

3) сальмонелла;

4) сульфитредуцирующие клостридии;

5) staphylococcus aureus;

6) плесени;

7) дрожжи.

Для автоматического подсчета KOE (CFU) в 1 г можно воспользоваться коммерческим калибровочным файлом FISH. COR. Микробиологические показатели для данной группы пищевых продуктов определяются по методикам, представленным в гл. 3 данных

Указаний.

5.3. Молоко и молочные изделия

1) молоко пастеризованное (группа А; группа В; во флягах и цистернах);

2) молоко коровье сухое цельное;

3) кисломолочные продукты (кефир, простокваша, сметана всех видов);

4) мороженое;

5) творог мягкий диетический;

6) масло крестьянское сладко-сливочное.

Определяемые показатели (указаны для всей группы продуктов):

1) мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы;

2) бактерии группы кишечных палочек;

3) сальмонелла;

4) staphylococcus aureus.

Для автоматического подсчета KOE (CFU) в 1 мл (или 1 г) продукта можно воспользоваться коммерческим калибровочным файлом MILK. COR.

Микробиологические показатели для данной группы пищевых продуктов определяются по методикам, представленным в гл. 3 данных

Указаний.

5.4. Кондитерские изделия

1) кондитерские сахаристые изделия (конфеты, пастила, орехи и т.п.);

2) кондитерские мучнистые изделия (рулеты, торты, кексы, вафли и т.п.).

Определяемые показатели (указаны для всей группы продуктов):

1) мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы;

2) бактерии группы кишечных палочек;

3) сальмонелла;

4) staphylococcus aureus;

5) дрожжи;

6) плесени.

Для автоматического подсчета KOE (CFU) в 1 г можно воспользоваться коммерческим калибровочным файлом CONFECT. COR.

Микробиологические показатели для данной группы пищевых продуктов определяются по методикам, представленным в гл. 3 данных

Указаний.

5.5. Консервы

Контроль микробиологического качества консервов проводится в соответствии с действующей "Инструкцией о порядке санитарно- технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания", утвержденной Комитетом государственного санэпиднадзора Российской Федерации 21 июля 1992 г., N 01-19/9-11, и ГОСТами "Консервы. Методы микробиологического анализа", 1993 г. В данных Указаниях приводится методика определения соответствия консервов требованиям промышленной стерильности и микробиологической стабильности. Определяемые показатели:

1. мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы;

2. мезофильные анаэробные микроорганизмы;

3. дрожжи и плесневые грибы;

4. молочнокислые микроорганизмы. Микробиологические показатели для данной группы пищевых продуктов определяются по методикам, представленным в гл. 3 данных Указаний.

5.6. Напитки

1. Минеральные воды (питьевые).

2. Напитки без консерванта и с консервантом.

3. Пиво:

а) специальные сорта (сухие вещества 12% и более);

б) массовые сорта (сухие в сусле 10 - 11%).

4. Соки: стерилизованные с большим сроком хранения исследуются на промышленную стерильность с термостатной выдержкой по ГОСТу.

Определяемые показатели (указаны для всей группы продуктов):

1) мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы;

2) бактерии группы кишечных палочек;

3) сальмонелла;

4) pseudomonas aeruginosa.

Для автоматического подсчета KOE (CFU) в 1 мл можно воспользоваться коммерческим калибровочным файлом DRINK. COR.

Микробиологические показатели для данной группы пищевых продуктов определяются по методикам, представленным в гл. 3 данных

Указаний.

6. Исследование питьевой воды

Утратил силу. - МУК 4.2.1111-02, утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 26.02.2002

7. Исследование парфюмерно-косметической продукции

Исследование парфюмерно-косметической продукции проводится в соответствии с "Временным перечнем показателей, подлежащих обязательному контролю при проведении гигиенической сертификации средств гигиены полости рта и парфюмерно-косметических средств" от 21.12.93 ГКСЭН РФ.

