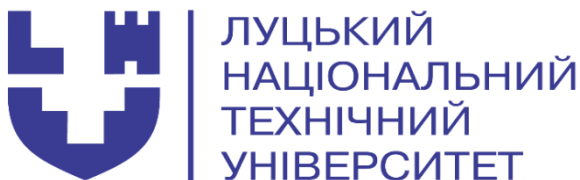


МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ



МІКРОБІОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА

Конспект лекцій

для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
освітньої програми «Експертиза харчових продуктів та продовольчої
сировини» галузі знань 6 Інженерія, виробництво та будівництво
спеціальності 613 Харчові технології
денної та заочної форм навчання

Луцьк 2026

УДК 664(07)
М-59

Рекомендовано до видання вченою радою факультету митної справи, матеріалів, технологій та гостинності ЛНТУ, протокол № _____ від «__» _____ 2026 року.

Голова вченої ради факультету митної справи, матеріалів, технологій та гостинності _____ В.В. Ткачук

Електронна копія друкованого видання передана для внесення в репозитарій ЛНТУ
Директор бібліотеки _____ Н.П. Поліщук

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ, протокол № __ від «__» _____ 2026 року.
Завідувач кафедри ХТХ _____ І.М. Дударев

Укладач:
_____ С.Є. Голячук, кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ.

Рецензент: _____ Ю.Л. Гунько, кандидат технічних наук, доцент кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ

Відповідальний за випуск: _____ І.М. Дударев, доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ.

Мікробіологічна експертиза [Текст]: конспект лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти освітньої М-59 програми «Експертиза харчових продуктів та продовольчої сировини» галузі знань G Інженерія, виробництво та будівництво G13 Харчові технології денної та заочної форм навчання / уклад. С. Є. Голячук. – Луцьк: ЛНТУ, 2026. – 139 с.

Методичне видання складене відповідно до діючої програми курсу «Мікробіологічна експертиза» з метою надання методичної допомоги у вивченні даного предмету. Приведені основи теоретичного матеріалу з курсу.

Рекомендовано для студентів спеціальності G 13 Харчові технології денної та заочної форм навчання.

ЗМІСТ

Вступ	4
Лекція 1 Основи мікробіологічного контролю в харчовому виробництві	5
Лекція 2 Особливості загальної мікробіологічної оцінки харчових продуктів.....	12
Лекція 3 Методи визначення мікроорганізмів.....	16
Лекція 4 Мікробіологія питної води.....	27
Лекція 5 Мікробіологія допоміжних матеріалів	35
Лекція 6 Мікробіологія хлібопекарного та кондитерського виробництв....	44
Лекція 7 Мікробіологія м'яса та м'ясних виробів.....	65
Лекція 8 Мікробіологія гідробіонтів.....	78
Лекція 9 Мікробіологія вина та пива.....	93
Лекція 10 Мікробіологія консервів та плодоовочевої продукції	106
Лекція 11 Мікробіологія молока та молочних продуктів	120
Список використаних джерел	138

ВСТУП

Дисципліна «Мікробіологічна експертиза» входить до переліку нормативних навчальних дисциплін підготовки здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти освітньої програми «Експертиза харчових продуктів та продовольчої сировини» галузі знань 6 Інженерія, виробництво та будівництво спеціальності G13 Харчові технології.

Мікробіологічні процеси визначають технологію багатьох харчових виробництв: хліба, молока, спирту, пива, вина, кондитерських виробів тощо. Харчове виробництво неможливо уявити без мікробіологічної експертизи сировини, напівфабрикатів і готової продукції. Для правильного ведення мікробіологічної експертизи необхідно оволодіти специфічною методикою досліджень. Це досягається поєднанням теоретичного курсу та лабораторного практикуму, який дозволяє краще засвоїти теоретичний матеріал викладений на лекціях, ознайомитися з фактичним матеріалом на практиці, оволодіти технікою виконання мікробіологічних досліджень.

Матеріали цього методичного видання дозволять оволодіти мікробіологічною технікою, самостійно приймати технічні рішення, забезпечувати оптимізацію технологічних процесів та високу якість продукції.

При укладанні конспекту лекцій використовувалися літературні джерела та наукові статті, які знаходяться у вільному доступі та представлені у списку використаних джерел.

ЛЕКЦІЯ 1

Тема 1. Основи мікробіологічного контролю в харчовому виробництві.

1. Мікробіологічні та санітарно-гігієнічні критерії безпеки харчових продуктів.

2. Мікробіологічні показники безпеки харчових продуктів

1. Харчові продукти, які щоденно вживають люди, не стерильні, тобто завжди містять певну кількість мікроорганізмів.

Одні й ті ж мікроорганізми в одних харчових продуктах відіграють корисну роль, а в інших небажані й навіть шкідливі. Одні продукти готують із використанням чистих культур мікроорганізмів у вигляді заквасок, в інших продуктах намагаються ці ж мікроорганізми знищити. Наприклад, ентерокок вважають показником фекального забруднення харчових продуктів, деякі спеціалісти вважають його збудником харчових токсикоінфекцій. Але деякі штами *Enterococcus faecium* використовуються у виробництві сирів Чеддер і Фета.

Підхід до кожного мікроорганізму в харчовій промисловості має бути обережним, індивідуальним і добре продуманим.

Ідея санітарно-бактеріологічного контролю та нормування мікроорганізмів у харчових продуктах виникла та була реалізована при введенні пастеризації молока, а пізніше розповсюджена й на інші харчові продукти. Введення такого нормування для харчових продуктів виявилось дуже складною проблемою, оскільки вони мають високу поживну цінність, тобто містять всі необхідні для розмноження мікроорганізмів речовини. Ця особливість робить санітарно- бактеріологічний контроль харчових продуктів необхідним та ефективним, тому що він виявляє динаміку розмноження мікроорганізмів і процеси, які вони викликають.

Головне завдання мікробіологічного контролю харчових виробництв - забезпечення випуску доброякісної та безпечної продукції. Як і в усіх випадках проблем здоров'я та безпеки, профілактика є найбільш бажаним варіантом. Її вважають першою лінією оборони проти зараження харчових продуктів сторонньою мікробіотою. Головним принципом профілактики є інформованість про цю потенціальну загрозу.

Мікробіологічні лабораторії підприємств підпорядковані Державній санітарно-епідеміологічній службі (ДСЕС), яку очолює Головний санітарний лікар України – перший заступник міністра охорони здоров'я. ДСЕС визначає порядок і проводить гігієнічну, токсикологічну, епідеміологічну експертизу, видає висновки щодо відповідності об'єктів експертизи вимогам Державних стандартів України. Об'єктами експертизи можуть бути повітря, вода, ґрунт, сировина, готова продукція та ін. ДСЕС організує розроблення Codex Alimentarius, погоджує норми державних стандартів, технічні регламенти та інші нормативно-технічні документи на вироби, сировину, технології, об'єкти середовища життєдіяльності в частині вимог щодо їх безпеки для здоров'я та

життя людини, узгоджує норми з міжнародними стандартами.

Санітарно-мікробіологічні дослідження є однією з найбільш регламентованих сфер діяльності харчового підприємства. Проведення санітарно-мікробіологічних досліджень можливе тільки за наявності на підприємстві чинної нормативної документації. Оцінку якості сировини, напівфабрикатів і готової продукції проводять на основі органолептичних, фізико-хімічних і мікробіологічних показників згідно з вимогами нормативно-технічної документації.

Мікроорганізми, які потрапляють у харчові продукти, можуть бути сапрофітами, які не викликають інфекційних захворювань, але є шкідниками технологічних процесів. Вони збільшують втрати сировини, знижують вихід і якість готової продукції. Патогенні мікроорганізми, які потрапляють у харчові продукти, можуть стати збудниками харчових захворювань. Через це показники кількісного та якісного складу мікробіоти мають велике значення для якості та безпеки харчових продуктів.

Гігієнічні нормативи передбачають контроль харчових продуктів за такими мікробіологічними показниками, які інформують про забруднення або можливе забруднення об'єкту патогенними мікроорганізмами:

- кількість мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) у 1 г;
- наявність умовно-патогенних мікроорганізмів, які є санітарно-показовими, до яких відносяться бактерії групи кишкових паличок, *E. coli*, *S. aureus*, бактерії роду *Proteus*, *B. cereus* і сульфітредукуючі клостридії;
- наявність патогенних мікроорганізмів, у тому числі сальмонел;
- кількість мікроорганізмів псування - головним чином це плісєневі гриби та дріжджі.

Мікробіологічний контроль виробництва харчових продуктів включає:

- контроль санітарного стану всіх етапів технологічного процесу;
- контроль відповідності технологічних режимів і дотримання обов'язкових технологічних вимог виробництва продуктів;
- контроль якості зберігання харчових продуктів;
- забезпечення безпеки продукту, попередження виникнення харчових захворювань, отруєнь або токсикоінфекцій.

Повсякденний санітарно-бактеріологічний контроль виробництва харчових продуктів дозволяє контролювати динаміку загального санітарного режиму виробництва, виявляти його слабкі етапи та видаляти їх. Контроль необхідно проводити на усіх етапах технологічного процесу. Дослідження тільки кінцевого продукту не відображає загальний стан виробництва.

Важливе значення має контроль відповідності технологічних умов режимам, зазначеним у нормативно-технічній документації, особливо тих продуктів, технологія виробництва яких передбачає термічну, хімічну обробку або інші заходи. При цьому необхідно встановити кількісно та якісно допустимі межі вмісту мікроорганізмів після відповідної технологічної

обробки та на наступних етапах - пакування, транспортування, зберігання та реалізації.

Невідповідність продукту встановленим нормам відразу ж після виробництва вказує на недотримання технологічних режимів, а виявлення санітарних негараздів на наступних етапах - на вторинне забруднення.

В Україні активно впроваджується міжнародна система оцінки якості виробництва - ISO-стандарти. Головна ідея концепції в тому, що якість продукту має створюватися ще під час виробництва. До цього головна увага приділялася лише контролю за готовою продукцією.

Ефективні системи контролю харчових продуктів мають важливе значення для захисту здоров'я споживачів. Крім того, вони вкрай необхідні для створення умов, у яких країни можуть забезпечити безпеку та якість харчових продуктів, що потрапляють у міжнародну торгівлю, та перевірити відповідність імпортованих харчових продуктів національним вимогам.

Із метою забезпечення якості та безпеки харчових продуктів за кордоном використовують систему критичних контрольних точок (НАССР) - контроль якості за аналізом ризиків у критичних контрольних точках. НАССР - абревіатура від англійського Hazard Analysis and Critical Control Points, що в перекладі означає «Аналіз небезпеки та критичні точки контролю». Це - основна модель управління якістю харчових продуктів у промислово розвинених країнах.

Характерною особливістю цієї системи є плановий нагляд і контроль харчових продуктів із попереднім визначенням усіх можливих факторів, пов'язаних із повним контролем, починаючи з умов вирощування та закінчуючи дослідженням готового продукту, контролем за його зберіганням, транспортуванням і реалізацією.

Принципи НАССР рекомендовані до практичного застосування Комісією Codex Alimentarius і є обов'язковими для всіх країн ЄС.

2. Основними джерелами поширення збудників більшості інфекційних хвороб є хворі люди та теплокровні тварини. Найбільш масивне виділення ними мікроорганізмів у навколишнє середовище відбувається з фекаліями.

При санітарно-мікробіологічному дослідженні вирішують питання про наявність чи відсутність у харчових продуктах і інших об'єктах зовнішнього середовища небезпечних для людини мікроорганізмів. Пряме виявлення збудників інфекційних хвороб має цілий ряд труднощів. По-перше, вміст патогенних мікроорганізмів у навколишньому середовищі мінливий. Порівняно легко їх можна знайти під час епідемії, але дуже важко - у міжепідеміологічні періоди. По-друге, кількість патогенних мікроорганізмів, що потрапили в навколишнє середовище, значно поступається непатогенним, і поширення їх у забруднених об'єктах нерівномірне. Труднощі виникають і при вирощуванні патогенних мікробів на поживних середовищах, оскільки їх розвиток пригнічується сапрофітною мікробіотою.

У зв'язку з цим санітарну оцінку різних об'єктів проводять непрямым шляхом, тобто встановлюють факт забруднення цих об'єктів не збудниками кишкових інфекцій, а кишковими виділеннями людини чи теплокровної тварини. Чим більше це забруднення, тим більша ймовірність потрапляння в об'єкт патогенних мікробів.

Для багатьох видів мікробів тіла здорової людини природним середовищем мешкання є кишковий тракт, і виявлення таких мікробів поза організмом свідчить про забруднення довкілля виділеннями з кишкового тракту й можливу присутність патогенних мікробів-збудників кишкових інфекцій. Виділені в цих випадках мікроби служать показниками санітарних негараздів, потенційної небезпеки досліджуваних об'єктів і тому названі санітарно-показовими.

Кількість санітарно-показових мікроорганізмів свідчить про рівень забруднення зовнішнього середовища, що в свою чергу визначає ступінь епідеміологічної небезпеки досліджуваних об'єктів. Чим більше в них виявлено санітарно-показових мікроорганізмів, тим більша ймовірність наявності тут специфічних для даного об'єкта збудників інфекційних захворювань.

Санітарно-показові мікроорганізми є мешканцями природних порожнин людського чи тваринного організму. Це, як правило, коменсали, але при зміні умов співіснування з хазяїном вони можуть спричиняти хвороби, тобто виявляють властивості умовно-патогенних мікроорганізмів.

Не всі мікроорганізми, що входять до складу нормального мікробіоценозу організму людини або тварин, можуть бути визнані санітарно-показовими. Вони повинні відповідати наступним вимогам:

- постійний вміст фекалій і постійне надходження в навколишнє середовище у великих кількостях;
- відсутність іншого природного резервуара, окрім організму людини й тварин;
- збереження життєздатності в навколишньому середовищі протягом термінів, близьких до термінів виживання патогенних мікробів, виведених із організму тими ж шляхами; стійкість повинна бути не нижча, а по можливості трохи вище стійкості відповідних патогенних мікробів;
- відсутність розмноження в навколишньому середовищі;
- простота виявлення, тобто вони повинні добре рости на штучних поживних середовищах, не мати в зовнішньому середовищі аналогів-сапрофітів, подібність з якими вимагала б складних і численних прийомів диференціювання;
- сталість властивостей, тобто вони не повинні змінюватися під впливом факторів зовнішнього середовища;
- відсутність залежності від наявності інших мікроорганізмів, тобто мають не пригнічуватися й не стимулюватися іншими мікроорганізмами;
- рівномірний розподіл у досліджуваних об'єктах зовнішнього

середовища.

Наведеному переліку вимог не відповідає повною мірою жоден санітарно-показовий мікроорганізм, однак чим більшу кількість вимог він задовольняє, тим більше відповідає ідеалу санітарно-показового мікроорганізму.

Ідея використання мікроорганізмів, що постійно живуть у кишечнику людини, для характеристики забруднення зовнішнього середовища належить французькому лікарю Е. Массе (1888). Він установив, що при дослідженнях води з метою виявлення збудника черевного тифу постійно виділяються у великій кількості кишкові палички (*Escherichia coli*), які він запропонував використовувати як індикатор фекального забруднення води замість збудника черевного тифу.

Пізніше було запропоновано використовувати як індикаторні мікроорганізми представників сімейства *Enterobacteriaceae*, морфологічно подібних до *E. coli*. Ця група мікроорганізмів одержала назву «коліформи», що тотожно до «бактерії групи кишкових паличок» (БГКП).

Бактерії групи кишкових паличок є найпоширенішими санітарно-показовими мікроорганізмами, однак як показник фекального забруднення використовуються також і інші постійні мешканці кишечника людини й тварин - ентерококи, споровий анаеробний мікроорганізм *C. perfringens*, паличка протей, кишкові бактеріофаги та ін.

Р. Гордон (1902) розширив рамки застосування санітарно-показових мікроорганізмів і довів, що вони можуть бути не тільки показниками фекального забруднення, але й свідчити про забруднення зовнішнього середовища, переважно повітря, виділеннями верхніх дихальних шляхів людини. Показниками такого забруднення було запропоновано вважати гемолітичні стрептококи та золотистий стафілокок - постійних мешканців слизової оболонки ротової порожнини та носоглотки.

Бактеріологічний контроль на наявність санітарно-показових мікроорганізмів здійснюється за альтернативним методом, коли нормується відсутність санітарно-показових, умовно-патогенних, патогенних та інших мікроорганізмів у визначеній масі продукту. Також вміст мікроорганізмів у продуктах виражають у вигляді титру, або індексу, або найбільш імовірного числа (НІЧ).

Основними показниками мікробної забрудненості об'єктів є загальна кількість мікроорганізмів на одиницю поверхні або маси та наявність санітарно-показових мікроорганізмів як показників фекального забруднення.

Контроль сировини, яка надходить на підприємство, готової продукції, технологічних процесів і санітарно-гігієнічних умов виробництва здійснює лабораторія підприємства відповідно до інструкцій із мікробіологічного та технологічного контролю.

Контроль дозволяє вчасно виявити бактеріальне забруднення продукту, джерело забруднення, а також дає можливість простежити виконання умов

нормативної документації виробництва.

Оскільки результати мікробіологічних досліджень можна одержати не раніше, ніж через 24-72 години, тобто в терміни, коли продукти, що особливо швидко псуються, вже потрібно реалізувати, то результати досліджень можна використати лише для оцінки санітарно-гігієнічного стану харчових підприємств, які зайняті виробництвом і реалізацією харчових продуктів даної категорії, наприклад:

- виявлення в продукті підвищеної кількості МАФАНМ свідчить, головним чином, про порушення температурного режиму, а також інших умов нормативно-технічної документації в процесі виробництва харчової продукції;
- наявність у харчовому продукті підвищеної кількості коліформ свідчить про низький рівень санітарно-гігієнічного стану, порушення технології виробництва та (або) зберігання харчової продукції;
- підвищений рівень коагулазопозитивних золотистих стафілококів у термічно оброблених харчових продуктах свідчить про їх вторинне забруднення мікроорганізмами;
- виявлення бактерій роду *Proteus* у харчових продуктах після термічної обробки свідчить про незадовільний санітарний стан на харчовому підприємстві та про необхідність проведення додаткової санітарної обробки обладнання, тари і т. ін.

На харчових підприємствах можуть бути зовнішні та внутрішні джерела інфекції. До зовнішніх джерел відносяться: сировина, вода та повітря, до внутрішніх - повітря виробничих приміщень, технологічна культура мікроорганізмів, мікробіота технологічного обладнання, тари, рук і одягу персоналу. Сторонні мікроорганізми, які потрапляють у сприятливі умови, швидко розмножуються та розносяться по всьому підприємству.

Мезофільні аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми (МАФАНМ). Максимально припустима кількість мікроорганізмів у 1 г (1 см³) продукту, що не порушує його мікробіологічної стабільності в процесі збереження та не являє собою небезпеку для здоров'я людини, називається межею ризику.

Прийнято вважати, що чим вище кількість МАФАНМ, тобто загальне мікробне забруднення об'єкта зовнішнього середовища, тим вища імовірність присутності в ньому патогенних мікробів.

Загальний вміст мікроорганізмів виражають у вигляді кількості колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 г (см³) продукту, що характеризує кількість колоній мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАНМ), що утворили колонії на твердому поживному середовищі при посіві 1 г чи 1 см³ продукту та культивуванні посівів при 30°C протягом 24-48 год. При дослідженні води цей показник називають мікробним числом або загальним мікробним числом.

Показник КМАФАНМ не характеризує абсолютну кількість мікроорганізмів у досліджуваному об'єкті, тому що не ростуть на МПА і не

утворюють колонії живі клітини, які втратили здатність до розмноження; не завжди розбиваються бактеріальні конгломерати, й одна колонія виростає з декількох клітин; не виростають анаероби, тому що культивування проводять в аеробних умовах; не дають росту термофіли та психрофіли; не враховуються плісені й актиноміцети, ріст яких можна виявити на 3-4 добу, та велика кількість патогенних і інших мікроорганізмів, що культивуються на спеціальних поживних середовищах; не виростуть також віруси та рикетсії, котрі взагалі не розвиваються на поживних середовищах.