Вид продукции:

1) Зубные пасты.

2) Парфюмерно-косметические средства:

2.1. ампульная косметика - стерильная продукция;

2.2. косметика для глаз, средства ухода за младенцами;

2.3. косметика для общего употребления.

Определяемые показатели (для косметики общего употребления):

1) Мезофильные аэробы и факультативные анаэробы - не более 10 в 1 г (куб. см).

2) Плесневые грибы, Candida - не более 10 в 1 г (куб. см).

Подготовка проб к исследованию.

Смешать 10 г исследуемого образца с 90 мл инактивационной смеси

Состав инактивационной смеси:

1. Твин-80 - 3,0%

2. Лецитин - 0,3%

3. L-Histidine HCl - 0,1%

4. Na S O х 5H O - 0,5%

5. Peptone - 0,1%.

Режим стерилизации инактивационной смеси - 1 атм. 15 мин.

Определение мезофильных аэробных и факультативныханаэробных микроорганизмов

1. Среда BiMedia 001А (готовится в соответствии с инструкцией -см. гл. 10).

2. Протокол измерения.

2.1. Дать среде BiMedia 001А уравновеситься при комнатной температуре в течение 6 ч.

2.2. Установить температуру 30 -С на приборе "Bac Trac".

2.3. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 24 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 50%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч.

3. Пороговые значения (Thresholds).

3.1. Выбирается соответствующий калибровочный файл для данного вида косметической продукции и параметры пороговых значений вносятся автоматически.

3.2. В отсутствие калибровочного файла одновременно с посевом исследуемого образца на среду BiMedia 001A производится определение общего количества бактерий классическим методом на чашках Петри.

Результаты, полученные при классическом методе исследования (KOE (CFU) в 0,1 мл), вносят в соответствующий файл (MAIN MENU/DATA FUNCTION/ENTER VALUES).

Основные этапы создания калибровочного файла рассмотрены в гл. 4 данных Указаний.

Учет результатов проводится по М-параметру.

4. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл среды BiMedia 001A.

5 Внести 1 мл предварительно подготовленного в соответствии с требованиями нормативной документации исследуемого образца в измерительную ячейку с 9 мл среды.

6. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

7. Для контроля среды используйте одну измерительную ячейку с 10 мл среды BiMedia 001A (без инокулята).

8. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

9 После того как каждая позиция блока будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

При пересечении порогового значения происходит автоматический подсчет численности микроорганизмов в исследуемом образце.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Результат определения КОЕ (CFU) выдается автоматически в виде количества микроорганизмов в 0,1 мл исследуемого образца.

Определение дрожжей и плесеней

Определение дрожжей и плесеней рассмотрено в гл. 3.

Для количественного определения дрожжей и плесеней необходимо построить соответствующий калибровочный файл для данного вида продукции.

При наличии калибровочного файла все параметры пороговых значений вносятся автоматически.

Основные этапы создания калибровочного файла рассмотрены в гл. 4 данных Указаний.

8. Определение общего количества ингибирующих веществ (в том числе антибиотиков) в пищевых продуктах

Импедансный метод определения общего количества ингибирующих веществ предназначен для скринингового выявления нестандартной животноводческой продукции с целью дальнейшего количественного определения антибиотиков классическим методом. Использование импедансного метода для определения общего количества ингибирующих веществ в пищевых продуктах и производственном сырье основано на сравнении степени угнетения роста тест-культуры Streptococcus thermophylus ингибирующими веществами, содержащимися в исследуемом образце, с контрольной кривой роста.

1. Приготовление тест-культуры.

Культивирование тест-культуры Streptococcus thermophylus проводится в соответствии с ГОСТом 23454-79 "Молоко. Методы определения ингибирующих веществ", ИУС N 2268 от 28.12.91.

2. Подготовка проб к исследованию.

2.1. Подготовка проб к исследованию проводится по МУК 42.026-95 от 29.03.95 "Экспресс-метод определения антибиотиков в пищевых продуктах" (п. 3.1.1).

2.2. Определение ингибирующих веществ проводится в объеме, нормируемом МБТ N 5961-89 по всем видам животноводческой продукции.

3. Среда: стерильное обезжиренное молоко, проверенное на отсутствие ингибирующих веществ.

4. Протокол измерения.

4.1. Установить температуру 40 -С на приборе "Bac Trac".

4.2. В основном меню программы "Bac Trac" установить следующие параметры:

Параметры для инкубаторного блока (Adjust parameters):

Время исследования (Duration) 4 ч

Масштаб измерений (Scale):

М-параметр 0 - 30%

Е-параметр 0 - 50%

Время задержки (Delay) 1 ч

Пороговые значения (Thresholds):

М-параметр 4%

Е-параметр 10%.

Проводить учет результатов по М-параметру.

Пороговое значение по времени

(Time limit 1) 1 ч.

5. Добавить в каждую измерительную ячейку по 9 мл стерильного обезжиренного молока.

6. Добавить 1 мл исследуемого образца из соответствующего разведения продукта согласно нормативным документам МБТ N 5961-89.

6.1. Если количество ингибирующих веществ определяется в 1 г образца, то необходимо приготовить суспензию в соотношении 1:2 (образец, физ. раствор соответственно) и внести в измерительную ячейку 2 мл к 8 мл стерильного обезжиренного молока. В контрольную ячейку вносится 2 мл физ. раствора вместо образца.

7. Для контроля используйте одну измерительную ячейку с 9 мл стерильного обезжиренного молока (без инокулята) и 1 мл физ. раствора.

8. Внести 0,1 мл тест-культуры Streptococcus thermophylus в опытные и контрольную ячейки.

9. Тщательно перемешать содержимое, вращая ячейку между ладонями (не переворачивать ячейку!).

10. Выбрать в основном меню программы ЗАПУСК ИЗМЕРЕНИЙ (Start Measurement) и начать измерения.

11. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная на экране монитора, поместить измерительные ячейки в прибор "Bac Trac".

Измерение начнется автоматически через 1 ч после загрузки ячеек в прибор. Рост микроорганизмов и время определения изменения импеданса (IDT) будут записаны автоматически.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Учет результатов основан на сравнении степени угнетения роста тест-культуры ингибирующими веществами, содержащимися в испытуемом материале, с ее ростом в контрольной ячейке (рис. 8.1). Оценка осуществляется по двум параметрам:

1) время пересечения 4% порогового значения по М-параметру менее чем за 1 ч; 2) диапазон масштаба изменения импеданса по М-параметру за 2,5 ч. Если исследуемый образец содержит ингибирующие вещества, то наблюдается увеличение времени пересечения порогового значения по М-параметру и уменьшение масштаба изменения импеданса по М- параметру по сравнению с контролем (тест-культура).

9. Типичные кривые изменения импеданса при исследовании санитарно-показательных, потенциально патогенных и патогенных микроорганизмов (рисунки кривых не приводятся)

10. Инструкции по приготовлению питательных сред

10.1. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 001А BiMedia 001A - определение общей микробной численности

1. Растворить необходимое количество среды в дист. воде (соотношение указано на упаковке).

2. Разделить приготовленную среду на порции и стерилизовать при 1 атм. 15 мин.

3. После стерилизации среда должна уравновеситься в течение 6 часов при комнатной температуре. Примечание: приготовленная среда должна храниться при 4 -C. Срок хранения - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.2. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 160B BiMedia 160В - определение БГКП (колиформы)

1. Растворить необходимое количество среды в дист. воде (соотношение указано на упаковке).