Показник КМАФАнМ обумовлений розвитком в основному мезофільних сапрофітних мікроорганізмів - гнильних спорових і неспороутворювальних бактерій, коків (стафілококів, мікрококів, сарцин), деяких умовно-патогенних бактерій.

Продукти, в яких виявлена велика кількість бактерій, навіть не патогенних, і які не змінюють органолептичні показники, не можна вважати безпечними для здоров'я з наступних причин: значна кількість життєздатних клітин у харчових продуктах свідчить про недостатню ефективність термічної обробки сировини, про порушення санітарно-гігієнічних умов виробництва й зберігання, які є причиною контамінації продуктів. Високий вміст бактерій свідчить також про можливе псування продукту, внаслідок їх розвитку в ньому. Вміст 10^6 – 10^8 мікроорганізмів у 1 г (см^3) є ознакою недоброякісності продуктів.

Оцінка санітарної якості продуктів за кількістю МАФАнМ має ряд недоліків: не проводиться облік інших мікроорганізмів, здійснюється тільки кількісна оцінка мікробіоти без врахування її якісного складу; невеликий вміст бактерій у продуктах не гарантує безпеки, тому що навіть незначне забруднення продукту патогенними мікробами може призвести до важких наслідків; у продуктах, які пройшли термічну обробку, навіть при малих значеннях КМАФАнМ може знаходитися накопичений ще до неї стафілококовий ентеротоксин, котрий не руйнується при такому тепловому впливі.

До переваг обліку загальної кількості бактерій слід віднести можливість контролю рівня санітарно-гігієнічних умов виробництва та виявлення порушень умов зберігання та транспортування продуктів, які призводять до розмноження мікроорганізмів.

Визначення КМАФАнМ не має значення для продуктів, котрі зберігаються за низьких температур, тому що багато мезофільних мікроорганізмів поступово гинуть під час зберігання за температури від -5 до -15°C і нижче. Для оцінки продуктів, що зберігаються в умовах холодильника, кращим є підрахунок психрофільних бактерій після витримування посівів досліджуваних зразків за температури 0°C .

Оцінка згаданого показника певною мірою однобічна, тому що гранично припустимою кількістю мезофільних аеробів і факультативно-анаеробних бактерій у харчових продуктах є 10^4 – 10^5 КУО/г (см^3).

Однак показник КМАФАнМ має велике значення для контролю

санітарного стану повітря, устаткування, сировини тощо. Особливо велику увагу приділяють цьому показнику у виробництві консервів. Його покладено в основу дослідження консервів перед стерилізацією, тому що він впливає на ефективність цього процесу. Відомо, що чим більше мікроорганізмів міститься в продукті перед стерилізацією, тим більша ймовірність присутності серед них особливо термостійких спор бацил і клостридій, які можуть зберегтись у консервах після стерилізації. І, нарешті, надмірна присутність мікроорганізмів перед стерилізацією впливає на якість готового продукту, його харчову цінність, органолептику.

ЛЕКЦІЯ 2

Тема 2. Особливості загальної мікробіологічної оцінки харчових продуктів.

1. Якісна оцінка загальної мікробіоти.
2. Кількісні дослідження загальної мікробіоти.
3. Джерела сторонніх мікроорганізмів у харчовій промисловості.

1. Жоден харчовий продукт не може зберігати свою первинну оптимальну якість нескінченно тривалий час. Під час зберігання відбувається його псування, в результаті чого він стає непридатним для вживання. Час, протягом якого властивості харчового продукту залишаються стабільними й він зберігає придатну для споживача якість, називають терміном придатності. Упродовж цього часу продукт має:

- бути безпечним для споживача;
- відповідати всім указаним на етикетці параметрам харчової цінності;
- зберігати органолептичні, хімічні, фізичні та мікробіологічні властивості.

Методичні особливості вивчення загальної мікробіоти харчових продуктів визначаються характером і властивостями цих продуктів, а також завданнями, що стоять перед аналізом. Метою дослідження може бути якісна або кількісна характеристика мікробіоценозу.

Якісна оцінка загальної мікробіоти. Повна якісна оцінка всіх складових частин мікробіоти продукту – завдання виключно важке. Якщо необхідна ідентифікація мікроорганізмів, то в основному визначають характеристику технологічної мікробіоти або збудників псування продукту. Зазвичай для якісної оцінки загальної мікробіоти використовують простіші методи. Наприклад, для аналізу свіжості кисломолочних продуктів із проби, яка добре гомогенізована, готується мазок, який висушується, фіксується та забарвлюється метиленовим синім. Під час мікроскопування констатують наявність молочнокислих бактерій, зерен кефіру або присутність сторонніх дріжджів, фрагментів міцелію грибів та інших невластивих продукту

мікроорганізмів. Якщо виявляють лише технологічну мікробіоту, то продукт вважається доброякісним; якщо ж окрім цього є сторонні мікроорганізми, то продукт визначається як несвіжий.

При мікробіологічному дослідженні свіжості м'яса та риби роблять препарати-відбитки. Мікроскопічні препарати можуть виготовлятися також зі змивів і зрізів тканин.

У випадках, коли кількісний аналіз не потрібний, можна вдаватися до провокації розвитку мікроорганізмів безпосередньо в харчовому продукті. Найчастіше для цього використовують термостатну витримку проби консервів перед бактеріологічним дослідженням або вологі камери для діагностики грибного ураження хліба за характером міцелію або особливостями споруутворення. При детальному аналізі харчових продуктів зазвичай ідеться про виділення однієї-двох найбільш характерних груп мікроорганізмів, для чого застосовуються різні селективні (елективні) або збагачувальні поживні середовища.

2. Кількісні дослідження загальної мікробіоти. Для визначення мікробіологічних критеріїв, оцінки якості харчових продуктів і умов їх виготовлення використовують кількісні та альтернативні методи дослідження. Кількісні методи відображують дійсне або найбільш імовірне число життєздатних клітин мікроорганізмів у 1 г продукту, а альтернативні визначають відсутність життєздатних клітин мікроорганізмів у певній масі продукту.

Мікробіологічні критерії, які характеризують безпеку та санітарно-епідеміологічний стан продукту, як правило, висловлюють альтернативними показниками. Наприклад, патогенні мікроорганізми нормуються відсутністю їх у 25 г продукту, БГКП можуть нормуватися відсутністю в 1 г (см^3), або в 0,1 г, або 0,01 г в залежності від продукту. Чим більша маса наважки, тим суворіші вимоги.

Мікробіологічні критерії, які характеризують технологічні режими виробництва харчових продуктів і їх надійність при зберіганні, висловлюють числовим вмістом колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 г продукту. Такими методами визначають кількість МАФАНМ, споруутворювальних аеробних бактерій, плісневих грибів і дріжджів.

Кількість МАФАНМ - це критерій, який дозволяє виявити за температури 30°C на протязі 48-72 години всі групи мікроорганізмів, які здатні рости на загальних поживних середовищах.

В оцінці якості та безпеки харчових продуктів ці показники мають істотне значення. Зазвичай вважається, що якщо продукт виготовлений без участі мікроорганізмів, які викликають ферментативні процеси, то наявність у ньому мезофільних аеробів у кількості 106 і більше роблять його потенційно небезпечним для споживачів (навіть якщо відсутні органолептичні прояви псування продукту).

Існують міжнародні стандарти й Державні стандарти України, які регламентують межі визначення МАФАНМ у харчових продуктах.

Залежно від кількості мікроорганізмів у харчовому продукті або на його поверхні та відповідно до інших показників вирішується питання про тривалість зберігання або термінову реалізацію продукту.

3. Шляхи забруднення сировини, напівфабрикатів і готової продукції мікроорганізмами надзвичайно різноманітні. Джерелом інфікування можуть бути сировина, недотримання санітарних правил у технологічному процесі, об'єкти зовнішнього середовища, наприклад повітря, вода, якщо вона не відповідає вимогам до якості питної води. Джерелом забруднення можуть бути обладнання, руки працівників підприємства, комахи і гризуни. На харчових підприємствах можуть бути зовнішні та внутрішні джерела інфекції. До зовнішніх джерел належать сировина, вода й повітря; до внутрішніх - повітря виробничих приміщень, технологічна культура мікроорганізмів, мікробіота технологічного обладнання, тари, рук та одягу персоналу. Сторонні мікроорганізми, що потрапляють у сприятливі умови, швидко розмножуються й розносяться по всьому підприємству.

Мікроорганізми, що потрапляють у харчові продукти, можуть бути сапрофітами, які не викликають інфекційних захворювань, але є шкідниками технологічних процесів. Вони збільшують утрати сировини, знижують вихід і якість готової продукції. Патогенні мікроорганізми, що потрапляють у харчові продукти, можуть стати збудниками харчових захворювань. Тому мікробіологічні показники (кількісний і якісний склад мікробіоти) мають велике значення для якості й безпеки харчових продуктів.

Гігієнічні нормативи за мікробіологічними показниками містять контроль за чотирма групами мікроорганізмів:

- *санітарно-показові*, до яких належать мезофільні аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми (МАФАНМ) і бактерії групи кишкових паличок - БГКП (колі-форми);
- *умовно-патогенні мікроорганізми*, до яких належать *E. coli*, *S. aureus*, бактерії роду *Proteus*, *B. cereus* і сульфитредукуючі клостридії;
- *патогенні мікроорганізми*, в тому числі сальмонели;
- *мікроорганізми псування* - головним чином це плісєневі гриби і сторонні дріжджі.

Лабораторний мікробіологічний контроль поділяється на плановий і позаплановий. Останній проводиться за епідемічними показниками у випадках виникнення харчових отруєнь і кишкових інфекцій. Плановий контроль включає таке:

- мікробіологічний контроль виробництва харчових продуктів;
- контроль санітарного стану всіх етапів технологічного процесу;
- контроль відповідності технологічних режимів і дотримання обов'язкових технологічних вимог виробництва продуктів;

- контроль якості зберігання харчових продуктів;
- контроль безпеки продукту, запобігання виникненню харчових захворювань, отруєнь або токсикоінфекцій.

Показником санітарного стану харчового підприємства є рівень мікробної контамінації поверхні приладів, обладнання, спеціального одягу та рук цехового персоналу, який визначають через прямий мікробіологічний контроль класичними або сучасними експрес- методами дослідження.

З метою забезпечення якості й безпеки харчових продуктів за кордоном використовують систему критичних контрольних точок (НАССР) - контроль якості за аналізом ризиків у критичних контрольних точках. НАССР - аббревіатура від англійського «Hazard Analysis and Critical Control Point», що в перекладі означає «аналіз безпечності й критичних контрольних точок».

Характерною особливістю цієї системи є плановий нагляд і контроль харчових продуктів за попереднім визначенням усіх можливих факторів, пов'язаних із повним контролем, починаючи з умов вирощування сировини й закінчуючи дослідженням готового продукту, контролем за його зберіганням, транспортуванням і реалізацією. Повсякденний санітарно-бактеріологічний контроль виробництва харчових продуктів дає змогу контролювати динаміку загального санітарного режиму виробництва, виявляти його слабкі етапи й усувати недоліки. Контроль необхідно проводити на всіх етапах виробництва. Дослідження тільки кінцевого продукту не відображає загального стану на виробництві.

Оскільки результати класичних мікробіологічних досліджень можна одержати не раніше як через 24-72 години, тобто в терміни, коли продукти, що особливо швидко псуються, уже потрібно реалізувати, то результати досліджень можна використати лише для оцінювання санітарно-гігієнічного стану харчових підприємств, які зайняті виробництвом і реалізацією харчових продуктів цієї категорії, а саме:

- виявлення в продукті підвищеної кількості МАФАНМ свідчить головним чином про порушення температурного режиму, а також інших умов нормативно-технічної документації в процесі виробництва харчової продукції;
- наявність у харчовому продукті підвищеної кількості колі-форм свідчить про низький рівень санітарно-гігієнічного стану, порушення технології виробництва та (або) зберігання харчової продукції;
- підвищений рівень коагулазопозитивних золотистих стафілококів у термічно оброблених харчових продуктах свідчить про їх вторинне забруднення мікроорганізмами;
- виявлення бактерій роду *Proteus* у харчових продуктах після термічної обробки свідчить про незадовільний санітарний стан на харчовому підприємстві і про необхідність проведення додаткової санітарної обробки обладнання, тари тощо.

Вагоме значення має контроль відповідності технологічних умов виробництва режимам, зазначеним у нормативно-технічній документації,

особливо тих продуктів, технологія яких передбачає термічну, хімічну обробку або інші прийоми. При цьому необхідно встановити кількісно та якісно допустимі межі вмісту мікроорганізмів після відповідної технологічної обробки й на наступних етапах пакування, транспортування, зберігання та реалізації.

Невідповідність продукту встановленим нормам відразу ж після виробництва вказує на недотримання технологічних режимів, а виявлення санітарних негараздів на наступних етапах – на вторинне забруднення.

В Україні активно запроваджується міжнародна система оцінювання якості виробництва - ISO-стандарти (ISO - International Organization for Standardization), міжнародна організація зі стандартизації, створена в 1946 році. Головна ідея концепції полягає в тому, що якість продукту має створюватися під час виробництва. До запровадження ISO-стандартів на харчових підприємствах головна увага приділялася контролю лише готової продукції.

Ефективні системи контролю харчових продуктів мають вагоме значення для захисту здоров'я споживачів. Крім того, вони вкрай необхідні для створення умов, у яких країни можуть забезпечити безпеку та якість харчових продуктів, що потрапляють у міжнародну торгівлю, і перевірити відповідність імпортованих харчових продуктів національним вимогам.

Зі всіма законодавчими нормами Європейського Союзу та з Іншою відповідною інформацією можна ознайомитися за адресою: <http://europa.eu.int/eur-lex/>.

Контроль сировини, яка надходить на підприємство, готової продукції, технологічних процесів і санітарно-гігієнічних умов на виробництві здійснює лабораторія підприємства відповідно до інструкцій з мікробіологічного й технологічного контролю.

Контроль дає можливість вчасно виявити біологічне забруднення продукту, виявити джерело забруднення, а також проконтролювати виконання умов нормативно-технічної документації виробництва.

ЛЕКЦІЯ 3

Тема 3. Методи визначення мікроорганізмів.

1. Вибір і приготування проб до аналізу.
2. Прямий підрахунок мікроорганізмів.
3. Визначення кількості мікроорганізмів посівом у поживні середовища.
4. Особливості виявлення окремих груп мікроорганізмів.

1. Відбір проби, взяття наважки та підготовка її до аналізу здійснюються стерильним інструментом в асептичних умовах.

Зазвичай маса наважки становить $10 \pm 0,05$ г, якщо в НТД не передбачено іншої. Її поміщають у стерильний посуд, додають 90 см^3 стерильного

фізрозчину, або пептонно-сольового розчину, або водопровідної води.

Вміст флакону обережно перемішують протягом 3-5 хвилин і відстоюють 10-15 хвилин. Рідина над осадом і є змив мікроорганізмів з продукту, який знаходиться тут у розведенні 1:10 (перше, або вихідне, розведення).

Якщо передбачається високий ступінь забруднення продукту мікроорганізмами, готують друге, третє і т. д. десятикратні (децимальні) розведення. Для цього у ряд стерильних пробірок вносять по 9 см³ стерильної рідини: фізрозчину, водопровідної води тощо (рис. 3.1.).

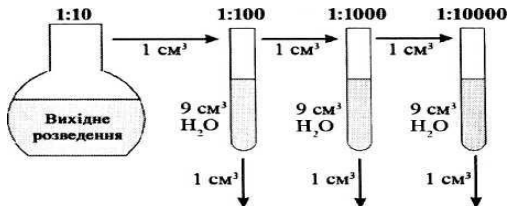


Рисунок 3.1. Схема приготування розведень суспензії мікроорганізмів і посіву

У першу пробірку вносять 1 см³ змиву з першого розведення, не торкаючись піпеткою рідини, і цю піпетку відкладають. Одержують друге розведення. Новою піпеткою ретельно перемішують вміст пробірки, набираючи та видувачи назад рідину декілька разів для того, щоб зруйнувати скупчення мікроорганізмів (у посівах на виявлення анаеробів обмежуються лише круговим перемішуванням піпеткою). Тією ж піпеткою набирають 1 см³ з другого розведення та вносять у наступну пробірку, також не торкаючись нею рідини. Одержують третє розведення. Піпетку відкладають. Таким чином, для кожного наступного розведення беруть нову піпетку.

Після приготування всіх необхідних розведень можна робити посіви в поживні середовища однією піпеткою, рухаючись від найбільшого розведення до меншого, обираючи для кожної групи мікроорганізмів розведення, вказані в стандартах на цей продукт, а для обліку МАФАНМ – такі, щоб в 1 см³ було від 25 до 250 мікробних клітин.

2. Прямим підрахунком визначають кількість мікроорганізмів у рідких і прозорих продуктах. Для цього використовують камери Горяєва, Розенталя, Тома-Цейса та ін.

Лічильна камера Горяєва (рис. 3.2) - це товсте предметне скло, поділене прорізами на три площини, розташовані поперек. Центральна площина розділена навпіл і на кожній половинці викарбована сітка площею 9 мм². Вона розподілена на 225 великих квадратів (15х15), площа кожного з яких дорівнює 1/25 мм². Глибина камери дорівнює 0,1 мм, отже об'єм великого квадрату становить $0,04 \cdot 0,1 = 0,004$ мм³.

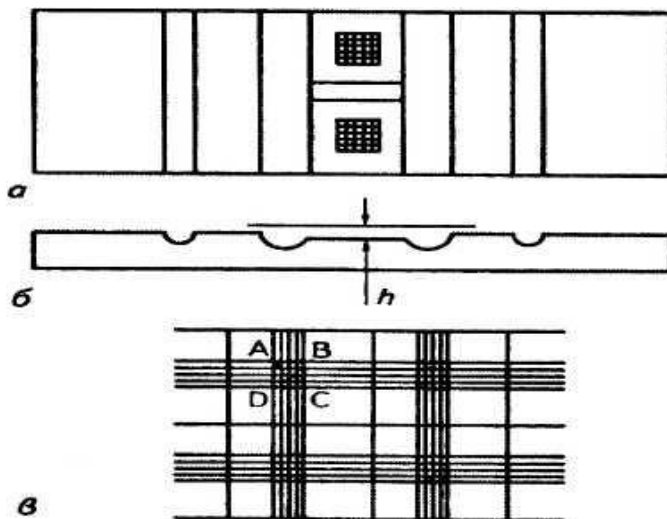


Рисунок 3.2. Лічильна камера Горяева:
 а - вид зверху, б - вид збоку, в - вид при малому збільшенні мікроскопа;
 h - висота камери.

Деякі з великих квадратів поділені на 16 малих квадратів площею $1/400 \text{ мм}^2$ і об'ємом $1/4000 \text{ мм}^3$ кожен.

Камеру накривають покривним склом. Покривне скло щільно притирають до країв камери й під нього на поверхню сіток наносять краплю суспензії, яка досліджується. Рідина під покривним склом має розтектись рівномірно, без повітряних пухирців.

Підрахунок мікроорганізмів починають через 3-5 хвилин, аби клітини осіли та були видимі в одній площині.

Розмістивши камеру на предметному столику мікроскопа, спочатку роздивляються її з об'єктивом 8х, потім, не зсуваючи її, міняють об'єктив на 40х. Конденсор має бути дещо приспущеним, щоб зменшити потік світла.

Рахують усі клітини в середині квадрату, а на пограничних лініях – тільки ті, що розташовані на двох його суміжних сторонах.

Кількість великих клітин (дріжджі, спори грибів тощо) рахують у 10 великих квадратах, дрібних (бактерії) – в 10 малих, пересуваючи камеру так, щоб одне й те саме місце не потрапляло в поле зору кілька разів.