2. Разделить приготовленную среду на порции и автоклавировать при 1 атм. 15 мин. 3. После стерилизации среда должна уравновеситься в течение 6 часов при комнатной температуре. Примечание: приготовленная среда должна храниться при 4 -С. Срок хранения - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.3. Инструкция по приготовлению среды Pre-Media 205A Pre-Media 205A - среда для предобогащения сальмонелл

1. Растворить Pre-Media 205A в стерильной дистиллированной воде из расчета 26 г на 1 л воды.

2. Довести рН до 7,2 +/- 0,1 (если необходимо).

3. Разделить приготовленную среду на порции по 500 мл.

4. Автоклавировать среду при 1 атм. 15 мин. 5. Дать остыть среде при комнатной температуре. Примечание: приготовленная среда должна храниться при 4 -С. Срок хранения - 3 недели. Длительное нагревание и обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.4. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 201B BiMedia 201B для определения сальмонелл Среда BiMedia 201В - модификация среды Rappaport-Vassilidas. 1. Растворить необходимое количество среды BiMedia 201B и добавки Supplement 201B в дист. воде (соотношение указано на упаковке). 2. Довести рН среды от исходного 5,7 - 6,2 (сразу после растворения) до 6,8 +/- 0,1, медленно (по каплям) добавляя 2 N р-р NaOH при постоянном перемешивании на магнитной мешалке, избегая выпадения осадка. 3. Разлейте приготовленную среду по флаконам по 500 мл и пастеризуйте на водяной бане при 80 -С в течение 10 мин. Для контроля температуры используйте дополнительный флакон с 500 мл воды и помещенным в него термометром. После того как температура в контрольном флаконе достигнет 80 -С, необходимо продолжать прогревание еще 10 мин. В качестве альтернативы можно использовать прогревание среды на пару при 100 -С в течение 10 мин. В этом случае можно не контролировать время, необходимое для достижения требуемой температуры. Не стерилизовать среду автоклавированием! 4. После пастеризации необходимо быстро охладить среду холодной водой до комнатной температуры. 5. Выдержать среду при комнатной температуре в течение 6 часов или в холодильнике (2 - 8 -С) в течение ночи перед использованием. 6. Приготовление аддитивов (добавок) 201В/1 и 201В/2. Оба аддитива (201В/1 и 201В/2) рассчитаны на 1 л среды. а) Растворить содержимое флакона аддитива 201В/1 в 1 мл 96% этанола. Добавить 1 мл р-ра аддитива во флакон с 1 л среды. б) Добавить 2 мл стерильной дист. воды во флакон с аддитивом 201В/2. Добавить 2 мл р-ра аддитива 201В/2 во флакон с 1 л среды. Примечания. Аддитивы следует добавлять только непосредственно перед использованием среды! Все аддитивы должны храниться при 4 -С. Максимальный срок хранения приготовленной среды (с аддитивами) - 3 дня при 2 - 8 -С. Максимальный срок хранения растворов аддитивов - одна неделя при 2 - 8 -С. Приготовленная среда BiMedia 201B без аддитивов может использоваться в течение 3 недель при 2 - 8 -С. При продолжительном сроке хранения рекомендуется заменить этап пастеризации среды стерилизацией с использованием мембранных фильтров. Выпадение небольшого количества осадка, а также помутнение раствора среды в процессе хранения допускается. Более продолжительное прогревание среды, а также обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.5. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 205А BiMedia 205A для определения сальмонелл - Selenite-Cystine media 1. Растворить BiMedia 205A (среда) и Additive 205A (добавка) в стерильной дист. воде из расчета 24,6 г среды и 5,6 г добавки на 1 л воды. Для приготовления среды используйте стерильные шпатели и колбы, избегайте загрязнения оставшегося в упаковке порошка. 2. Нагреть раствор до 60 -С (для быстрого растворения). Не стерилизовать среду автоклавированием! 3. Проверить рН среды и, если необходимо, довести рН среды в стерильных условиях до 7,2 +/- 0,1. 4. Перед использованием необходимо выдержать среду при комнатной температуре в течение 4 - 6 часов или в холодильнике (2 - 8 -С) в течение ночи. Примечания. Приготовленная среда должна храниться при 2 - 8 -С. Срок хранения - 1 неделя. Для увеличения срока хранения (более 1 недели) рекомендуется провести стерилизацию среды фильтрованием. Если во время хранения в среде образовался красный осадок, то среда не пригодна к использованию. Длительное нагревание и обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.6. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 301А BiMedia 301A для определения энтерококков 1. Растворить все содержимое упаковки в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 1 л, 2 л или 5 л в зависимости от объема, указанного на упаковке. 2. Разделить среду на порции по 500 мл. 3. Автоклавировать среду при 1 атм. в течение 15 мин. 4. Перед использованием необходимо выдержать среду при комнатной температуре в течение 6 часов. 5. Добавить 1 флакон аддитива (Additive 301А), растворенного в 1 мл стерильной дист. воды, к 500 мл основной среды. Примечания. Аддитив следует добавлять непосредственно перед использованием среды; хранить аддитивы при 4 -С до использования. Срок хранения приготовленной среды при 4 -С - 3 недели. Длительное нагревание и обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.7. Инструкция по приготовлению среды Pre-Media 350A Pre-Media 350A - среда для предобогащения Staphylococcus aureus 1. Растворить Pre-Media 350A в стерильной дистиллированной воде из расчета 32,4 г на 500 мл воды. 2. Довести рН, если необходимо, до 6,9 +/- 0,2. 3. Автоклавировать среду при 1 атм. в течение 15 мин. 4. Выдержать среду при комнатной температуре в течение 6 часов или в холодильнике (2 - 8 -С) в течение ночи перед использованием. 5. Растворить аддитивы (Additive 350В/1 и Additive 350B/2) в 2 - 4 мл стерильной дист. воды каждый и добавить к 500 мл среды Pre- Media 350A. 6. Добавить 0,7 мл 3,5%-ного раствора теллурита калия к 500 мл среды Pre-Media 350A. Теперь среда Pre-Media 350A готова к использованию. Примечания. Аддитивы 350В/1 и 350В/2 следует добавлять непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы в темноте при 2 - 8 -С до использования. Приготовленная среда должна храниться в холодильнике при 2 - 8 0Q. Срок хранения приготовленной среды (без аддитива) при 2 - 8 -С - 3 недели. Срок хранения приготовленной среды с аддитивом при 2 - 8 -С - 3 дня. Срок хранения аддитива после вскрытия - 1 неделя. Длительное нагревание и обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.8. Инструкция по приготовлению среды ВiMedia 350A BiMedia 350A для определения Staphylococcus aureus 1. Растворить необходимое количество среды в дист. воде (соотношение указано на упаковке). 2. Разделить среду на порции по 500 мл. 3. Автоклавировать среду при 1 атм. в течение 15 мин. 4. Перед использованием необходимо выдержать среду при комнатной температуре в течение 6 часов. Примечания. Приготовленная среда должна храниться при 4 -С. Срок хранения приготовленной среды при 4 -С - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.9. Инструкция по приготовлению среды Pre-Media 403А Pre-Media 403А - обогатительная среда для листерий Pre-Media 403А - Компонент 1. 1. Растворить все содержимое упаковки Компонента 1 в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 980 мл, 1960 мл или 4900 мл в зависимости от объема, указанного на упаковке. 2. Разделить среду на порции 490 мл. BiMedia 403А - Компонент 2. 3. Растворить все содержимое Компонента 2 в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 20 мл, 40 мл или 100 мл в зависимости от объема, указанного на упаковке (1 л, 2 л или 5 л соответственно). 4. Стерилизовать оба компонента (раздельно) при 1 атм. 15 мин. 5. Дать среде остыть до 50 -С или ниже. 6. Добавить 10 мл Компонента 2 к 490 мл Компонента 1 и тщательно перемешать. Получаем ОСНОВНУЮ ПРЕДОБОГАТИТЕЛЬНУЮ СРЕДУ. 7. Добавить 1 флакон аддитива Listeria Selective Supplement (OXOID No.: SR 141E) к 500 мл ОСНОВНОЙ ПРЕДОБОГАТИТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ. Примечания. Аддитив следует добавлять непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы при 4 -С до использования. Срок хранения приготовленной среды (без аддитива) при 4 -С - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.10. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 401А BiMedia 401A для определения листерий в неферментированных продуктах BiMedia 401A - Компонент 1. 1. Растворить все содержимое упаковки Компонента 1 в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 0,9 л, 1,8 л или 4,5 л в зависимости от объема, указанного на упаковке. 2. Довести рН до 7,0 +/- 0,1, если необходимо. 3. Разделить среду на порции 450 мл. BiMedia 401A - Компонент 2. 4. Растворить все содержимое Компонента 2 в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 100 мл, 200 мл или 500 мл в зависимости от объема, указанного на упаковке. 5. Стерилизовать оба компонента (раздельно) при 1 атм. 15 мин. 6. После стерилизации среда должна уравновеситься в течение 6 часов при комнатной температуре. 7. Соединить вместе два компонента в стерильных условиях в соотношении: 450 мл Компонента 1 + 50 мл Компонента 2 = ОСНОВНОЙ РАСТВОР L