Знаходять середнє число мікроорганізмів для одного квадрату та перераховують на 1 см^3 вихідної суспензії за формулами:

- для великого квадрату: $x = \alpha / 0,004 \cdot 1000 = \alpha \cdot 2,5 \cdot 10^4$;

- для малого квадрату: $x = \alpha \cdot 4000 \cdot 1000 = \alpha \cdot 4 \cdot 10^6$,

де α - середнє число мікроорганізмів у квадраті,
1000 - коефіцієнт для перерахунку в см^3 .

Метод кількісного обліку мікроорганізмів за допомогою лічильної камери має недоліки, пов'язані з тим, що в камерах проводиться облік усіх клітин мікроорганізмів без їх диференціації на живі та мертві. Крім того, лічильні камери можуть бути використані лише для підрахунку відносно великих об'єктів - клітин водоростей, дріжджів, спор плісневих грибів, які мікроскопують об'єктивом 8x і 40x.

3. Кількість мікроорганізмів у продукті визначають посівом під тверді або в рідкі поживні середовища.

Для визначення кількості мікроорганізмів посівом під тверді середовища висівають безпосередньо продукт або його десятикратні розведення під відповідне агаризоване середовище (глибинний посів) у чашки Петрі. Після культивування рахують колонії мікроорганізмів та обчислюють результат на 1 г/см^3 .

Посівом у рідкі середовища визначають НІЧ – найбільш імовірне число мікроорганізмів, використовуючи метод граничних розведень.

Метод визначення НІЧ полягає в тому, що продукт розводять доти, поки в останній пробірці не буде жодної бактеріальної клітини. Зазвичай розведення ведуть із десятикратним інтервалом. Із кожного розведення по 1 см^3 висівають у дві або три пробірки з необхідним середовищем (залежно від продукту). Після культивування відзначають позитивні об'єми й за спеціальними таблицями обчислюють НІЧ, тобто кількість мікроорганізмів в одиниці об'єму субстрату, яка може коливатися в межах певної імовірності.

Прикладом такого підрахунку мікроорганізмів є метод визначення кількості молочнокислих бактерій у продукті.

Для кількісної характеристики мікробної забрудненості об'єкта користуються також термінами титр та індекс.

Титр – це та найменша кількість матеріалу (см^3 , г), у якій виявлена хоча б одна клітина мікроорганізму. Для встановлення титру будь-якого мікроорганізму у відповідне середовище (рідке або тверде) роблять висів із десятикратних розведень продукту.

Маса продукту в останньому розведенні, в якому виявлене характерне зростання, означає титр цього мікроорганізму. Прикладом такого обліку є визначення титру картопляної палички в зерні та борошні або БГКП у воді.

Аналогічно визначається титр будь-яких інших мікроорганізмів, для яких розроблені діагностичні середовища.

Кількість клітин мікроорганізмів, виявлених у певному об'ємі (масі) досліджуваного об'єкта, називають індексом. Для води, молока, інших рідких продуктів індекс визначають у 1 дм^3 , для ґрунту та харчових продуктів - у 1 г . Індекс частіше визначають застосовуючи мембранні фільтри, як при аналізі води, або посів різних розведень досліджуваних субстратів на поживні

середовища. Індекс – величина, зворотно пропорційна:
 $\text{колі-титр} \cdot \text{колі-індекс} = 1000.$

4. Залежно від виду продукції мікробіологічний контроль передбачає виявлення різних мікроорганізмів - санітарно-показових і збудників харчових отруєнь – патогенного стафілококу, сальмонел, бактерій групи кишкових паличок, сульфітредукуючих клостридій тощо.

Окрім випадків псування або отруєнь харчові продукти не містять або містять невелику кількість санітарно-показових і патогенних мікроорганізмів. За такої кількості вони можуть не потрапити в пробу, тому треба користуватися аналізом у декілька етапів.

Перший із них – це накопичення мікроорганізму в селективних рідких середовищах, де пригнічується ріст супутньої мікробіоти.

Другий етап – це виділення цього мікроорганізму на твердих диференційно-діагностичних середовищах, які дають перше, але не достатнє підтвердження присутності мікроорганізму, наявність якого досліджується.

Третій етап – це вивчення морфології мікроорганізмів, які утворили характерні колонії. Далі необхідно вивчити культуральні та біохімічні властивості, але зазвичай у лабораторіях виробництва обмежуються виявленням цільового мікроорганізму без подальшої біохімічної класифікації. У разі підозри на присутність патогенних або умовно- патогенних мікроорганізмів такі зразки відсилають в органи санепіднагляду.

Аналіз харчових продуктів на присутність санітарно-показових мікроорганізмів, як правило, ведеться альтернативним методом, тобто нормується кількість продукту, в якій не допускається присутність даного мікроорганізму, наприклад, присутність бактерій роду *Salmonella* не допускається в 25 г продуктів загального вжитку та в 50 г продуктів дитячого харчування. Якщо присутність якогось мікроорганізму не допускається в 0,1 або 0,01 чи 0,001 г продукту, роблять десятикратні розведення його й по 1 см³ кожного з них вносять у відповідне поживне середовище.

Для кожного санітарно-показового мікроорганізму існують декілька середовищ накопичення та декілька диференційно-діагностичних середовищ. Державними стандартами передбачається використання певних із них залежно від складу продукту.

4.1. *Визначення загальної кількості мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ)*

Існують два способи визначення кількості МАФАНМ: посівом в агаризовані поживні середовища, які дозволяють урахувати видимі колонії, та посівом у рідкі поживні середовища, коли визначають присутність/відсутність або найімовірніше число (НІЧ) мікроорганізмів у 1 г (см³).

Визначення кількості МАФАНМ посівом на тверді поживні середовища. Цей метод полягає в посіві певної кількості продукту в агаризоване поживне середовище, культивуванні посівів у аеробних умовах за температури $30 \pm 1^\circ\text{C}$

протягом 72 год. і підрахунку чисельності мікроорганізмів, які утворили колонії, на 1 г продукту.

Масу продукту для внесення в поживне середовище підбирають такою, щоб у чашці Петрі вирости від 25 до 250 колоній. Для цього роблять спочатку вихідне розведення. Наважка продукту має бути не менше $10 \pm 0,05$ г. Із вихідного розведення роблять послідовно ряд десятикратних розведень (якщо треба) й по 1 см^3 з тих, у яких очікується оптимальна кількість колоній, вносять одночасно в дві чашки Петрі. Одразу або не пізніше, ніж через 15 хв., у чашки додають $10\text{-}15 \text{ см}^3$ розплавленого і охолодженого до 45°C поживного середовища та негайно обережно перемішують із посівним матеріалом. Чашки залишають у горизонтальному положенні до повного застигання середовища. Такий метод посіву називається глибинним.

Посіви культивують впродовж 72 год. за температури $30 \pm 1^\circ\text{C}$, поставивши чашки догори дном. Після вирощування підраховують усі колонії, за потребою користуючись лупою з 3-5-кратним збільшенням, знаходять середнє арифметичне з двох чашок проби та обчислюють кількість мікроорганізмів в 1 г (см^3) продукту з урахуванням розведення, з якого зроблено висів. Одержане середнє арифметичне значення округлюють до найближчого числа:

- кратного 5, якщо воно становило менше 100;
- кратного 20, якщо воно було більше 100 і закінчувалося цифрою 5;
- кратного 10, якщо воно було більше 100 і не закінчувалося цифрою 5.

Кількість мікроорганізмів в 1 г (см^3) продукту визначають множенням округленого середньоарифметичного на розведення наважки та діленням на кількість внесеного в чашку посівного матеріалу, якщо вона не становила 1 см^3 , за загальною формулою:

$$x = \frac{\alpha \cdot 10^n}{c \cdot m},$$

де α - кількість колоній у чашці Петрі,

10^n - розведення продукту, яке внесено в чашку,

c - об'єм внесеного в чашку посівного матеріалу (см^3),

m - наважка продукту, який досліджується, г (см^3). Результат виражають у КУО/г(см^3).

При контролі відповідності консервів вимогам стерильності або промислової стерильності визначають *присутність/відсутність МАФАНМ посівом у рідке середовище*.

У дві пробірки, що містять $5\text{-}6 \text{ см}^3$ рідкого поживного середовища, вносять по 1 г (см^3) продукту, що аналізується, і ставлять у термостат при 30°C . Посіви витримують упродовж 5 днів, щоденно контролюючи їхній стан. Відсутність ознак зростання будь-яких мікроорганізмів у $2 \text{ г} (\text{см}^3)$ свідчить про стерильність або промислову стерильність продукту.

Якщо в посівах відзначені ознаки зростання мікроорганізмів, перевіряють утворення ними каталази та спор. Наявність у посіві на МАФАНМ

споротворних каталазопозитивних паличок свідчить про присутність у продукті бацил, серед яких можуть бути збудники харчових отруєнь або псування консервів.

Якщо в посівах консервів на промислову стерильність визначене зростання мікроорганізмів, то для виявлення збудників псування або харчового отруєння аналізують склад виявленої мікробіоти. За необхідності споротворні бактерії типізують за групами *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. polymyxa*.

Для визначення найімовірнішого числа МАФАНМ готують стільки десятикратних розведень продукту, щоб у найбільшому з них не було ознак зростання мікроорганізмів. Із кожного розведення та з нерозведеного продукту висівають по 1 см³ паралельно в пробірки з рідким поживним середовищем і культивують за температури 30 ± 1°C впродовж 24-48 год. За кількістю позитивних пробірок визначають НЧ мікроорганізмів, користуючись спеціальною таблицею.

У виробництві молока та молочних продуктів користуються непрямим прискореним методом визначення кількості МАФАНМ у молоці. Метод ґрунтується на відновленні резазурину окиснювально-відновлювальними ферментами присутніх у молоці мікроорганізмів.

За тривалістю зміни забарвлення молока з резазурином оцінюють бактеріальне забруднення сирого молока.

Метод придатний для контролю молока з кількістю бактерій не менше 100 тис. клітин у 1 см³. У разі меншого рівня бактеріального забруднення молока застосовують методи визначення кількості МАФАНМ посівом проб на чашки Петрі, пластини або слайд-тести.

Дослідження свіжого молока слід проводити не раніше, ніж через 2 години після доїння.

У пробірки наливають по 1 см³ робочого розчину резазурину та по 10 см³ проби молока, закривають гумовими пробками й змішують, повільно перевертаючи пробірки тричі. Пробірки ставлять у редуктазник або водяну баню за температури води 37 ± 1°C, яку необхідно підтримувати протягом усього аналізу.

Показники реєструють через 1 год. та 1,5 год. Появу забарвлення молока у пробірках при струшуванні не враховують.

Через 1 год. пробірки з редуктазника виймають. Пробірки з молоком, які мають забарвлення від сіро-бузкового до бузкового зі слабким сірим відтінком, залишають у редуктазнику ще на 30 хв.

Рівень бактеріального забруднення молока визначають за тривалістю зміни кольору резазурину (табл. 3.1).

Таблиця 3.1. Класи молока за редуцтажною пробою з резазурином

Клас молока	Тривалість зміни забарвлення, год.	Забарвлення молока	Орієнтовна кількість бактерій у 1 см ³
Екстра	>2	Синьо-бузкове, чисте	До 100 тис.
Вищий	1,5	Від сіро-бузкового до бузкового зі слабким сірим відтінком	Від 100 тис. до 300 тис.
I	1,0	Від сіро-бузкового до бузкового зі слабким сірим відтінком	Від 300 тис. до 500 тис.
II	1,0	Бузкове з рожевим відтінком або яскраво- рожеве	Від 500 тис. до 3 млн
	1,0	Блідо-рожеве або біле	Понад 3 млн

4.2 Визначення присутності облигатно анаеробних мікроорганізмів

Метод базується на посіві продукту в рідке спеціальне поживне середовище та вирощуванні посівів упродовж 5 діб в анаеробних умовах.

Для визначення мезофільних анаеробних мікроорганізмів на дно двох пробірок, що містять 10-12 см³ середовища Кітта-Тароцці або Кітта-Тароцці з крейдою, висівають по 1г (см³) продукту, який аналізується. Перед посівом середовище Кітта-Тароцці регенерують кип'ятінням на водяній бані впродовж 20 хв. для видалення з нього кисню. Після прогріву середовище швидко охолоджують водою. Для запобігання потрапляння в посіви кисню повітря на поверхню засіяного середовища наносять стерильну вазелінову олію або парафінову суміш так, щоб утворився шар біля 2 см заввишки.

Посіви культивують упродовж 5 днів за температури 30°C, щоденно стежачи за ознаками росту: помутнінням середовища та утворенням газу.

Приналежність мікроорганізмів, що розвинулися, до облигатно анаеробних установлюють за морфологією клітин, позитивним забарвленням за Грамом і відсутністю каталази.

Клостридії позитивно забарвлюються за Грамом, утворюють сферичні або овальні спори. Кількість паличок зі спорами може бути невеликою, а в культурах *Clostridium perfringens* спори та спороносні палички можуть бути відсутні.

Якщо в посівах споротворні грампозитивні палички, які не утворюють каталазу, не виявлені, то дослідження закінчують і роблять висновок про відсутність мезофільних облигатних анаеробів у продукті, що досліджувався.

Якщо за наявності каталазонегативних грампозитивних паличок спори не були виявлені, то роблять пересів із середовища Кітта- Тароцці під МПА в чашки Петрі «під скло», або в трубки Вейона, або чашки Петрі з посівом розміщують у анаеробних умовах.

Для виконання посіву «під скло» в чашку Петрі, до якої внесено 0,5-1,0 см³ культуральної рідини, додають 20-25 см³ розплавленого та охолодженого

до 45°C МПА, перемішують, дають охолонути. Зверху кладуть стерильне предметне скло так, щоб під ним не утворилися бульбашки повітря, злегка притискають і терmostатують так само, як і раніше.

Облігатно анаеробні мікроорганізми утворюють колонії під центральною частиною скла.

За результатами цього пересіву роблять остаточний висновок щодо присутності мезофільних облігатно анаеробних мікроорганізмів в аналізованому продукті.

Для визначення термофільних анаеробних мікроорганізмів у дві пробірки, які містять 5-6 см³ КПБ (картопляно-пептонного бульйону) або МПБ з додаванням 1% розчину крохмалю, вносять по 1 г (см³) досліджуваного продукту та ізолюють від кисню повітря шаром стерильної вазелінової олії або парафінової суміші.

Посіви культивують протягом 3 діб за температури 55-62°C, щоденно спостерігаючи за ознаками росту: помутнінням середовища, появою плівки на поверхні, осаду.

У разі відсутності вказаних ознак роблять висновок про відсутність термофільних анаеробних мікроорганізмів у продукті, який досліджували, і аналіз закінчують. За наявності будь-яких ознак зростання мікроорганізми, що вирости, перевіряють пробою на каталазу. Термофільні облігатно анаеробні мікроорганізми каталазу не утворюють.

Крім того, вирощування посівів в анаеростаті (тобто без ізолюючих шарів) дозволяє провести додаткове дослідження: для перевірки здатності до кислотоутворення, яке притаманне збудникам плоскокислого псування консервів, до культуральної рідини з ознаками зростання додають одну краплю розчину (0,04%) бромкрезолпурпуру. У нейтральному або слабколужному середовищі цей індикатор має синьо-фіолетовий колір, а в кислому жовтіє.

У випадку сумнівного результату роблять пересів у чашку Петрі з картопляно-пептонним агаром і після культивування в анаеростаті на колонії, що вирости, наносять той же розчин індикатору. Утворення навколо колоній жовтої зони на загальному синьо-фіолетовому тлі підтверджує приналежність цих колоній до кислотоутворювальних термофільних анаеробних мікроорганізмів.

Якщо такі колонії не виявлені, роблять висновок про відсутність облігатно анаеробних термофільних мікроорганізмів у продукті, який досліджували.

Тест на наявність каталази. 3 посівів відбирають в окрему пробірку 2-3 см³ культуральної рідини та нейтралізують її розчинами NaOH або HCl. По 1-2 краплі нейтралізованої культуральної рідини переносять на профламбоване та охолоджене до кімнатної температури предметне скло і після 30 хв. витримки на повітрі додають краплю розчину перексиду водню (3%).

Якщо на склі з'являються бульбашки газу, то вважають, що вони утворилися в результаті розкладання перексиду водню каталазою, яку

продукують аеробні мікроорганізми.

4.3 Визначення бактерій групи кишкових паличок (БГКП, колиформні бактерії) та *E. coli*

Бактерії групи кишкових паличок - це грамнегативні рухомі палички, які ферментують лактозу за температури 30 - 37 °C за 24-48 годин із утворенням кислоти та газу й не мають оксидазної активності.

Визначення присутності/відсутності БГКП у харчових продуктах ведеться альтернативним методом, тобто підтверджується наявність/відсутність цих бактерій у певній масі продукту.

Санітарно-гігієнічними вимогами безпеки харчових продуктів нормується кількість кожного продукту, в якій присутність колиформних бактерій не допускається. Найчастіше це 1г, 0,1г, 0,01г або 0,001г.

Для аналізу користуються методом посіву певної кількості продукту (без розведень або з його розбавлень) у рідке селективне середовище з лактозою з наступним культивуванням посівів у аеробних умовах за температури 30-37°C протягом 24-48 год. Середовищем для накопичення бактерій найчастіше є середовище Кесслер, допускаються бульйони МакКонкі, Кода, жовчно-лактозне середовище з брильянтовим зеленим, Хейфеца та ін.

Маса наважки для приготування вихідного розведення має становити не менше 10 г(см³), а для безпосереднього висіву у поживні середовища – не менше 1 г (см³).

Розвиток БГКП виявляється в зміні кольору середовища (Хейфеца – з фіолетового на жовтий або салатно-зелений, Кода – з зеленого на жовтий тощо) або бродінні (середовище Кесслер – накопичення газу в поплавцях).

Для остаточного висновку про присутність БГКП у продукті з пробірок із ознаками зростання роблять пересіви на диференційно- діагностичні тверді середовища Ендо, Плоскірева або Левіна і після культивування мікроскопують характерні колонії з забарвленням за Грамом:

- на середовищі Ендо - темно-червоні колонії з металевим блиском або рожево-червоні без блиску;
- на середовищі Плоскірева- цегляно-червоні з полиском;
- на середовищі Левіна - темно-фіолетові або фіолетово-чорні колонії з блиском.

Специфічна зміна кольору середовищ ХБ і Кода не потребує подальшого підтвердження.

У разі відсутності ознак росту або характерних колоній на діагностичних середовищах роблять висновок про *відсутність* БГКП у даній масі продукту.

Виявлення грам негативних неспортованих паличок, які специфічно змінюють колір рідких диференціально-діагностичних середовищ і утворюють характерні колонії на елективних середовищах з лактозою, вказує на *наявність* бактерій групи кишкових паличок у певній масі продукту.

За потреби подальшого підтвердження приналежності таких колоній до

БГКП проводиться вивчення біохімічних властивостей бактерій, що їх утворюють, тобто виявляють їх здатність до утворення індолу, ацетилметилкарбінолу, рівень кислотоутворення, проводять температурний і оксидазний тести. За цими ознаками диференціюють групу кишкових паличок за родами *Escherichia*, *Citrobacter* та *Enterobacter*.

Іноді виникає потреба встановити *титр* БГКП, тобто мінімальну масу продукту, в якій виявляються ці бактерії. У такому разі в спеціальні поживні середовища висівають по 1 см³ з десятикратних розведень. Після культивування відзначають максимальне розведення продукту, в якому виявлені ознаки росту (замутнення, газоутворення) та в якому наявність БГКП підтверджена подальшими аналізами. Це розведення означає титр БГКП. Він виражається у вигляді маси продукту в цьому розведенні.

Для визначення свіжого фекального забруднення об'єкту змивні води або продукт аналізують на наявність бактерій роду *Escherichia*, які диференціюють за такими ознаками:

- температурний тест;
- здатність до утворення індолу;
- інтенсивність кислотоутворення;
- цитратний тест.