8. Добавить 1 флакон аддитива (PALCAM Listeria Selective Supplement - Merck Prod. N 12122), растворенного в 1 мл стерильной дист. воды, к 500 мл ОСНОВНОГО РАСТВОРА. Примечания. Аддитив следует добавлять непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы при 4 -С до использования. Срок хранения приготовленной среды при 4 -С - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.11. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 402А BiMedia 402А для определения листерий в ферментированных продуктах BiMedia 402A - Компонент 1. 1. Растворить все содержимое упаковки Компонента 1 в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 0,9 л, 1,8 л или 4,5 л в зависимости от объема, указанного на упаковке. 2. Довести рН до 7,0 +/- 0,1, если необходимо. 3. Разделить среду на порции 450 мл. BiMedia 402A - Компонент 2. 4. Растворить все содержимое Компонента 2 в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 100 мл, 200 мл или 500 мл в зависимости от объема, указанного на упаковке. 5. Стерилизовать оба компонента (раздельно) при 1 атм. 15 мин. 6. После стерилизации среда должна уравновеситься в течение 6 часов при комнатной температуре. 7. Соединить вместе два компонента в стерильных условиях в соотношении: 450 мл Компонента 1 + 50 мл Компонента 2 = ОСНОВНОЙ РАСТВОР¦ L

8. Добавить 2 флакона аддитива (PALCAM Listeria Selective Supplement - Merck Prod. N 12122), растворенного в 1 мл стерильной дист. воды каждый, к 500 мл ОСНОВНОГО РАСТВОРА. 9. Теперь среда готова к использованию. Примечания. Аддитив следует добавлять непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы при 4 -С до использования. Срок хранения приготовленной среды (без аддитива) при 4 -С - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.12. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 403А BiMedia 403А - среда определения для листерий 1. Растворить все содержимое упаковки в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 1 л, 2 л или 5 л в зависимости от объема, указанного на упаковке. 2. Довести рН среды до 7,3 +/- 0,2. 3. Разделить среду на порции 500 мл. 4. Стерилизовать среду при 1 атм. 15 мин. 5. Дать среде уравновеситься при комнатной температуре не менее 6 ч. 6. Добавить к 1000 мл среды: а) 1 флакон аддитива 1, растворенного в 15 - 20 мл стерильной воды; б) 2 флакона аддитива 2, растворенного в 2 мл стерильной воды (OXOID No.: SR 141E). Примечания. Аддитив следует добавлять непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы при 4 -С до использования. Срок хранения приготовленной среды (без аддитива) при 4 -С - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.13. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 501B BiMedia 501B для определения дрожжей и плесеней 1. Растворить необходимое количество среды в дист. воде (соотношение указано на упаковке). 2. Довести рН среды до 6,0 +/- 0,2. 3. Разделить среду на порции и стерилизовать при 1 атм. 15 мин. 4. После стерилизации среда должна уравновеситься в течение 6 часов при комнатной температуре. Примечания. Приготовленная среда должна храниться при 4 -С. Время хранения - 3 недели. Изменение режима стерилизации (более продолжительное автоклавирование) снижает качество среды!

10.14. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 620A BiMedia 620А для определения лактобацилл 1. Растворить все содержимое упаковки в дист. воде так, чтобы конечный объем составил 1 л, 2 л или 5 л в зависимости от объема, указанного на упаковке. 2. Довести рН до 5,8 +/- 0,2, если необходимо. 3. Разделить среду на порции по 500 мл. 4. Автоклавировать среду при 1 атм. 15 мин. 5. Перед использованием необходимо выдержать среду при комнатной температуре в течение 6 часов. 6. Добавить 1 флакон аддитива (Additive 620A), растворенного в 1,5 мл стерильной дист. воды, к 500 мл основной среды. Примечания. Аддитив следует добавлять непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы при 4 -С до использования. Срок хранения приготовленной среды при 4 -С - 3 недели. Длительное нагревание и обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.15. Инструкция по приготовлению среды BiMedia 660A BiMedia 660A для определения клостридий 1. Растворить все содержимое упаковки в дист. воде (конечный объем - 1, 2 или 5 литров указан на этикетке). 2. Проверить рН среды и, если необходимо, довести рН до 7,1 +/- 0,1. 3. Разделить приготовленную среду на порции и стерилизовать при 1 атм. 15 мин. 4. Дать среде уравновеситься в течение 12 часов при комнатной температуре перед использованием. 5. Внести по 9 мл среды в стерильные измерительные ячейки и поместить ячейки в штатив. 6. Прогревать измерительные ячейки (с приоткрытыми крышками) при 95 - 100 -С на пару в течение 15 мин. (для удаления растворенного в среде кислорода). 7. Дать среде остыть до 50 -С (или меньше), затем можно добавлять аддитив. 8. Добавить 1,5 мл стерильной дист. воды к флакону с аддитивом 660А. 9. Добавить по 30 мкл раствора аддитива в каждую измерительную ячейку с 9 мл среды. Для предотвращения образования воздушных пузырьков не погружайте наконечники автоматической пипетки в среду. Примечания. Аддитив необходимо добавлять только непосредственно перед использованием среды. Хранить аддитивы при 4 -С. Растворы аддитивов следует хранить не более 2 недель. Приготовленная среда должна храниться при 4 -С не более 2 недель. Длительное прогревание и обработка при температуре выше рекомендуемой снижают качество среды!

10.16. Инструкция по приготовлению среды для определения Bacillus cereus Модификация селективной среды Мозеля Ниже приводится рецептура (в г/л) модифицированной среды Мозеля для определения Bacillus cereus: 1. Мясной бульон - 10 2. Мясной экстракт - 1,0 3. D(-)-маннитол - 10 4. NaCl - 10 5. Феноловый красный - 25 мг/л 6. Полимиксин В (сульфат) - 0,01 - 0,1 г/л.