На відміну від інших БГКП кишкова паличка здатна рости на середовищі Кесслер, Ейкмана тощо за температури 43-44°C, утворювати індол і не утилізує солі лимонної кислоти.

Існують сучасні методи одночасного визначення БГКП та *E. coli* в одній чашці. Вони базуються на здатності коліформних бактерій руйнувати певний субстрат за допомогою фермента Р-D-галактозидازی, притаманного бактеріям цієї групи. Внаслідок реакції колонії коліформних бактерій забарвлюються в червоний колір на рожевому тлі середовища. Цей метод дає змогу також диференціювати *E. coli* серед коліформ завдяки ферменту Р-D-глюкуронідазі, яка в цій групі притаманна лише *E. coli*. Цим ферментом вона руйнує похідне глюкуроніду, внаслідок чого колонії *E. coli* забарвлюються в колір від темно-синього до фіолетового, а колонії решти коліформ – у червоний.

Інші грамнегативні мікроорганізми, які мають Р-D-глюкуронідазну активність, утворюють блідо-блакитні колонії.

Тест на наявність оксидази використовують для диференціації ентеробактерій, які не утворюють оксидазу, від псевдомонад (також грамнегативних і неспоротворних), які мають оксидазу та окиснюють фенілендіамінові сполуки до індофенолу яскраво-синього кольору.

На фільтрувальний папір, змочений розчином диметил-фенілендіаміну з а-нафтолом, наносять масу з колоній, які досліджуються. Колір паперу не зміниться, якщо тест негативний; якщо протягом 1 хв. папір посиніє, тест вважається позитивним, тобто бактерії мають активну оксидазу.

4.4 Визначення дріжджів і плісневих грибів.

Кількість цих мікроорганізмів визначають посівом по 1 см³ продукту, що аналізується, або його розведень паралельно в дві чашки Петрі під середовище Сабуро або сусло-агар із антибіотиками, інколи – в рідке сусло.

Посіви термостатують за температури 24±1 °С впродовж 5 діб, але через 3 доби виконують попередній облік типових колоній із огляду на швидке розростання грибів.

Колонії плісневих грибів складаються з одноклітинних або септованих гіф, вони пухнасті, забарвлені в різні кольори.

Розвиток дріжджів на агаризованих середовищах супроводжується утворенням крупних округлих, гладеньких, блискучих сірувато-білих колоній, на рідкому суслі - появою муті, запаху бродіння, виділенням газу.

Мікроскопуванням підтверджують приналежність характерних колоній до дріжджів або плісневих грибів.

ЛЕКЦІЯ 4

Тема 4. Мікробіологія питної води.

1. Мікробіота ґрунтових вод.
2. Мікробіота питної води.
3. Мікробіота стічних вод.
4. Забруднення і самоочищення водою.
5. Санітарно-бактеріологічний контроль питної води.

1. *Підземні води.* Склад мікробіоти підземних вод (артезіанської, джерельної, ґрунтової) залежить головним чином від глибини залягання водоносного шару, його захищеності від потрапляння забруднень ззовні. Артезіанські води, що знаходяться на великих глибинах, містять дуже мало мікроорганізмів. Підземні води, які можна дістати в звичайних колодязях із неглибоких водоносних шарів, куди можуть просочуватися поверхневі забруднення, містять значну кількість бактерій, серед яких можуть бути й хвороботворні. Чим ближче до поверхні розташовані ґрунтові води, тим рясніше їх мікробіота.

Мікроорганізми, що мешкають у підземних водах, дуже активні, адаптовані до різних ступенів мінералізації, температури, тиску. Вони беруть участь у розкладанні та синтезі різних органічних і мінеральних сполук, здатні впливати на зміну сольового та газового складу природних вод, їх мінералізацію. Проникнення бактерій у глибину обмежують висока температура (вище 95-100°C) і мінералізація (130-270 г/кг– так звані «міцні розчини»). Бактерії проходять у пори породи й перебувають там у капілярній воді, вкривають стінки пустот і здійснюють процеси окиснення, відновлення, зброджування. Десульфитуючі бактерії відновлюють сульфати до сірководню,

денітрифікуючі бактерії – нітрати до нітритів і молекулярного азоту, хемосинтезуючі бактерії окиснюють сполуки заліза та марганцю, утворюючи залізни та марганцеві руди.

Поверхневі води. Це води відкритих водойм (річок, озер, водосховищ та ін.). Вони відрізняються великою різноманітністю складу мікробіоти залежно від хімічних домішок, характеру використання водойми, заселеності прибережних районів, пори року, метеорологічних та інших умов. Крім власних водних мікроорганізмів у відкриті водойми потрапляють багато мікроорганізмів ззовні. Наприклад, у річці, що протікає в районі великих населених пунктів або промислових підприємств, вода може містити сотні тисяч і мільйони бактерій в 1 см³, а вище цих пунктів - всього лише сотні або тисячі бактерій. У воді прибережної зони водойм, особливо стоячих, мікроорганізмів більше, ніж далеко від берегів. Більше мікроорганізмів міститься також у поверхневих шарах води, але особливо багато їх у мулі, головним чином - у його верхньому шарі, де утворюється плівка з бактерій, яка відіграє велику роль у процесах перетворення речовин у водоймі. Значно зростає число бактерій у відкритих водоймах під час весняної повені або після рясних дощів.

Особливо змінюються склад домішок і мікробіота води при впуску у водойму господарсько-побутових і промислових стічних вод. Разом із різними органічними та мінеральними забрудненнями у водойму вноситься маса мікроорганізмів, серед яких можуть траплятися й патогенні. Багато які з них, наприклад, збудники кишкових інфекцій, тривало (тижнями й навіть місяцями) зберігаються у воді вірулентними. Для господарсько-питних цілей як джерела водопостачання використовують відкриті та підземні водоймища.

У порівняно чистих водоймах зустрічаються різноманітні сапрофіти, невимогливі до поживного субстрату, які надходять із ґрунту. До них відносяться *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Spirillum* та ін.

При надходженні великої кількості органічних речовин у воді виявляються клостридії та інші анаероби, аеробні бактерії, вібріони, спірохети і т. ін. У водоймах, багатих сірководнем, зустрічаються фототрофні бактерії.

2. За складом і властивостями питна вода повинна бути безпечною в епідемічному відношенні, нешкідлива за хімічним складом і мати сприятливі органолептичні властивості. Найбільше відповідають цим вимогам артезіанські води, які зазвичай не потребують очищення. Воду з відкритих водойм піддають обробці на водопровідних станціях для поліпшення фізичних і хімічних властивостей і звільнення від мікроорганізмів.

Очищення питної води проводиться в кілька етапів. Першим є звільнення води від суспензій шляхом відстоювання в спеціальних басейнах - відстійниках. Для більш ефективного освітлення та знебарвлення води відстоювання проводять зі застосуванням коагулянтів. Основними

коагулянтами є солі алюмінію та заліза. В результаті реакції коагулянтів утворюються гідроксиди алюмінію або тривалентного заліза (при використанні солей заліза), що випадають у вигляді пластівців. Осідаючи, пластівці захоплюють із собою суспензію та мікроорганізми.

Після відстоювання воду піддають фільтрації. В якості фільтрувального матеріалу частіше використовують кварцевий пісок. У верхніх шарах фільтру утворюється біологічна плівка, яка містить велику кількість мікроорганізмів. Нині починають застосовувати фільтрацію води в поєднанні з коагуляцією, використовуючи для фільтрації матеріал із адсорбційними властивостями, наприклад, каолін, бентоніт.

Пройшовши через фільтри, вода повністю звільняється від завислих речовин і більшої частини мікроорганізмів. Проте в ній ще залишається деяка кількість бактерій, можуть зберегтися і хвороботворні, тому воду після фільтрації знезаражують - дезінфікують, частіше методом хлорування. Застосовують зазвичай газоподібний хлор або інші хлорвмісні речовини (гіпохлорити, хлорне вапно, хлораміни). Хлор навіть у незначних концентраціях (частки мг/дм^3) згубно діє на велику кількість мікроорганізмів. Крім вільного хлору, значну бактерицидну дію виявляють недисоційовані молекули хлорноватистої кислоти (HOCl), що утворюється при гідролізі хлору у воді. Згубно діють на мікроорганізми також гіпохлорит-іони (OCI^-), які утворюються внаслідок дисоціації хлорноватистої кислоти. Бактерицидні властивості має також атомарний (активний) кисень, що утворюється при реакції хлору з водою.

Необхідна для дезінфекції доза хлору повинна бути тим більше, чим вище концентрація у воді органічних речовин, оскільки хлор витрачається на їх окиснення; при нестачі залишкового (активного) хлору вода не знезаражується; надмірна кількість хлору надає воді неприємного присмаку та запаху.

У практику водопостачання впроваджують нові методи дезінфекції води – озонування та опромінення бактерицидними ультрафіолетовими променями. Озонування, крім бактерицидної дії, покращує органолептичні властивості води. Ультрафіолетове опромінення можливо застосовувати лише для води з незначною кольоровістю і каламутністю.

Оцінка якості питної води проводиться за комплексом хімічних, органолептичних і бактеріологічних показників.

При невідповідності якості питної води нормативам за органолептичними та іншими інтегральними показниками рекомендоване визначення загальної кількості мікроорганізмів за різних температур інкубації: $36 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 год. і $22 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 48 год. Зростання числа колоній при інкубації $36 \pm 1^\circ\text{C}$ свідчить про можливе забруднення антропогенною мікробіотою. Зростання числа бактерій, які розвиваються за $22 \pm 1^\circ\text{C}$, свідчить про погіршення санітарно-гігієнічного стану системи водопідготовки чи водопостачання. Крім того, різке підвищення цього показника може свідчити

про появу джерела забруднення або виникнення умов для вторинного розмноження мікроорганізмів. Визначення цього показника на етапах підготовки води дає суттєву інформацію щодо ефективності технології її очищення та знезараження.

Основним санітарно-показовим тестом забруднення води виділеннями кишечника теплокровних залишається наявність бактерій групи кишкових паличок (БГКП). На відміну від переважної більшості країн, в Україні збережені більш жорсткі вимоги до якості питної води за цим показником, тобто враховуються всі різновиди глюкозопозитивних коліформних бактерій, а не тільки лактозопозитивні варіанти. Такий підхід є обґрунтованим, оскільки цілий ряд лактозонегативних кишкових бактерій (умовно-патогенна мікробіота) можуть не тільки потрапляти, а й за відповідних умов розмножуватися в питній воді й негативно впливати на стан здоров'я людини (колонізують кишечкову стінку, що призводить до порушення роботи всього шлунково-кишкового тракту та до алергічних шкірних реакцій).

Для уточнення характеру забруднення води представниками кишкових бактерій у ДСанПіН введено визначення термотолерантних кишкових бактерій (ТКБ). ТКБ є більш специфічними індикаторами фекального забруднення, легко виявляються й значною мірою представлені саме *E. coli*, тобто показником свіжого фекального забруднення. В окремих випадках при отриманні незадовільних показників якості води та при незадовільному санітарно-гігієнічному стані системи водопостачання проводиться визначення саме *E. coli*.

Згідно з вимогами ДсанПіН, індекс БГКП (коліформні бактерії) визначається в об'ємі 1 дм³ води, а ТКБ – відсутність у 100 см³. Проте визначення індексу БГКП у 1 дм³ води передбачає кількісну оцінку, тоді як відсутність ТКБ у 100 см³ води є лише якісною оцінкою, яка проводиться шляхом обов'язкового дослідження трьох об'ємів води по 100 см³.

У зв'язку з тим, що вода відкритих водойм і вода ґрунтових колодязів може бути значно забруднена, при її бактеріологічному дослідженні враховують наявність інших (крім кишкової палички) санітарно-показових мікроорганізмів: ентерококів і *Clostridium perfringens* як показників фекального забруднення, бактерій роду

Proteus, присутність яких у воді вказує на наявність у ній значних кількостей органічних речовин, і коліфагів - індикаторів очищення питної води.

Санітарно-гігієнічні норми для води, якими користуються в харчовій промисловості та на підприємствах громадського харчування, - такі ж, як і для питної води.

Якщо вода входить до складу готової продукції (компоти, маринади, розсоли), то вона повинна бути прозорою, безбарвною, без стороннього запаху й смаку, не повинна містити сторонніх домішок, а також патогенних мікроорганізмів, повинна бути вільна від тваринних і рослинних організмів, паразитів, їх яєць і личинок.

Із мікробіологічно забрудненою водою у виробництво потрапляють збудники інфекційних захворювань, харчових отруєнь, а також гнильні, кислотоутворювальні, спорові форми бактерій, які можуть мати несприятливий вплив не тільки на перебіг технологічного процесу, але й на якість і стійкість готової продукції при зберіганні та на здоров'я споживачів.

3. Стічна вода – це вода, яка була використана на промислових підприємствах для різних виробничих процесів, забруднена різноманітними органічними та мінеральними речовинами. Такі забруднені води називають промисловими стічними водами. На окремих промислових підприємствах кількість стічних вод становить тисячі та десятки тисяч кубометрів на добу.

Велика кількість забруднених вод виходить також у результаті використання населенням чистої води для господарсько-побутових потреб. Такі води називають побутовими стічними водами. Кількість побутових стічних вод залежно від благоустрою районів житлових забудов становить від 125 до 420 дм³ на людину на добу.

Крім великої кількості органічних і мінеральних забруднень стічні води містять масу різних мікроорганізмів, серед яких зустрічаються й патогенні.

Видалення стічних вод із місця їх утворення регламентується особливими правилами. Перед спуском у відкриті водойми стічні води повинні піддаватися очищенню. Ступінь очищення залежить від кількості та хімічного складу забруднення вод, а також від характеру водойми, в яку вони можуть бути спущені.

Очищення стічних вод проводять різними методами – фізичними, хімічними та біологічними (біохімічними). Після механічного очищення – відстоювання – стічні води, що містять багато органічних речовин, піддають біологічним методам очищення. Ці методи очищення засновані на використанні біохімічної діяльності аеробних і анаеробних мікроорганізмів - їх здатності переробляти органічні й мінеральні речовини в процесах конструктивного та енергетичного обмінів клітини. Аеробне біологічне очищення здійснюється в природних і штучних умовах. У природних умовах очищення стічних вод відбувається шляхом їх фільтрації через шари ґрунту на спеціальних земельних ділянках, званих полями фільтрації та полями зрошення, а також у біологічних (очисних) ставках.

Ґрунтові мікроорганізми окиснюють органічні речовини, перетворюючи їх на неорганічні сполуки, й таким чином очищують воду. Окрім звільнення від органічних забруднень у ґрунтах затримується до 99% бактерій стічної води. Після проходження через ґрунт очищена стічна вода надходить у збірні дренажні труби, якими відводиться у відкриті водойми.

Поля зрошення відрізняються від полів фільтрації тим, що одні й ті ж земельні ділянки використовуються одночасно для очищення стічних вод і для вирощування сільськогосподарських культур (трав, овочів, плодових дерев та ін.). На полях зрошення очищується значно менше стічної води, ніж на полях

фільтрації такої ж площі, але зате використовуються рослинами цінні добрива, що утворюються при мінералізації органічних речовин стічної рідини.

Біологічні ставки – це штучні послідовно з'єднані водойми, в які відводиться стічна розбавлена вода. Процеси очищення води в них аналогічні тим, що відбуваються у водоймах при природному їх самоочищенні. Ширше застосовується біологічне очищення стічних вод у штучних умовах на спеціальних очисних спорудах – біологічних фільтрах і в аеротенках. Біологічному очищенню передують механічна.

Біологічні фільтри – це резервуари, заповнені грубо-зернистим матеріалом (шлаком, щебнем або пластмасовими пористими блоками). Через товщу цього завантажувального матеріалу фільтрують стічну воду. Подача повітря (аерація) в біофільтри може бути природною та штучною (примусовою), коли повітря продувається через товщу завантаження вентиляторами. Такі біофільтри називають аерофільтрами. На поверхні завантажувального матеріалу рясно розвиваються різноманітні організми (мікроорганізми, найпростіші та ін.), утворюючи більш-менш потужну біологічну плівку.

Процес очищення стічної води під впливом мікроорганізмів біологічної плівки складається з двох фаз. Спочатку окиснюються вуглеводні органічні речовини та амоніфікуються азотовмісні органічні речовини. Після окиснення головної маси органічних речовин окисненню піддаються утворені аміачні солі, які переходять у солі азотистої та азотної кислот (процес нітрифікації). Перша фаза має місце головним чином у поверхневих шарах завантажувального матеріалу, друга-у більш глибоких його шарах.

Аеротенки являють собою проточні басейни, в які разом із вистояною стічною водою вводять певну кількість так званого активного мулу (у вигляді пластівців), основна маса якого складається з різних мікроорганізмів. Суміш стічної води з мулом, проходячи крізь аеротенк, піддається активній аерації. Повітря як джерело кисню підтримує мул у завислому стані та здійснює енергійне перемішування рідини, що сприяє постійному й швидкому контактів організмів активного мулу з поживними речовинами стічної води та киснем. В аеротенках відбувається такий же процес, як і в біофільтрах, - послідовне біохімічне окиснення органічних речовин стічної рідини. Однак, в аеротенках процес відбувається значно інтенсивніше, ніж у біофільтрах, через кращу аерацію стічної рідини. Якісний склад мікронаселення біоплівки та активного мулу може служити індикатором роботи очисної споруди.

Після біофільтрів і аеротенків вода надходить у відстійники для звільнення від біоплівки та активного мулу, а потім скидається у водойму. Іноді вода перед випуском дезінфікується хлором або хлорним вапном.

У процесі очищення стічних вод накопичується велика кількість осадів, які містять багато органічних речовин, мікроорганізмів, у тому числі й патогенних. Обробка та знешкодження осадів проводяться в метантенках.

Складні органічні сполуки осаду (білки, жири, клітковина та ін.) у

результаті різних процесів бродіння та гниття перетворюються на жирні кислоти, спирти й газоподібні продукти (вуглекислий газ, аміак, метан, водень). Серед газоподібних продуктів 60-65% становить метан, який може бути використаний як горючий газ. Зброджений осад зневоднюють, сушать і вивозять на сільськогосподарські поля як добрива, а в брикетованому вигляді він може бути використаний і як паливо.

4. Водне середовище населяють організми, які тісно взаємопов'язані. При випуску неочищених або недоочищених стічних вод у водоймище умови життя його природного населення різко змінюються.

У місці випуску стічних вод, які містять органічні забруднення, розвивається безліч сапрофітних мікроорганізмів, і у воді активно відбуваються спричинені ними процеси гниття й бродіння. У цій сильно забрудненій зоні водойми, званій полісапробною зоною, число бактерій досягає декількох мільйонів у 1 см^3 води.

По мірі зниження вмісту органічних сполук, принаймні їхньої мінералізації, зменшується й кількість сапрофітних бактерій, число їх становить 10^5 - 10^4 в 1 см^3 води. У цій помірно забрудненій зоні водойми, званій мезосапробною зоною, починають розвиватися інші водні організми (найпростіші, коловертки, водорості та ін.).

Сапрофітні бактерії відмирають у результаті нестачі їжі, під впливом антибіотичних речовин, які виділяються деякими водоростями. Найпростіші поїдають бактерії, крім того, бактерії лізуються бактеріофагами. У водоймі поступово відновлюються нормальні екологічні умови, фауна та флора. У цій зоні водойми, званій олігосапробною зоною, число сапрофітних бактерій знижується до 10^2 - 10^1 клітин у 1 см^3 води.

Такий процес очищення водойми від органічних забруднень і бактерій називається природним самоочищенням. Інтенсивність його залежить від кількості забруднень у водоймі, їх складу, ступеня розбавлення чистими водами, насичення води киснем, температури.

Вода природних водойм має самоочищувальну здатність, але при потраплянні великої кількості органічних забруднень на великих ділянках стає в санітарному відношенні небезпечною та непридатною для використання. У зв'язку з цим у нашій країні випуск стічних вод у водойми без попередньої обробки не дозволяється.

У ряді промислових підприємств здійснюється оборотне та повторне використання води в технологічних процесах, що призводить до скорочення обсягу стічних вод. За останні роки в нашій країні в зв'язку зі зменшенням скидання неочищених промислових стоків покращився санітарно-гігієнічний стан багатьох річок.

5. Санітарно-бактеріологічний контроль питної води в Україні регулюється державними та міждержавними стандартами.

Підприємства, які виробляють продукцію для Європейського Співтовариства, контролюють питну воду за державними стандартами, узгодженими з ISO (міжнародна організація з стандартизації) або EN (європейські стандарти). Вимоги до якості води централізованого та нецентралізованого питного водопостачання охоплюють 82 показники, надані 10-ма групами, з них до мікробіологічних відносять: групу 1 - 8 бактеріологічних показників, групу 2 - 1 вірусологічний, групу 4 - 1 мікологічний. Санітарно-бактеріологічний контроль питної води включає визначення таких показників: кількість МАФАНМ в 1 см³, наявність БГКП і термостабільних *E. coli*, ентерококів, спор сульфівідновлюючих клостридій, колифагів (табл. 4.1).

Таблиця 4.1. Мікробіологічні, вірусологічні та мікологічні вимоги до питної води

Назва показника та одиниці вимірювання	Норматив, не більше ніж	
	для води систем централізованого водопостачання	для води нецентралізованого водопостачання (нефасована,
Група 1, бактеріологічні показники		
Число бактерій в 1 см ³ води, що досліджують за 37°C, КУО	100	20
Число бактерій в 1 см ³ води, що досліджують за 22°C, КУО	Не визначають	20
Число бактерій групи кишкових паличок (коліформних мікроорганізмів) в 1 дм ³ води (індекс БГКП), КУО	3	Відсутність
Число термостабільних кишкових паличок (фекальних коліформ) в 100 см ³ , КУО	Відсутність	Відсутність
Число патогенних мікроорганізмів в 1 дм ³ води, КУО	Відсутність	Відсутність
Число колифагів в 1 дм ³ води, БУО	Відсутність	Відсутність
Спори сульфівідновлюючих клостридій, наявність або чисельність (КУО) у 20 см ³	Відсутність	Відсутність
Синьогнійна паличка (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>), КУО/дм ³	Не визначають	Відсутність
Група 2, вірусологічні показники		
Ентеровіруси, аденовіруси, ротавіруси, реовіруси та антиген вірусу гепатиту А, БУО/дм ³	Відсутність	Відсутність
Група 4, мікологічні показники		
Мікроміцети, КУО/дм ³	Відсутність	Відсутність

ЛЕКЦІЯ 5

Тема 5. Мікробіологія допоміжних матеріалів.

1. Мікробіота та мікробіологічне дослідження солі.
2. Мікробіота та мікробіологічне дослідження цукру.
3. Мікробіота та мікробіологічне дослідження спецій та прянощів.
4. Мікробіота та мікробіологічний контроль яєць і яєчної продукції.

1. У харчових виробництвах використовують різні допоміжні продукти та матеріали, незадовільний санітарний стан яких може негативно вплинути на якість виробленої продукції і стати головною причиною невідповідності органолептичних і санітарно-мікробіологічних показників вимогам нормативно-технічної документації.

Кожну партію допоміжних харчових продуктів і матеріалів контролюють під час приймання на підприємство, в процесі зберігання та перед використанням.

Бактеріологічне дослідження допоміжних продуктів і матеріалів здійснюють відповідно до технічних інструкцій і на вимогу органів Держсанепіднагляду з метою виявлення мікробіоти, яка є небезпечною для здоров'я людей, а також обумовлює мікробне псування готової продукції.

Об'єктами дослідження є цукор, сіль, спеції та прянощі, часник сублімаційного сушіння, желатин, молоко сухе незбиране або знежирене, пшеничне борошно, крохмаль картопляний, яєчний порошок, меланж та ін. При бактеріологічному аналізі допоміжної сировини та матеріалів завжди визначають кількість МАФАНМ, наявність БГКП або титр кишкової палички, наявність мікроорганізмів роду *Salmonella*.

У ряді випадків за Державним стандартом у цих об'єктах контролюють інші мікробіологічні показники, наприклад, харчові казеїнати натрію та сухе знежирене молоко, які використовують у м'ясній промисловості, додатково перевіряють на присутність сульфітредукувальних клостридій, а суху білкову суміш із харчової крові та соєвих білків досліджують ще й на вміст паличок протею, стафілококів. У соєвих білках додатково визначають вміст анаеробних клостридій, дріжджів і плісневих грибів.

Сіль видобувають і виробляють нестерильно. Додаткове мікробне забруднення її спостерігається при недотриманні санітарних правил під час транспортування й зберігання. Кількість мікроорганізмів може сягати сотень тисяч на один грам, але наявність більше 1000 мікробних клітин уже вважається значним забрудненням.

Власна мікробіота солі складається головним чином із галофілів (солелюбивих), що потребують підвищеного вмісту солі, та галобів, які здатні жити при підвищених або фізіологічних концентраціях солі. Більшість мікроорганізмів солі - спорові палички та мікрококи, які синтезують пігменти, а при підвищеній вологості з'являються дріжджі та плісневі гриби.

У харчових виробництвах використовують сіль кухонну, харчову,

виварювальну або мелену № 0, 1, 2 не нижче першого сорту. В кухонній солі не повинні міститися сторонні домішки, а також нерозчинні сполуки кальцію, які надають готовим виробам гіркого присмаку.

Галофільні мікроорганізми спричиняють псування продуктів при засолі.

Найбільш чутлива до підвищеної концентрації солі (3-10%) гнильна мікробіота. Разом із тим деякі збудники харчових отруєнь і токсикозів (сальмонели, стафілококи) навіть при концентрації солі 20% зберігають життєздатність.

Експериментальні дослідження

Бактеріологічний аналіз солі проводять для визначення загальної кількості мікроорганізмів (МАФАНМ) і наявності кишкових паличок (у деяких випадках їх титру), наявності галофілів і галобів, дріжджів, плісневих грибів і мікроорганізмів роду *Salmonella*. Наважка має бути не менше 10 г, а для виявлення сальмонел - 25 г. На рис. 5.1 наведена схема аналізу кухонної солі у випадку визначення титру БГКП. У разі виявлення БГКП в 1 г вказану наважку висівають у середовище Кесслер у співвідношенні 1:7-1:9.

Вимоги. Допустима кількість представників цих груп: МАФАНМ не більше 1000 КУО/г, наявність БГКП не допускається в 1 г, наявність патогенних мікроорганізмів, зокрема сальмонел, не допускається в 25 г, і плісневих грибів – не більше 10 КУО/г.

2. У готовий цукор мікроорганізми потрапляють у процесі його відбілювання, сушіння, пакування й зберігання. Серед них є бактерії роду *Leuconostoc*, *B. subtilis*, анаеробні термофіли, що утворюють гази - сірководень і вуглекислий газ, осмофільні плісневі й дріжджові гриби.

Наявність бактеріальної мікробіоти в цукрі є великою небезпекою для галузей харчової промисловості, які використовують цукор, насамперед кондитерської, консервної, безалкогольної та ін. Наприклад, мікроорганізми роду *Leuconostoc* призводять до ослизнення безалкогольних напоїв (цукровий кльок). У кондитерській промисловості бактерії, які здатні утворювати газ, і дріжджі спричиняють спучування та розтріскування цукерок. При консервуванні ягід і плодів особливо небезпечними в цукрі є термофільні й споріві бактерії, які виділяють водень та інші гази.

Найбільшою небезпекою для кондитерського виробництва є осмофільні дріжджі роду *Zygosaccharomyces*, спороутворювальні термофільні та мезофільні аероби та анаероби, які ініціюють бродіння та прокисання фруктових пюре, варення, повидла, джему, а також термофільні бактерії, що утворюють H_2S і CO_2 , слизотворні аспорогенні бактерії роду *Leuconostoc* (*L. mesenteroides*, *L. dextranicum*), які призводять до ослизнення фруктових соків і сиропів. Завдяки наявності капсул клітини бактерій роду *Leuconostoc* стійкі до дії високих температур. Не меншу небезпеку становлять плісневі гриби, які псують недоварене варення.

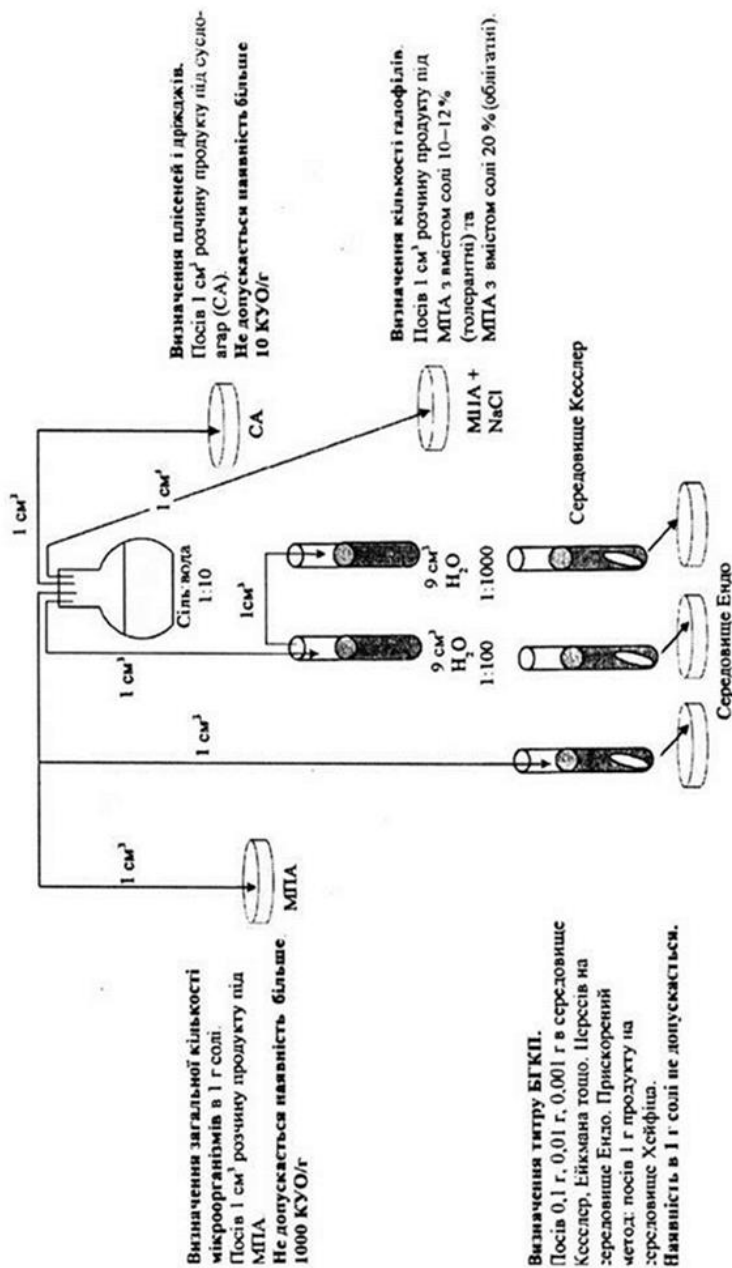


Рис. 5.1. Схема мікробіологічного аналізу солі.

Вміст мікроорганізмів у цукрі-піску порівняно невеликий і при стандартній вологості 0,15 % звичайно становить від 50 до 1000 клітин у 1 г. При підвищеній вологості, а також при наявності сторонніх домішок і забруднень число мікроорганізмів у 1 г може сягати 10000.

Експериментальні дослідження

Проби цукру-піску відбирають із кожних п'яти мішків загальною масою близько 250-300 г. Наважку цукру 10 г в асептичних умовах вносять у колбу з 100 см³ стерильної водопровідної води й розмішують до повного розчинення. Із цього основного розведення (1:10) готують подальші розведення 1:100 і 1:1000 за загальними правилами.

Мікробіологічний контроль цукру-піску проводять загальноприйнятими методами відповідно до схеми 5.2 за наступними показниками:

- загальна кількість МАФАНМ у 1 г;
- кількість міцеліальних грибів у 1 г;
- наявність осмофільних дріжджів;
- присутність мезофільних бактерій роду *Leuconostoc*.

Для поглибленого вивчення складу мікробіоти цукру визначають декілька інших показників, наприклад, присутність осмофільних, слизотворних, термофільних мікроорганізмів. Для визначення МАФАНМ найчастіше роблять посіви з розведення 1:10 або 1:100 і культивують.

Вимоги. Вміст МАФАНМ має бути не більше 1-10³ КУО/г.

Для визначення кількості плісневих грибів зазвичай користуються розведенням 1:10 і культивують. Мікробіоту цукру-піску, який зберігається, складають аскоміцети родів *Aspergillus*, *Penicillium* і зігоміцети роду *Mucor*.

Вимоги. Вміст міцеліальних грибів має бути не більше 10 КУО/г.

Для визначення осмофільних дріжджів 1-2 см³ розведення 1:10 висівають у чашку Петрі під м'ясо-пептонний агар із 10% сахарози та культивують 7-10 діб за температури 30°C. Осмофільні дріжджі утворюють великі (до 4 мм у діаметрі) колонії, непрозорі, плоскі, вологі, гладенькі, з приємним дріжджовим запахом. За морфологією осмофільні дріжджі – круглі, витягнуті грампозитивні клітини, які брунькуються, тобто морфологія типова для аскоміцетових дріжджів роду *Zygosaccharomyces*.

Вимоги. Осмофільні дріжджі в цукрі-піску не допускаються.

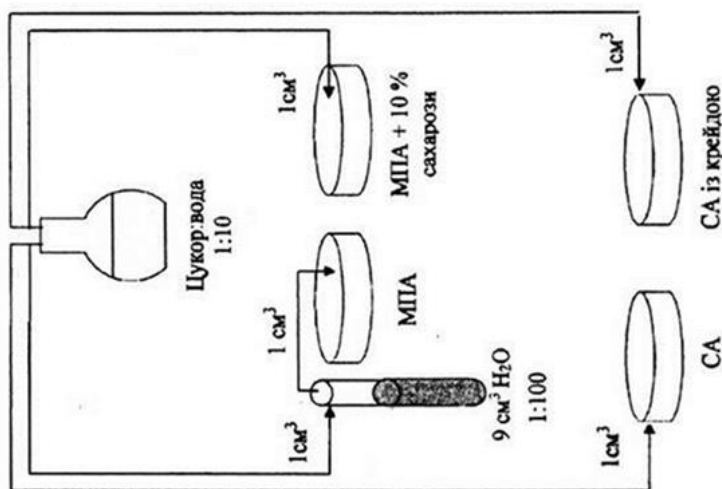
Для виявлення слизотворних мезофільних бактерій роду *Leuconostoc* 1-2 см³ розведення 1:10 висівають під елективні середовища, що містять сахарозу й дріжджовий автолізат. Посіви культивують 48 год. за температури 30°C. Ці бактерії утворюють характерні слизові, майже прозорі, опуклі, гладенькі, досить великі колонії (2-4 мм в діаметрі), на сусли-агарі з крейдою - дрібні напівпрозорі, злегка опалесцентні, гладенькі з зонами просвітлення.

Визначення кількості МАФАнМ.

Посів 1 см^3 розчину продукту під МПА з розведення $1:100$.
Кількість МАФАнМ більше за $1 \cdot 10^3$ КУО/г не допускається.

Визначення кількості міцеляльних грибів.

Посів під середовище сусло-агар (СА).
Наявність в кількості більшеї за 10 КУО/г не допускається.



Визначення осмофільних дріжджів.

Посів під МПА з 10% сахарози.
Наявність не допускається.

Визначення мезофільних бактерій роду *Leuconostoc*.

Посів 1 см^3 розчину під агарове середовище з дріжджовим автолізатом і сахарозою або під сусло-агар із крейдою.
Наявність не допускається.

Рис. 5.2. Схема мікробіологічного аналізу цукру:

Бактерії роду *Leuconostoc* належать до гетероферментативних молочнокислих мікроорганізмів; вони мають видовжену кулясту форму, утворюють дипло- та стрептококи, нерухомі, спори не утворюють, за Грамом забарвлюються позитивно. При культивуванні на середовищах багатих на цукор *L. mesenteroides* та *L. dextranicum* утворюють слизові капсули, що складаються з декстрану. Скупчення капсул нагадують жаб'ячу ікру, їх називають цукровим кльоком.

Вимоги. Наявність слизотворних бактерій у цукрі не допускається.

У цукрі-піску визначають також наявність термофільних бактерій – кислототворних анаеробів, що продукують H_2S , і анаеробів, що не утворюють H_2S . Посів здійснюється глибинним методом під відповідні елективні середовища з прогрітих (80°C протягом 5 хв.) проб розведення 1:10.

Вимоги. Присутність термофільних бактерій у цукрі-піску не допускається.

3. Для надання харчовим продуктам специфічного аромату й смаку використовують чорний, духмянний, червоний мелений перець, мускатний горіх, коріандр, кардамон, кмин, лавровий лист і інші прянощі, а також їх суміші різного складу. Прянощі мають антимікробну дію завдяки вмісту в них ефірних олій, алкалоїдів, фітонцидів. Але незважаючи на це, вони можуть містити багату мікробіоту, включаючи й патогенну. Вміст мікроорганізмів особливо високий у чорному перці, мускатному горісі та гвоздиці. Мікроорганізми потрапляють у прянощі з ґрунту через порушення вимог виробництва. У прянощах зазвичай переважають бацили *B. subtilis*, *B. circulans*, *B. coagulans*, іноді присутні стафілококи та стрептококи, представники родів *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Klebsiella* і навіть сальмонели та ешерихії. Дріжджі зустрічаються рідко. Плісеневі гриби можуть спричиняти псування спецій. У 1 г перцю виявляють до 5-6 млн мікроорганізмів, зокрема бацили та кокові форми, БГКП, причому в меленому перці їх може бути значно більше, ніж у горошку. Наявність у прянощах спор, стійких до нагрівання, може призвести до псування готових продуктів, тому як профілактичні заходи рекомендують застосовувати стерилізовані сіль, спеції, прянощі.

4. Яйця, меланж і яєчний порошок також містять сторонню мікробіоту. Свіжі курячі яйця практично стерильні, але в процесі зберігання вони поступово заражаються різними мікроорганізмами. Спочатку міцеліальні гриби (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Thamnidium*, *Cladosporium*) проходять через пори шкаралупи й викликають псування вмісту яйця з характерною зміною забарвлення до зеленого, чорного, жовтого кольору. Потім усередину проходять гнильні бактерії, спричиняючи гідроліз білка. Розкладання вмісту яйця супроводжується зміною його кольору та появою речовин і газу з неприємним запахом. Наприклад: зелений пігмент виробляють бактерії роду *Pseudomonas*, чорний – *Proteus*, змішаний – *Serratia*, *S. aureus*, *E. coli*.

Меланж містить ті ж мікроорганізми, що і яйця. У дефрострованому меланжі мікроорганізми дуже швидко розмножуються, тому меланж переробляють протягом двох-трьох годин після відтаювання. В яйцях і особливо в меланжі можуть бути виявлені патогенні бактерії – збудники туберкульозу курей і сальмонели. З цієї причини качині та гусячі яйця використовують тільки для змазування поверхні борошняних кондитерських виробів, що випікаються в умовах високої температури.

Яєчний порошок може містити спори гнильних бактерій, кишкові палички та збудників харчових токсикоінфекцій (*Salmonella pullorum*, *S. gallinarum*). Ця мікробіота, а також спори міцеліальних грибів зберігаються в яєчному порошку внаслідок низької температури висушування (не вище 60°C) під час його виготовлення, а також при порушенні технології термічної обробки.

Мікробіологічний контроль яєць проводять у разі зараженості яєць, якщо вони отримані з господарств, де спостерігалися захворювання птахів, або на вимогу санітарної служби, а також у разі виникнення сумнівів у доброякісності яєць при їх овоскопії, тобто при перегляді на світло.