11. Методики тестирования и обработки измерительных ячеек

11.1. Методика тестирования измерительных ячеек прибора "Bac Trac 4100" Необходимо каждые несколько месяцев проводить тестирование используемых измерительных ячеек для контроля регистрируемых показателей - изменение проводимости среды (М-параметр) и изменение проводимости вблизи электродов (Е-параметр). Для этого необходимо: 1. В стерильные измерительные ячейки прибора "Bac Trac 4100" налить 10 мл или 100 мл (в зависимости от объема ячеек) стерильный физиологического раствора. 2. Установить время исследования (Duration) - 24 часа. 3. Установить пороговое значение (Threshold) для М-параметра - 5%. 4. Установить значение Time Limit - 23 часа. 5. Начать измерения (Start Measurement). 6. После того как каждая позиция в блоке будет отмаркирована как свободная (Empty), поместить в инкубаторный блок измерительные ячейки с физиологическим раствором. Учет результатов тестирования. Если за время тестирования измерительных ячеек значения М- параметра не превысили 5%, то ячейки пригодны для дальнейшей работы. Если за время эксперимента в тестируемых ячейках значение М- параметра превысило 5%, то цвет ячейки на экране монитора изменится на красный, что означает - проба "загрязнена" (Contaminated). В этом случае необходимо повторно тестировать ячейку, предварительно поместив ее в любое другое место в инкубаторном блоке. При повторном получении аналогичных результатов (пересечение 5% значения М-параметра) необходимо заменить измерительные ячейки на новые.

11.2. Методика обработки измерительных ячеек прибора "Bac Trac 4100"

11.2.1. Обработка измерительных ячеек после использования. Необходимо обрабатывать измерительные ячейки непосредственно после окончания работы на приборе "Бак Трак". 1. Приоткрыть пластиковые крышки измерительных ячеек и поместить измерительные ячейки в металлический штатив. Не автоклавировать плотно закрытые ячейки! 2. Стерилизовать измерительные ячейки при 1 атм. в течение 20 - 30 мин. 3. При наличии патогенных микроорганизмов использовать режимную стерилизацию. 4. После автоклавирования дать ячейкам остыть до комнатной температуры. 5. Открыть измерительные ячейки и промыть их дистиллированной водой. 6. Если исследуемый продукт имел жирную консистенцию, то выдержать ячейки в растворе с мягким нейтральным моющим средством (например, хозяйственное мыло) 30 мин. 7. При необходимости промыть измерительные ячейки мягким ершиком так, чтобы не повредить электроды. 8. Если на дне измерительной ячейки остался какой-либо осадок, то его необходимо удалить. 9. Тщательно промыть измерительные ячейки 3 раза водопроводной водой и 2 раза дистиллированной водой. 10. Если между уплотнительными кольцами в донной крышке образовалась вода, то необходимо разобрать измерительные ячейки и просушить их в разобранном виде в сушильном шкафу при 60 -С в течение 40 минут. 11. Собрать ячейки, верхнюю крышку плотно не закрывать! 12. Измерительные ячейки автоклавировать при 1 атм. в течение 15 мин. Теперь измерительные ячейки готовы к использованию. Примечания. Никогда не используйте моющие средства, содержащие хлор. Тщательно промывайте ячейки, поскольку образование пленок на поверхности электродов вызывает шумы при прохождении сигнала.

11.2.2. Стерилизация измерительных ячеек. 1. Приоткрыть пластиковые крышки измерительных ячеек. 2. Поместить измерительные ячейки в металлический штатив. Не автоклавировать плотно закрытые ячейки! 3. Разместить измерительные ячейки в верхней части автоклава для предотвращения попадания воды в ячейки. 4. Стерилизовать измерительные ячейки при 1 атм. в течение 20 мин. Никогда не использовать стерилизацию в сухожаровом шкафу. 5. Достать измерительные ячейки из автоклава, как только это станет возможным (приблизительно 70 - 85 -С). Поместить их в термостат на 15 мин. (приблизительно 30 - 60 -С). Возможно также высушить ячейки при комнатной температуре. 6. Если между уплотнительными кольцами в донной крышке образовалась вода, то необходимо разобрать измерительные ячейки и высушить их в разобранном виде в сушильном шкафу. 7. Убедитесь, что ячейки полностью высохли. При необходимости просушите измерительные ячейки еще раз. Теперь измерительные ячейки готовы к использованию. Примечание. Возможна стерилизация измерительных ячеек с внесенной в них питательной средой.