Експериментальні дослідження

Яйця миють із милом, фламбують поверхню ватяним тампоном, що горить, пробивають шкаралупу обпаленим пінцетом і відбирають пробу стерильною піпеткою.

При дослідженні морожених яєчних продуктів (меланж) із позитивними органолептичними показниками відбирають 1% від партії, але не менше 6 банок. Банки розкривають в асептичних умовах. Для цього кришку банки та верхню частину корпусу на відстані 5 см від неї протирають ватяним тампоном, змоченим у спирті, й обпалюють тампоном, що горить. Розкривають банку стерильним консервним ножем. Ударом молотка по обпаленому шпателью відколюють шматочки меланжу на глибині 5-10 см і відбирають 20 - 25 г у стерильний посуд. Продукт відтаюють на водяній бані за температури біля 45°C і відбирають суспензію стерильною піпеткою.

Проби яєчного порошку беруть від кожної партії вибіркоvim порядком. Для цього розкривають 10% одиниць упаковки, але не менше трьох. Стерильною ложкою або шпателем відбирають у стерильний посуд продукт на глибині 10-15 см. Середню пробу складають шляхом відбору однакової кількості порошку від кожної розкритої одиниці упаковки так, щоб загальна вага проби була близько 250 г. Пробу ретельно перемішують і готують розведення 1:10 з наважки $1 \pm 0,001$ г. Яйця птахів і яйцепродукти досліджують на кількість МАФАНМ в 1 г, цвілеві гриби, присутність бактерій роду *Salmonella*, бактерій роду *Proteus* (*P. vulgaris*) і визначають титр кишкової палички (рис. 5.3).

При визначенні МАФАНМ 1 см^3 розведення 1:10 або 1:100 досліджуваного продукту висівають у чашку Петрі під МПА та вирощують 48 годин при 30°C.

3. Визначення бактерій роду *Yersinia*.

Посів в різке середовище накопичення. Пересів на диференційно-діагностичні середовища (Піоскірська, вісмут-сульфітний агар).

Наявність в 25 г яєчної продукції не допускається.

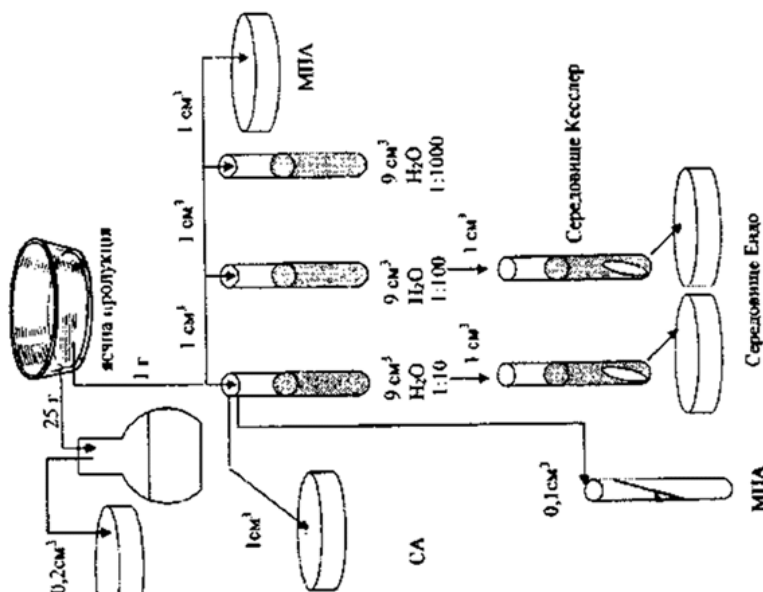
4. Визначення кількості міцеляльних травів.

Посів під середовище суцільного агру.

Кількість пліснявих травів не регламентується, але має бути мінімальною

5. Визначення бактерій роду *Proteus*.

Посів 0,1 см³ в конденсат скошеного МПА за методом Шукшенца. Наявність в 1 г яєчної продукції не допускається.



1. Визначення кількості МАФАМ.
Посів 1 см³ продукту під МПА з розведення 1:1000, діагностичний -- з розведення 1:10.

Регламентується кількість МАФАМ не більше: для яйця курячого -- 100 КУО/г, для яєчного порошку -- 1·10⁵ КУО/г.

2. Визначення титру БГКП.

Посів 0,1 г, 0,01 г в середовище Кесслер, Бязмаха тощо.

Пересів на середовище Ендо.

Наявність в 0,1 г яєчної продукції не допускається.

Примітка: з розведення 0,01 г роблять посів в яє-столових жовтках сублімаційного сушіння.

Рис. 5.3. Схема мікробіологічного контролю яєчної продукції.

Для виявлення плісневих грибів 1 см^3 розведення 1:10 досліджуваного продукту висівають у чашку Петрі під СА та вирощують три-п'ять діб при 30°C .

Після культивування кількість мікроорганізмів і кількість плісневих грибів визначають загальними методами.

Для визначення титру кишкових паличок готують розведення продукту 1:10; 1:100; 1:1000 в стерильній водопровідній воді. З кожного розведення висівають по 1 см^3 в пробірки з середовищем Кесслер із поплавцями. Посіви термостатують 24 години за температури 43°C . Після культивування визначають наявність кишкової палички за культуральними, морфологічними та біохімічними ознаками.

Установивши остаточно ті розведення, в яких були присутні коліформи, визначають їх титр. Наприклад, якщо БГКП були знайдені в першому, другому, третьому розведеннях, то колі-титр дорівнює 0,001 г.

Вимоги. Титр БГКП мороженої ячної продукції повинен бути не нижче 0,1 (табл. 5.1). Меланж і порошок з колі-титром, що дорівнює 0,1, дозволяється використовувати для виготовлення харчових продуктів, що піддаються термічній обробці.

З метою виявлення бактерій роду *Salmonella* використовують посів 25 г на середовища накопичення - селенітове або магнієве, і термостатують 48 годин при 37°C . Із накопичувальної культури 0,1- 0,2 см^3 пересівають на середовище Плоскірева штрихом або шпателем поверхневим методом. Посів термостатують 24 години при 37°C . На середовищі Плоскірева кишкова паличка росте бідно у вигляді поодиноких крупних (3-4 мм в діаметрі) колоній рожевого кольору, вони лактозопозитивні. Сальмонели ростуть інтенсивно у вигляді дрібних (до 1 мм в діаметрі) безбарвних прозорих ніжно-рожевих колоній, вони лактозонегативні. У мазках, забарвлених за Грамом, сальмонели - це дрібні грамнегативні палички з заокругленими кінцями, поодинокі, неспортовані.

Вимоги. Присутність сальмонел у 25 г яєць і ячної продукції не допускається.

Виявлення бактерій роду *Proteus* проводиться шляхом посіву 0,1- 0,2 см^3 суспензії досліджуваного матеріалу в конденсаційну воду свіжого скошеного МПА за Шукевичем. При цьому не можна торкатися до поверхні агару. Через 18-24 години термостатування при 37°C на скошеній поверхні агару з'являється, блакитний вуалеподібний наліт, який повзе вгору з конденсаційної рідини - феномен «роїння». Культура має гнильний запах.

Палички *Proteus* поліморфні (короткі, довгі, сферичні), грамнегативні, активно рухомі. За відсутності джгутиків звичайний протей росте у вигляді ізольованих колоній.

Вимоги. Наявність протею в 1 г яєць не допускається (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 Мікробіологічні показники безпеки яєць і яєчної продукції

Об'єкт контролю	Кількість МАФАНМ. КУО/г, не більше	Маса продукту (г), в якому не допускається наявність			
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	бактерій роду <i>Proteus</i>	бактерій роду <i>Salmonella</i>
Яйце куряче (дістичне)	1-10 ²	0,1	-	-	25
Меланж, жовтки й білки яєчні заморожені	5-10 ⁵	0,1	1	1	25
Яєчний порошок для теплової обробки	1 10 ⁵	0,1	1	1	25

Яєчну продукцію, яка містить протей, але не містить сальмонел і кишкової палички, за умови задовільних органолептичних показників можна використовувати у виробках із тіста, що піддаються жорсткій термічній обробці.

ЛЕКЦІЯ 6

Тема 6. Мікробіологія хлібопекарного та кондитерського виробництва.

1. Мікроорганізми – збудники бродіння заквасок і тіста.
2. Мікроорганізми – шкідники хлібопекарського виробництва.
3. Мікробіота борошна.
4. Мікробіологічний контроль сировини кондитерського виробництва.
5. Мікробіологічні показники якості та безпеки цукристих, шоколадних і борошняних кондитерських виробів. Профілактичні заходи при виробництві та зберіганні кондитерських виробів.

1. Відомо, що бродіння в тісті спричиняють дріжджі та деякі види молочнокислих бактерій. Від чистоти культури, фізіологічних особливостей цих мікроорганізмів залежать інтенсивність технологічного процесу та якості готового хліба.

Мікроорганізми, які беруть участь у приготуванні тіста з пшеничного та житнього борошна, різні. Ступінь участі кожного з них також різна, тобто постійна наявність дріжджів і молочнокислих бактерій у тісті та заквасках різних видів дає підставу вважати ці мікроорганізми специфічними для напівфабрикатів хлібопекарного виробництва. Сировина, напівфабрикати, що використовують в хлібопеченні, а також сіль не є стерильними, тому поряд із технологічними мікроорганізмами разом із борошном, водою, сіллю в напівфабрикати потрапляють мікроорганізми-шкідники.

Вторинне мікробне забруднення на всіх технологічних етапах також має

місце. Мікроорганізми потрапляють у напівфабрикати та готові продукти з повітря, обладнання та інвентарю, із інших джерел.

Класифікація та характеристика дріжджів-сахароміцетів

Дріжджі відносяться до великої групи одноклітинних нерухомих безхлорофільних мікроорганізмів, широко розповсюджених у природі.

Безсумнівно, першим мікробіологічним процесом, який людина використала для своїх цілей, було спиртове бродіння, вивчене Л. Пастером. Роль дріжджів як збудників спиртового бродіння відкрив у 1836 році французький інженер і фізик Каньяр де Латур (Cagniard de Latour). Датський учений Еміль Кристіан Хансен (E. Ch. Hansen) описав велику кількість рас і різновидів дріжджів і завжди виступав за використання їх у якості чистих культур у виробництві пива.

Видова назва *Saccharomyces paradoxus* пояснюється властивістю цього мікроорганізму розвиватися на різних субстратах (закваска, пиво, меласа, слизотеча дуба). Вперше ці дріжджі були виділенні Енгелем у 1872 році й за невеликий розмір клітин отримали назву *S. minor* (сахароміцет малий). У подальшому дріжджі, дуже близькі до *S. minor*, були вилучені з різних джерел і описані як види *S. exiguus* (сахароміцет незначний), *S. paradoxus*, *S. panis fermentati* (сахароміцет кислого тіста). В наукових роботах із мікробіоти житніх заквасок у 1930-1940 роках *S. minor* і *S. panis fermentati* вважалися самостійними видами дріжджів. Г. К. Бургвіц і З. І. Пономарьова (1935 р.), вивчивши особливості цих культур, установили, що вони відрізняються тільки властивістю утворювати спори. Оскільки представники сімейства *Saccharomycetaceae* нерідко втрачають цю ознаку в лабораторних і природних умовах, було запропоновано зазначені дріжджі відносити до одного виду - *S. minor*. За сучасною класифікацією дріжджів назви *S. minor* і *S. paradoxus* стали синонімами назви *S. dairensis*. Але в хлібопекарній промисловості за дріжджами цього виду залишилась початкова назва *Saccharomyces minor*.

Окремі види дріжджів роду *Saccharomyces* розрізняються здатністю зброджувати різні вуглеводи. Щоб визначити вид мікроорганізма, необхідно вивчити його морфологічні, культуральні та фізіологічні ознаки. Нижче наведена загальна характеристика видів хлібопекарних дріжджів.

***Saccharomyces cerevisiae*.** Дріжджі даного виду мають велике практичне значення. Їх широко використовують у багатьох галузях харчової промисловості (виноробство, пивоваріння, виготовлення спирту, квасу, хліба).

Морфологічні ознаки. Клітини дріжджів *S. cerevisiae* нерухомі, великі, розміром 5-6х10-14 мкм. Форма їх округла, овальна, яйцеподібна або злегка видовжена (рис. 6.1). При мікроскопії в дріжджовій клітині розрізняють оболонку, протоплазму, вакуоль. Використовуючи спеціальні методи забарвлення, можна побачити ядро, включення жиру, глікогену. Розмножуються дріжджі брунькуванням і спорами.

Одна материнська клітина може відбрунькувати 8-10 клітин. Бруньки розташовуються вздовж клітини, звичайно по одній осі. У несприятливих

умовах утворюються декілька бруньок, при цьому молоді клітини не відокремлюються від старої й утворюють зростки брунькування.

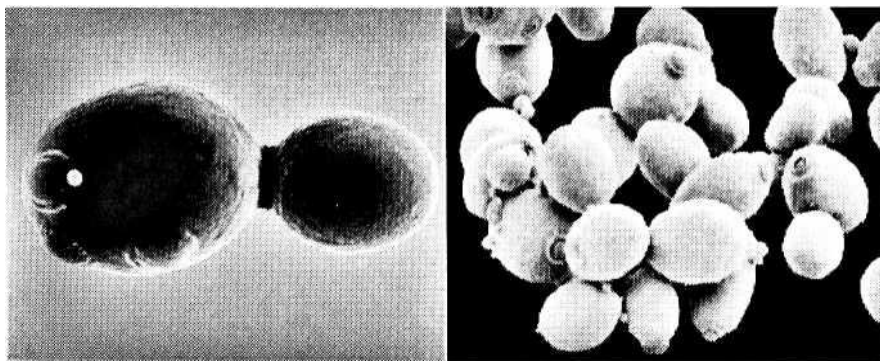


Рисунок 6.1. Дріжджі *S. cerevisiae*

Дріжджі *S. cerevisiae* відносяться до культурних дріжджів, тому здатність до спороутворення в них послаблена або повністю втрачена. Спороутворення можна стимулювати лише примусовим шляхом в умовах голодування. При цьому в клітині утворюється 1-4, зрідка 8 спор кулястої форми з гладкою оболонкою. Спори дріжджів більш пристосовані до шкідливого впливу навколишнього середовища, ніж самі клітини (наприклад, вони стійкі до температури 70°C), але значно менш стійкі порівняно зі спорами плісневих грибів і бактерій. Для отримання спор у дріжджів розроблені спеціальні середовища й методи. Клітини дріжджів *S. cerevisiae* за Грамом забарвлюються позитивно.

Культуральні ознаки. На сусло-агарі формуються колонії круглої форми діаметром 0,5-1,0 см, жовтувато-білого кольору з опуклим центром і рівними краями. За характером поверхні описані два види колоній *S. cerevisiae*: гладкі маслянисті та складчасто-шерехаті пагорбкуваті (рис. 6.2). Перші прийнято позначати буквою S від англійського слова smooth (гладкий), другі – R від слова rough (нерівний). На думку багатьох дослідників, культури дріжджів, які мають колонії другого типу, відрізняються зниженою бродильною активністю.

Фізіологічні властивості. Відомо, що дріжджі *S. cerevisiae* здатні зброджувати цукри за нестачі кисню в середовищі й окиснювати ці ж цукри в циклі дихання при достатній кількості кисню.

Вони зброджують та засвоюють глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу, частково рафінозу і прості декстрини солодового сусла. Не зброджують і не засвоюють лактозу, пентози (ксилозу, арабінозу), крохмаль, клітковину. Джерелом азотного живлення для них служать амінокислоти та амонійні солі.

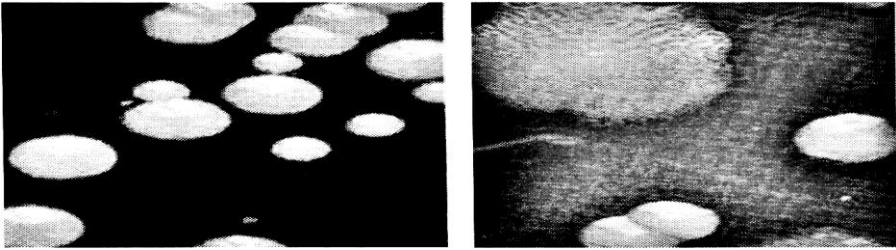


Рисунок 6.2. Колонії дріжджів *S. cerevisiae*

Оптимальна температура розвитку – 30°C. Лише деякі культури витримують температуру до 35-37°C. Дріжджі даного виду добре переносять кислотність середовища до 10-12°. Оптимальне значення pH для них міститься в зоні 4,5-5. Пригнічує їх розвиток етиловий спирт в концентрації 2-5%. При вмісті 12-14% спирту бродіння у більшості випадків припиняється. З підвищенням температури негативна дія спирту збільшується.

***Saccharomyces minor*.** Дріжджі цього виду специфічні для густих житніх заквасок. В інших галузях харчової промисловості зазначений вид не використовується. В дріжджовому виробництві, наприклад, він є шкідником, тому що зменшує вихід дріжджів.

Морфологічні ознаки. За морфологією дріжджі *S. minor* значно відрізняються від *S. cerevisiae*. Клітини в них дрібні, округлі, діаметром 1,5-3 мкм, із характерним брунькуванням. Бруньки розташовані звичайно на одному кінці клітини. При зростанні в рідкому середовищі вони утворюються на обох кінцях клітини або по дві на одному кінці. В результаті отримуються ланцюги з 3-7 клітин.

За опублікованими даними, ці дріжджі утворюють 2-4 кулясті спори в клітині. Але відомі в хлібопеченні штами *S. minor* спор не утворюють, тому є аспорогенними. За Грамом клітини *S. minor* забарвлюються позитивно.

Культуральні ознаки. Солодове сусло ці дріжджі зброджують із утворенням невеликого пухкого осаду сірувато-білого кольору. При збовтуванні він легко утворює каламуть. Інтенсивність газоутворення також помітно слабкіша порівняно з *S. cerevisiae*.

Штрих на сусло-агарі менш опуклий, із рівними краями, соковитий за консистенцією, сірувато-білого кольору з глянцеvim блиском. На чашках виростають дрібніші колонії округлої форми діаметром 0,4-0,8 см з трохи піднятим центром і рівними краями. Колір колоній сірувато-білий, поверхня гладка, блискуча. Нерівні колонії не описано. Колір колоній і штриха є суттєвою відмінністю дріжджів *S. minor* від *S. cerevisiae*.

Фізіологічні властивості. Дріжджі *S. minor* зброджують і засвоюють глюкозу, галактозу, сахарозу, рафінозу. Не зброджують і не засвоюють лактозу, ксилозу, арабінозу, крохмаль, клітковину.

Характерна відмінність данного виду в тому, що він не зброджує і не засвоює мальтозу, а також прості декстрини; але, не маючи фермента мальтазу він добре розвивається в житніх заквасках за рахунок вільних цукрів житнього борошна. В житньому обойному борошні міститься 5,5%, в житньому обдирному - 6,5% сахарози та інвертного цукру. Крім того, деяку кількість доступних вуглеводів *S. minor*, вочевидь, отримує в результаті дії ферментів борошна та життєдіяльності молочнокислих бактерій.

Температурний оптимум для *S. minor* знаходиться в межах 25-28°C, тобто трохи нижчий за температурний оптимум *S. cerevisiae*. Підвищення температури до 32-35°C пригнічує його зростання. За енергією бродіння ці дріжджі дещо поступаються виду *S. cerevisiae*, проте вони менш вимогливі до джерел вітамінного, азотного харчування та відрізняються кислотостійкістю. Вони добре розвиваються в середовищі з кислотністю 14-16° і рН 3,0—3,5, більш стійкі до дії спирту порівняно з *S. Cerevisiae*.

Роль дріжджів у хлібопеченні.

Дріжджі-сахароміцети виконують роль розпушувачів тіста, виявляючи суттєвий вплив на об'єм готового хліба та пористість м'якуша. Зброджуючи цукри борошна та мальтозу, яка утворюється з крохмалю борошна під дією амілаз, вони виділяють вуглекислий газ і спирт. Хімізм спиртового бродіння на теперішній час вивчений детально. Відомо, що поряд із головними продуктами бродіння з'являються побічні: оцтовий альдегід, спирти (бутиловий, ізобутиловий, ізоаміловий), органічні кислоти (молочна, янтарна, винна, щавлева) та деякі інші речовини, які надають хлібу специфічний смак і аромат. Наприклад, В. Л. Омелянський виділив із заквасок дріжджі, які утворюють ефіри з фруктовим запахом. Крім того, невелика кількість спирту, який залишається після випічки в хлібі (до 0,5%), також значно покращує його смак і аромат.

Класифікація та характеристика молочнокислих бактерій

Молочнокислі бактерії складають широку групу мікроорганізмів, які утворюють у результаті бродіння молочну кислоту.

Природним середовищем для них є ґрунт, рослини, особливо їх ризосфера. Молочнокислі бактерії часто зустрічаються в рослинних, молочних, м'ясних продуктах, у кишечнику тварин і людей. Вони займають одне з перших місць серед мікроорганізмів, що мають практичне значення. Згідно найбільш визнаних класифікацій М. Рогози та М. Шарп, молочнокислі палички відносяться до сімейства *Lactobacillaceae* роду *Lactobacillus*. В межах роду виділені три підгрупи:

1. *Thermobacterium* (*L. delbrückii*, *L. leichmannii*)
2. *Streptobacterium* (*L. plantarum*, *L. casei*)
3. *Betabacterium* (*L. brevis*, *L. fermenti*, *L. buchneri*).

До першої групи відносяться гомоферментативні бактерії, які в процесі бродіння утворюють в основному молочну кислоту та мають температурний оптимум розвитку в межах 40-60°C.

В другу групу входять гомоферментативні види, що розвиваються при більш низьких температурах (25-37°C).

Третя група (*Betabacterium*) складається з гетероферментативних видів, які в процесі бродіння, окрім молочної кислоти, утворюють велику кількість летких кислот (оцтову, мурашину, вуглекислоту).

В загальних рисах рід *Lactobacillus* можна охарактеризувати таким чином. Це - прямі палички різних розмірів: від коротких (2-5 мкм) до довгих (12-15 мкм), 0,5-1 мкм завширшки, із заокругленими кінцями (рис. 6.3). Розташовані поодинокі, попарно чи ланцюжками. Молочнокислі бактерії нерухливі, спори не утворюють, іноді утворюють слизисту капсулу, розмножуються простим поділом, грампозитивні.

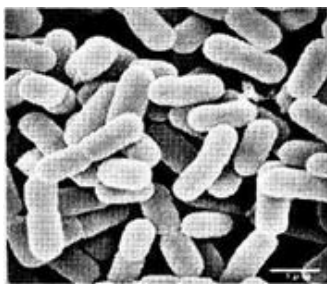


Рисунок 6.3 Молочнокислі бактерії

При зростанні на поверхні твердого поживного середовища молочнокислі бактерії утворюють колонії трьох типів: S, R та O. Найчастіше формуються округлі колонії з гладенькою поверхнею (S- тип), злегка опуклі, сіруватого кольору. Колонії R-типу – зіркової форми, шорсткуваті. Описані також поодинокі випадки утворення слизистих колоній (O-тип). За розмірами колонії бувають дрібні ($d = 2$ мм), середні ($d = 2-4$ мм), крупні ($d > 4$ мм).

Молочнокислі палички є факультативними анаеробами, тому що краще ростуть без доступу кисню. При глибинному посіві на тверде поживне середовище утворюють щільні колонії у вигляді правильних лінз (сочевицеподібні), трикутні та неправильної форми колонії чи ніжні, які нагадують сніжинку.

Молочнокислі бактерії дуже вимогливі до джерел харчування, особливо до наявності вітамінів, амінокислот та інших факторів росту. З вуглеводів вони переважно зброджують гексози та дисахариди, і тільки гетероферментативні види та деякі культури *L. plantarum* зброджують пентози.

Для більшості видів оптимальне значення рН знаходиться в межах 5-6. Однак культури, що застосовуються в хлібопеченні, витримують рН 3-3,5. Висока концентрація цукру (більше 15%), солі (6%), накопичення молочної та

оцтової кислот несприятливо діють на розвиток молочнокислих бактерій. Відмінною особливістю даної групи мікробів є спиртостійкість, тобто вони здатні розвиватися при високих концентраціях етилового спирту (12-24%). З п'ятнадцяти самостійних видів молочнокислих бактерій у заквасках для хлібопекарного виробництва використовують дев'ять. Їх характеристика наведена в табл. 6.1.

Роль молочнокислих бактерій у хлібопеченні

Одним із найважливіших показників хлібобулочних виробів є їх кислотність, яка створюється в результаті життєдіяльності молочнокислих бактерій. Молочнокислі бактерії мають важливе значення в бродінні житніх напівфабрикатів, тому що вони - і це найголовніше - виробляють молочну кислоту, яка суттєво впливає на фізичні властивості житнього тіста. Відомо, що житнє борошно на відміну від пшеничного не має клейковини, яка створює пружний тіа еластичний каркас тіста. Кислотність сприяє набухання та пептизації білків житнього борошна, за рахунок чого збільшується в'язкість тіста, зростає газоутримувальна здатність – це покращує пружність м'якушки хліба. Але житнє борошно містить активний фермент α -амілазу, який призводить до накопичення в тісті декстринів. Останні роблять м'якушку житнього тіста липкою. Завдяки життєдіяльності молочнокислих бактерій активність α -амілази пригнічується шляхом підвищення кислотності закваски.

Крім того, гетероферментативні молочнокислі бактерії беруть участь у розпушуванні тіста за рахунок утворення вуглекислого газу.

І, нарешті, молочнокислі бактерії впливають на смак і аромат житнього хліба. Крім летких кислот на аромат впливають ди- та трикарбонові кислоти. Серед них у житньому хлібі з оббивного борошна міститься біля 60% молочної кислоти, 32% легких кислот і 8% органічних кислот (бурштинової, яблучної, винної, лимонної). За сучасними уявленнями велику роль в утворенні ароматичного комплексу хліба відіграють карбонільні сполуки: ацетальдегід, бензальдегід, ізовалеріановий, коричний альдегіди, ванілін, оксиметилфурфурол, ацетон, діацетил, діоксиацетон, фурфурол тощо. Взагалі на сьогодні в хлібі знайдено більше 75 смакових і ароматичних речовин, серед них 28 кислот, 28 карбонільних сполук, 11 спиртів, 6 ефірів, аміак, метилмеркаптан. В утворенні багатьох із цих речовин беруть участь молочнокислі бактерії.

Найкращий за смаком і ароматом хліб отримують при сумісному використанні гомо- та гетероферментативних штамів у співвідношенні 1:2.

Для густих житніх заквасок специфічні два види молочнокислих бактерій: *L. brevis* та *L. plantarum*, що, вочевидь, пов'язано з температурним режимом ведення густих заквасок, близьким до оптимальної температури розвитку цих видів бактерій.

Рідкі житні закваски мало відрізняються за видовим складом кислототворної мікробіоти. Однак в бродінні рідких заквасок види *L. fermenti* та *L. casei* відіграють суттєву роль поряд з *L. brevis* та *L. Plantarum*.

Таблиця 6.1 Характеристика молочнокислих бактерій, прийнятих для хлібопекарного виробництва

Вид молочнокислих бактерій	Утворення аміаку з аргентину	Утворення газу з глюкози	Ріст у середовищі з 0,4% типула	Ріст при 15 °С	Ріст при 45 °С	Зброджування вуглеводів												Вітаміни, які необхідні для росту					Тип утвореної молочної кислоти
						Сорбіт	Рафіноза	Целюбіоза	Рамноза	Меліцитоза	Галактоза	Мальтоза	Сахароза	Треталозп	Лактоза	Саліцин	Маніт	Рібофлавін	Піридоксаль	Фолієва кислота	Ціанокобаламін	Тіамін	
Thermobacterium (гомоферментативні бактерії, t _{opt} = 40-60 °С)																							
Lactobacillus delbrückii	±	-	-	-	+	-	-	-	-	-	±	±	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	D
Lactobacillus leichmannii	±	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	±	+	-	-	-	+	+	-	D
Streptobacterium (гомоферментативні бактерії, t _{opt} = 25-37 °С)																							
Lactobacillus casei var casei		-	-	+	±	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	L
Lactobacillus casei var rhamnosus		-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	L
Lactobacillus casei var alactosus		-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	L
Lactobacillus plantarum		-	+	+	±	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	DL
Betabacterium (гетероферментативні бактерії, t _{opt} = 25-37 °С)																							
Lactobacillus fermenti	+	+	-	-	+	-	±	-	-	-	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-		+	DL
Lactobacillus buchneri	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	±	+	+	-	±	-	-	±	-	-		+	DL
Lactobacillus brevis	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	±	±	-	±	±	+	-	-	+		+	DL
+ спостерігається ріст; ± спостерігається ріст у більшості штамів; - ріст відсутній; - у більшості штамів ріст відсутній																							

Роль молочнокислих бактерій у бродінні напівфабрикатів із пшеничного борошна в порівнянні з дріжджами нерівнозначна. Вони беруть участь лише в кислотонакопиченні пшеничного тіста, утворенні смакового та ароматичного комплексу хлібобулочних виробів. Крім того, присутність молочнокислих бактерій пригнічує розвиток картопляної палички.

2. У тісті, що бродить, або в заквасках, окрім сахароміцетових дріжджів і молочнокислих бактерій, зустрічаються сторонні мікроорганізми.

Умовно їх поділяють на групи:

- сапрофіти, присутність яких не впливає на процес бродіння;
- мікроорганізми, які порушують нормальний хід бродіння і погіршують якість готового хліба;
- мікроорганізми-шкідники виробництва, які спричиняють мікробіологічне псування хліба;
- збудники харчових захворювань.

До першої групи належать мікрококи, які досить часто виявляються в невеликій кількості в тісті і не мають помітного впливу на якість.

До другої групи мікроорганізмів, присутність яких у тісті небажана, належать так звані «дикі» дріжджі роду *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* і деякі види бактерій (*Bacillus coagulans*, *Leuconostoc mesenteroides*).

Третю групу представляють збудники картопляної хвороби хліба, крейдової хвороби, пліснявіння хліба, почервоніння м'якушки.

Четверта група включає збудників мікотоксикозів. Наприклад, збудники фузаріотоксикозів – *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium graminearum*, які призводять до захворювань «аліментарно-токсична алейкія» та «п'яний хліб» відповідно.

Картопляна хвороба хліба

Найбільш розповсюджена хвороба хліба – це картопляна, або тягнуча, хвороба. Вона вражає м'якушку пшеничного, а в останні роки і житньо-пшеничного хліба, головним чином навесні та влітку. Картопляна хвороба хліба має мікробіологічний характер, що вперше встановлено Лораном у 1885 році. Він виділив зі слизу хліба спороутворювальну паличку. Сьогодні збудники цієї хвороби добре відомі – картопляна паличка (*Bacillus licheniformis*), сінна паличка (*Bacillus subtilis*), меншою мірою *Bacillus mycoides* (грибоподібна бактерія) та *Bacillus megatherium* (капустяна бактерія), їх об'єднують у групу «*subtilis-licheniformis*». Найчастіше зустрічаються та відіграють найбільш вагомую роль як збудники картопляної хвороби картопляна та сінна палички, тому далі наведена їхня характеристика.

Морфологічні ознаки *B. licheniformis* та *B. subtilis*. Палички середнього розміру з заокругленими кінцями, рухливі в молодих культурах, розташовуються поодинокі чи ланцюгами. За розмірами клітин *B. licheniformis* дещо переважає *B. subtilis* (рис. 6.4).

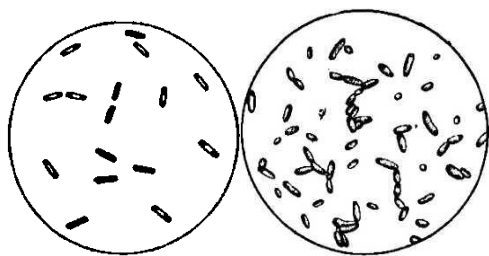


Рисунок 6.4. *Bacillus licheniformis* (ліворуч) і *Bacillus subtilis* (праворуч)

Спори у *B. licheniformis* співпадають із розміром діаметру клітини, а в *B. subtilis* спора дещо більша за нього. Спори картопляної та сінної паличок легко переносять висушування та кип'ятіння. Згубною для них є стерилізація в автоклаві за температури 121°C. При випіканні хліба спори залишаються життєздатними. Незважаючи на те, що температура випікання хліба 220-280°C, температура центру м'якушки сягає не більше 90°C, а спори *B. licheniformis* і *B. subtilis* витримують таку температуру.

Культуральні та біохімічні ознаки B. licheniformis і B. subtilis. На агаризованих середовищах *B. subtilis* ростуть у вигляді великих (4-5 мм) зморшкуватих сухих непрозорих сіро-жовтих гіллястих або у вигляді квітки колоній, які сильно вростають в агар і утворюють краплі слизу на поверхні. Колонії *B. licheniformis* більш різноманітні за виглядом, частіше зустрічаються слизисто-складчасті зі шкіряною плівкою на поверхні або зморшкуваті, більш сухі, сірувато-білі або кремові, іноді рожеві та коричневаті, на відміну від *B. subtilis* ніколи не вростають у середовище, не утворюють крапель слизу.

Всі культури *B. licheniformis* енергійно розріджують желатин, відновлюють нітрати до нітритів, мають високу здатність утворювати каталазу, активно гідролізують крохмаль, що робить м'якушку липкою, тягучою. Оптимальна температура для них складає 37-40 °C, але бактерії активно розмножуються й при значно нижчих температурах (30°C).

B. subtilis повільніше розріджує желатин, слабкіше гідролізує крохмаль. Оптимальна температура росту дещо вища - 37-50°C, за низької температури вона розвивається гірше.

Обидва види мають протеолітичні ферменти, які призводять до амоніфікації білків, що надає ураженому хлібу різкого специфічного запаху.

Вони розвиваються краще при pH 5-10. Підвищення кислотності пригнічує активність *B. licheniformis* і *B. subtilis*.

Розрізняють чотири стадії розвитку картопляної хвороби хліба:

- ледь відчутна ступінь ураження - розвивається легкий сторонній запах, спостерігаються тонкі нитки в хлібі;
- слабка ступінь ураження - запах посилюється, кількість ниток збільшується;

- середня ступінь захворювання - м'якушка стає липкою;
- сильна ступінь ураження - м'якушка темна та липка з неприємним запахом.

Вражений хліб спочатку втрачає свій смак і аромат, далі з'являється незвичний солодкуватий запах, який нагадує запах дині або валеріани. Протягом розвитку хвороби запах посилюється та набуває гнильного відтінку. М'якушка стає липкою, при розломі спостерігаються слизькі нитки, які тягнуться. Іноді ці тонкі срібні нитки можна розтягнути до 50 см, тому друга назва хвороби – «тягнуча». Також змінюється колір м'якушки, утворюються жовто-бурі, рожево-брудні плями. При сильному розвитку хвороби хліб перетворюється в темну слизьку масу з різким відворотним запахом і неприємним смаком. Пори втрачають структуру, в м'якушці утворюються спочатку малі порожнини, а далі цілі провали. Хліб із картопляною хворобою може стати причиною порушення функцій шлунково-кишкового тракту, тому його утилізують.

Причини захворювання:

- сильне забруднення борошна спорами *B. licheniformis* і *B. subtilis* (найбільші труднощі для переробки представляє пшеничне борошно 2 гатунку, яке часто вражається);
- недотримання санітарних режимів на хлібозаводах при переробці ними зараженого борошна;
- порушення технологічних і санітарних режимів вторинної переробки хліба – сушіння браку за низької температури, приготування сухарної крошки з зараженого, бракованого та черствого хліба;
- порушення технологічних параметрів (кислотність, вологість, пропеченість) і режимів охолодження та зберігання готової продукції, внаслідок чого створюються умови для розвитку в хлібі картопляної хвороби.

Засоби боротьби з картопляною хворобою складаються зі створення умов для запобігання розвитку спор бактерій у хлібі та ліквідації джерел зараження шляхом дезінфекції.

Засоби запобігання розвитку бактерій групи *subtilis* - *licheniformis* у хлібі засновані на їх біологічних властивостях, зокрема на чутливості мікроорганізмів до зміни рН середовища.

Для боротьби з картопляною хворобою існують два напрями:

- використання мікробів-антагоністів;
- використання хімічних речовин – консервантів.

Антагоністами картопляної та сінної паличок є пропіоновокислі та молочнокислі бактерії.

Пропіоновокислі бактерії (грампозитивні, нерухомі, неспортовні) є сильними антагоністами гнильних бактерій, але борошняне середовище є неприродним для них, тому вони розвиваються набагато повільніше, ніж молочнокислі бактерії.

Незважаючи на те, що найбільш ефективним консервантом є пропіонова кислота та її солі, застосування вказаних речовин є недоцільним, тому що вони гальмують процес бродіння та надають хлібу стороннього запаху. При незначному забрудненні можна застосовувати молочну кислоту в кількості 0,3% до маси борошна, її можна вносити в опару не тільки у вигляді готового препарату, але й шляхом додавання 10% рідких дріжджів чи 5% стиглого тіста до маси борошна. Замість харчової молочної кислоти можна застосовувати молочну сироватку (20-30%) з кислотністю 100-130°Т.

З хімічних препаратів найбільш ефективними є солі пропіонової (пропіонати) та оцтової (ацетати) кислот. У нашій країні дозволені до використання оцтова кислота та ацетат кальцію у кількості 0,1 та 0,2% відповідно. За кордоном застосовують аскорбінову кислоту та препарати «Ропал», «Телтозан» на основі оцтовокислого кальцію.

Таким чином, більш перспективним засобом попередження картопляної хвороби є застосування молочнокислих бактерій, які є специфічними для хлібопекарного виробництва та покращують органолептику хлібобулочних виробів.

Окрім молочної кислоти, молочнокислі бактерії виробляють антибіотики, чим також пояснюється пригнічення заквасками збудників картопляної хвороби хліба. Більш ефективним є застосування заквасок мезофільних молочнокислих бактерій, тому що термофільні штами мають незначну антимікробну дію, крім того, за температури 30-32°C їх біохімічна діяльність в опарі різко знижується. Мезофільні молочнокислі бактерії активні на всіх стадіях тістоведення та повністю пригнічують життєдіяльність збудників картопляної хвороби хліба.

Хліб із борошна, ураженого картопляною паличкою, необхідно швидко охолоджувати з вентиляцією до температури 2-5°C. Для цього його необхідно укладати нещільно, щоб забезпечити доступ повітря.

Після переробки ураженого борошна необхідно ретельно продезинфікувати обладнання та інвентар. Для дезинфекції обладнання та приміщень хлібзаводів застосовують оцтову кислоту в концентрації 1-2%, соляну кислоту - 1%, гідроксид натрію - 2%, хлорне вапно - 1%. Якщо хліб захворів, то при ледь відчутному та легкому ступеню ураження його згодують худобі, при сильному ступеню - спалюють або закопують на глибини не менше 1 м.

Для виявлення спорових бактерій групи *subtilis-licheniformis* запропоновано кілька способів:

- бактеріологічні - це облік через посіви на спеціальні поживні середовища;
- технологічні (метод пробних випічок) - це перевірка наявності органолептичних ознак картопляної хвороби в готових виробах після провокації росту;

– біохімічні - це визначення ступеню зміни борошна або хліба під дією ферментів бактерій групи *subtilis-licheniformis*.

Відомо, що розвиток цих мікроорганізмів призводить до збільшення водорозчинних речовин. Принцип біохімічного методу полягає у визначенні різниці в кількості водорозчинних речовин у пробному хлібці, інкубованому в термостаті за температури 37°C протягом 14 годин, і в контрольному хлібі.

Пумпянський А. Я. розробив люмінесцентний аналіз ураження хліба картопляною хворобою. Метод заснований на здатності колоній картопляної палички набувати яскраво-жовте забарвлення під дією УФ-променів. Опромінення зразків хліба кварцевою лампою з УФ- світофільтром дає можливість виявити картопляну хворобу на початку, коли вона органолептично ще не відчувається. У світлі лампи чітко видні окремі жовті плями - колонії картопляної палички – або відзначається слабе пожовтіння всієї поверхні м'якушки (прилад ЛЮМ-1 із лампою ПРК-4 зі світлофільтром УФС-3 чи освітлення Л-1).

Почервоніння м'якушки хліба

Збудник даного пороку хліба – «чудесна паличка» *Serratia marcescens*.

Чудесна паличка належить до роду *Chromobacterium*, який об'єднує рухливі перитрихіальні форми. Клітини її дрібні (0,6-1х0,5мкм), паличкоподібні, поодинокі або в коротких ланцюжках із 3-6 клітин, грамнегативні. Спор не утворюють. Колонії на МПА невеликі, гладенькі або зернисті, забарвлені в темно- чи яскраво-червоний колір із металевим блиском. Чудесна паличка є факультативним анаеробом, добре росте на органічних субстратах, оптимальна температура росту - 25-30°C. При підвищенні температури до 37°C її розвиток пригнічується, а за температури 40°C вона гине.

Чудесна паличка отримала свою назву завдяки здібності виділяти червоний пігмент – продігіозин. На білому хлібі цей пігмент утворює криваво-червоні плями, схожі на кров. Тривалий час ці червоні плями, які з'являлися на хлібі при зберіганні у вологих приміщеннях, у церквах приймали за кров Христа. Вони сіяли забобонний страх у людей, а інквізиція спалювала на кострищах нещасних, у домі яких траплялось таке явище. Почервоніння хліба увійшло в історію під назвою «червоного хліба», «кривавого гостя».

Мікробіологічна природа почервоніння хліба була відкрита Еренбургом у 1848 році під час спалаху цієї хвороби в Берліні. Чудесна паличка потрапляє у хліб із зовнішнього середовища та добре розвивається в ньому за температури 25-30°C. Крім забарвлення м'якушки хлібу, вона спричиняє оцукрення крохмалю та розрідження клейковини. Хоча сама «чудесна паличка» нешкідлива, хліб із почервонілою м'якушкою втрачає товарний вигляд і тому непридатний до вжитку.

Для знешкодження чудесної палички достатньо ретельно вимити приміщення гарячою водою, а обладнання після очищення прошпарити

окропом. Неспоротворна чудесна паличка за такої обробки гине.

До роду хромобактерій відносять також види, які утворюють синій і фіолетовий пігмент. У літературі описані випадки появи фіолетових і синіх плям бактеріальної природи в хлібі.

Крейдова хвороба хліба

У даному виді псування хліба беруть участь два види неміцеліальних грибів: *Endomycopsisfibuliger*, *Endomyces chodacii*.

При їх розвитку на поверхні скоринки та в м'якушці утворюються білі сухі порошкоподібні плями, схожі на крейду, тому цей порок отримав назву «крейдова хвороба». Вперше ця хвороба була виявлена в 1908 р. Лінднером. Види *Endomycopsis* досить швидко розвиваються на більшості поживних середовищ, у тому числі в пиві та хлібі. Їх спори стійкі до високих температур і не гинуть при випіканні. Крейдова хвороба хліба зустрічається досить рідко. Вважають, що вона безпечна для здоров'я людини, але уражений хліб, безумовно, втрачає свою товарну цінність.

Як і крейдова хвороба, досить рідко зустрічаються на хлібі плями червоного слизу, спричинені грибами роду *Rhodotorula*, або жовтогарячі, жовті та сині колонії *Ascosporium roseum* і *Oidium aurantiacum*.

Пліснявіння хліба

Виникає при зберіганні його в теплому приміщенні (25-35°C) з підвищеною відносною вологістю повітря (70-80%), тобто за умов, сприятливих для розвитку міцеліальних грибів.

Плісневі гриби спочатку розвиваються на поверхні хліба, а потім через тріщини розповсюджуються вглиб м'якушки. Спочатку на хлібі з'являється сіро-зелена пліснява *Aspergillus glaucum*, чорна пліснява *Rhizopus nigricans* та синьо-зелена – *Penicillium glaucum*, потім на ньому з'являється коричнево-жовта цвіль *P. olivaceum* та чорно-коричнева – *A. niger*. Пізніше за всіх на хлібі з'являється сірий наліт *Mucor mucedo*.

Плісневі гриби утворюють на поверхні хліба пухнасті нальоти різних кольорів: сірого, зеленого, білого, блакитного, жовтого та чорного. Під мікроскопом цей пушок має вигляд довгих переплетених ниток-гіф. Розмножуються плісневі гриби вегетативно або спорами. Спори плісневих грибів є стійкими до факторів зовнішнього середовища. Вони можуть тривалий час (до 15 років) зберігати життєздатність і за короткий час інтенсивно розмножуватися, утворюючи за добу до 15 млн спор.

Усі плісневі гриби негативно впливають на якість сировини та готового хліба. Розщеплюючи за допомогою своїх ферментів білки, вуглеводи, жири, вони спричиняють глибокі зміни в хлібі. Продукти метаболізму плісневих грибів надають хлібу неприємного затхлого запаху. Запліснявілий хліб є непридатним до вживання. Крім того, він може містити токсичні речовини. Біля 300 видів плісневих грибів, у тому числі 17 видів *Aspergillus* і 4 види *Penicillium* утворюють мікотоксини. Серед них найбільш відомими є 4 типи афлатоксинів, патулін, охратоксини, рубратоксини.

Для запобігання пліснявінню хліба та кексів застосовують їх стерилізацію та консервування.

3. Суворі вимоги до санітарної культури виробництва, транспортування та зберігання хліба викликані тим, що хліб вживають без додаткової термічної обробки, а на його поверхню в результаті вторинного забруднення можуть потрапляти збудники шлунково- кишкових захворювань/

Основною сировиною хлібопекарного виробництва є борошно пшеничне та житнє. Через його недостатній санітарно-технологічний контроль в хлібі можуть міститися збудники мікробного псування хліба та їх токсини.

Мікробіота щойно змеленого борошна представлена в основному мікроорганізмами зерна, яке переробляється. Мікроорганізми накопичуються в зерні при збиранні врожаю, потрапляючи на зернівку з пилом, частинками ґрунту, з організму комах, гризунів та інших джерел. Злаки та зерно можуть бути вражені фітопатогенними мікроміцетами – збудниками фузаріозів, сажки, ріжків, тому під час приймання зерна та деяких круп визначають відсоток спор збудників сажки та ріжків. Сумарний відсоток спор цих фітопатогенних мікроміцетів, які виділяють специфічні мікотоксини, не повинен перевищувати 0,05% від маси зерна. При вживанні зерна з перевищенням указаної кількості спор мікроміцетів у людей, а особливо в дітей спостерігаються специфічні симптоми отруєння. Також на зерні можуть бути гриби родів *Penicillium* і *Aspergillus*, серед яких трапляються токсигенні представники. Серед ґрунтових бактерій, які найчастіше бувають у борошні, слід назвати *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, бактерії групи кишкових паличок, *Proteus vulgaris*, молочнокислі та маслянокислі бактерії, плісеневі гриби. Число бактерій в 1 г зерна сягає $2 \cdot 10^7$ клітин.

Основна маса мікроорганізмів (90%) вилучається з оболонками при первинній обробці зерна, тобто в процесі лущення та зрушування зерна. Одночасно вилучається основна маса мікотоксинів, які є жиророзчинними речовинами й локалізуються на оболонках і в алейроновому шарі зернівки. Якісний склад мікробіоти борошна мало чим відрізняється від мікробіоти зерна. В борошні головним чином зберігаються мікроорганізми, які потрапляють туди із зерна при помелі, а саме мікроорганізми, які знаходяться на його поверхні. У борошні вищих гатунків мікроорганізмів значно менше, ніж у борошні нижчих гатунків. Число мікроорганізмів, які переходять у борошно, залежить в першу чергу від способу очищення зерна під помелом.

Відомі два основних типи очищення: сухий і мокрий.

При сухому очищенні видалення пилу, мікроорганізмів та інших легких домішок досягається пропусканням зерна низку спеціальних машин. Потім зерно обробляють на обивних машинах, у яких крім очищення, видаляються оболонки та частково зародок, обдирається частина оболонки, які потім видаляються на щіткових машинах. Усі ці процеси супроводжуються інтенсивною аспірацією зерна потоками повітря, які відносять легкі домішки,

в тому числі пил і мікроорганізми. При використанні пневматичного транспорту здійснюється більш повне вилучення мікробів із поверхні зерна.

При мокрому способі проводиться миття зерна в спеціальних мийних машинах. Мокрий спосіб є більш досконалим у порівнянні з сухим. Особливо необхідний цей спосіб при очищенні партій, які містять сажкове зерно, а також зерна з підвищеним вмістом спор *B. licheniformis* і *B. subtilis*.

Вода, яка використовується для миття зерна, повинна за бактеріологічними показниками відповідати вимогам до питної води.

У результаті сухого очищення зараження зерна бактеріями знижується на 25-40%, спорами плісень – на 20-30%, при мокрому очищенні – відповідно на 45-60% та 30-40%.

Після очищення зерно для полегшення помелу піддається кондиціонуванню – зволоженню з подальшим відлежуванням.

Холодне кондиціонування (за температури 20°C) з коротким (до 6- 7 годин) відлежуванням зволоженого зерна практично не змінює склад мікробіоти. При збільшенні часу відволожування (більше 10-20 годин) число мікроорганізмів на зерні зростає.

При гарячому кондиціуванні зміна мікробіоти залежить від температури нагріву зерна. Так, при 30°C відбувається збільшення чисельності мікробіоти, при 45°C кількість мікроорганізмів дещо знижується. При 60°C відмирають вегетативні бактеріальні клітини, але добре зберігаються спори мікроорганізмів. Таким чином, зерно, яке поступає на помел після будь-якого способу очищення, завжди містить певну кількість мікроорганізмів. У процесі помелу частина мікроорганізмів переходить із поверхні зерна безпосередньо в крупу та борошно.

Установлено, що кількість мікроорганізмів, які переходять у борошно, знаходиться в прямому взаємозв'язку з відсотком виходу борошна. Чим більший відсоток виходу, тим більше в борошні міститься частинок оболонок зерна, а отже – і мікроорганізмів. Найбільша кількість мікроорганізмів знаходиться у висівках.

В залежності від гатунку борошно містить таку кількість мікроорганізмів: вищий газунок - 9-14%; І гатунок - 11-32%; II гатунок - 21-56%; висівки - до 55% (% від загальної кількості мікроорганізмів на зерні, яке поступає на помел).

Вплив мікроорганізмів на якість борошна при зберіганні

Борошно є менш стійким продуктом у порівнянні з зерном, тому що поживні речовини в ньому більш доступні для мікроорганізмів. При підвищенні вологості та температури навколишнього середовища мікроорганізми починають бурхливо розвиватися та можуть призводити до різних видів псування борошна.

У борошні, яке має стандартну вологість (не більше 15%) та правильно зберігається (за необхідних відносній вологості повітря та температури), мікроорганізми не розвиваються і навіть із часом поступово відмирають. У

першу чергу знижується число бактерій *Erwinia herbicola*. При значному підвищенні вологості борошна (на 1- 2%) число бактерій і грибів швидко зростає.

В залежності від того, яка група мікроорганізмів у борошні найбільш активно розвивається в даних умовах, може виникнути той чи інший вид псування: пліснявіння, самозігрівання, прокисання, згіркнення.

Пліснявіння борошна – це найбільш розповсюджений вид його псування. Плісневі гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium* розвиваються в борошні за значно нижчої вологості в порівнянні з бактеріями. Борошно починає пліснявіти при відносній вологості повітря вище 79%. При цьому воно набуває неприємного затхлого запаху, який передається хлібу. Запліснявіле борошно має підвищену кислотність у результаті розкладання жиру та виділення кислот у процесі життєдіяльності плісневих грибів. Погіршується якість клейковини – вона стає темною, втрачає еластичність, погано відмивається. Пліснявіння може призвести до самозігрівання.

Самозігрівання зазвичай починається за температури 20-25°C, яка є оптимальною для розвитку більшості видів плісневих грибів. У ході процесу самозігрівання спостерігають кілька стадій.

На *першій стадії* самозігрівання температура підвищується до 24-30°C та помітно збільшується загальне число мікроорганізмів. Якість борошна на цьому етапі знижується несуттєво, сторонні запахи відсутні, сипучість змінюється мало. Помітних змін у кольорі не спостерігається.

Слід зазначити, що *Erwinia herbicola* активно розмножується тільки на початку першої стадії, а наприкінці її вона поступово гине.

На *другій стадії* температура борошна сягає 40°C. При цьому зменшується число епіфітів і посилено розвиваються плісневі гриби (головним чином родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*), актиноміцети, бактерії (в основному спороутворювальні картопляна та сінна палички). На цьому етапі відбувається зниження сипучості борошна, відчуваються солодовий запах і запах печеного хліба. Вологе борошно незначно темнішає.

Третя стадія самозігрівання характерна підвищенням температури борошна до 40-50°C. При цьому спостерігається зниження загального числа мікроорганізмів, в основному, за рахунок повного зникнення епіфітної мікробіоти та значного скорочення числа плісневих грибів. Борошно набуває затхлого, навіть гнильного запаху, сипучість значно знижується.

На *четвертій*, кінцевій стадії температура може сягати 70-75°C. За такої температури в борошні гинуть майже всі живі компоненти, в тому числі й мікроорганізми. Борошно поступово починає охолоджуватися, але воно втрачає всі цінні поживні якості, до того ж воно злежується у грудки або брили.

Прокисання борошна зазвичай починається у внутрішніх шарах на відміну від пліснявіння, яке розвивається на поверхні продукту. Причиною прокисання є розвиток кислотоутворювальних бактерій – молочнокислих та інших, які зброджують цукри борошна з утворенням різних кислот. Цукор

утворюється з крохмалю під дією амілаз борошна. При цьому в борошні з'являється специфічний кислий запах і смак, зростає титрована кислотність.

Згіркнення борошна – досить поширене псування, причиною якого є окиснення жирів борошна киснем повітря за участю власної ліпоксигенази з утворенням вільних жирних кислот та інших продуктів розщеплення жирів. Ці продукти надають борошну неприємний запах і гіркий смак.

Деякі дослідники вважають, що крім окиснення жирів киснем повітря згіркнення борошна пов'язане з ферментативним гідролізом жиру, який спричиняється ліпазами плісневих грибів і бактерій.

Для попередження розвитку того чи іншого дефекту борошна необхідно суворо дотримуватися правил зберігання, не допускати, в першу чергу, підвищення вологості повітря та коливання температури навколишнього середовища. Борошно гігроскопічне, тому його слід зберігати в сухому, добре провітрюваному приміщенні. Вологість продукту не повинна перевищувати 14-15%.

4. В промисловому масштабі випускається різноманітний асортимент кондитерських виробів, які поділяють на цукристі та борошняні.

До цукристих виробів належать: карамель, цукерки, шоколад, мармелад, пастила, зефір, халва, ірис, драже, східні солодоші, желеїні вироби. До борошняних – печиво, пряники, торти, тістечка, кекси, рулети, вафлі.

Основна сировина кондитерського виробництва – цукор, патока, інвертний сироп, фруктово-ягідне пюре, молоко, вершкове масло, какао терте, терті ядра горіхів, пшеничне борошно, какао-масло, пектин та ін. Додаткова сировина (барвники, есенції, сухі парфуми, кислоти та прянощі) використовується в малих кількостях, але додає кондитерським масам пікантність і естетичність.

При виготовленні більшості видів кондитерських виробів мікроорганізми спеціально не використовуються, проте в кондитерському виробництві вони відіграють далеко не останню роль, але лише як збудники псування сировини, напівфабрикатів і готової продукції.

Технологічний процес одержання кондитерських виробів перебігає швидко (2-3 години) й у більшості випадків за високої температури, тому багато мікроорганізмів гинуть або не встигають розмножитися так, щоб впливати на якість готової продукції. Високий вміст цукру, який є осмотично-активною речовиною, має консервуючий ефект: захищає кондитерські вироби від впливу збудників псування, спричиняє процеси плазмолізу і, як наслідок, - загибель вегетативної мікробіоти. Проте при переробці дуже контамінованої сировини значна кількість мікроорганізмів, навіть за високої температури, залишається життєздатною. При недотриманні або порушенні санітарного режиму та санітарних правил поверхня готової продукції може забруднитися в процесі пакування й зберігання, в тому числі й патогенними мікроорганізмами - так зване вторинне забруднення. Для запобігання цього на підприємствах галузі

проводиться систематичний мікробіологічний і санітарний контроль кондитерського виробництва, досліджуються готова продукція, сировина, устаткування, повітря цеху і т. ін.

Мікробіологічний контроль напівфабрикатів кондитерського виробництва

Фруктово-ягідні напівфабрикати – це пюре, повидло, варення, виготовлені з фруктів і ягід, на поверхні яких завжди є різноманітні мікроорганізми – міцеліальні гриби, дріжджі, гнильні, маслянокислі, оцтовокислі, молочнокислі бактерії та БГКП. У виробництві фруктово-ягідних напівфабрикатів застосовуються теплова обробка та консерванти, однак частина мікроорганізмів зберігається, а їх розвиток призводить до псування продуктів – прокисання, бродіння, пліснявіння та ін.

Мікробіологічний контроль фруктово-ягідних напівфабрикатів зводиться до визначення кількості МАФАНМ і плісневих грибів і дріжджів. Колі-титр не визначається, оскільки висока кислотність напівфабрикатів пригнічує розвиток кишкових паличок.

Крем, який використовують для виготовлення тортів і тістечок, є продукцією, яка швидко псується та може стати причиною харчових захворювань. Його хімічний склад сприятливий для розвитку мікроорганізмів, і тому крем нестійкий при зберіганні. Мікробіоту крему визначає мікробіота вихідної сировини (молока, вершків, яєць, вершкового масла, цукру), розвиток якої погіршує смак і товарний вигляд виробів. При недотриманні санітарних вимог окрім різних сапрофітних аеробних спороутворювальних і аспорогенних бактерій, дріжджів, спор плісневих грибів у креми можуть потрапити патогенні мікроорганізми. Особливо небезпечний заварний крем, який відрізняється від інших кремів низькою концентрацією цукру, підвищеною вологістю та вмістом борошна, з яким вноситься велика кількість мікроорганізмів.

Крім того, що заварний крем швидко псується в результаті розвитку кислототворних бактерій, у ньому можуть також активно розвиватися токсигенний золотистий стафілокок (*S. aureus*) та деякі умовно-патогенні мікроорганізми - ентерококи, ентеропатогенні кишкові палички. Причинами інфікування крему можуть бути також одяг і руки працівників підприємства, недотримання санітарних норм.

Золотистий стафілокок - грам позитивний факультативний анаероб. Діапазон росту та токсиноутворення - від 6 до 45°C, тобто вже при кімнатній температурі буде відбуватися як ріст, так і накопичення токсинів. Температурний оптимум 30-37°C. На твердих поживних середовищах через 18-24 години культивування в аеробних умовах бактерії формують мутні, круглі колонії кремового, жовтого або жовто-гарячого кольорів. Ліпохромні пігменти захищають бактерії від дії токсичних кисневих радикалів і УФ-променів. Стафілококи каталазопозитивні; вони містять цитохроми, але зазвичай оксидазонегативні; стійкі до висушування, заморожування, дії хімічних

речовин, прогрівання за температури 70°C витримують протягом 1 години, а за 80°C гинуть через 20-40 хвилин. Є дані, що деякі штами витримують нагрівання до 100°C протягом 30 хвилин. Стафілококи не ростуть при рН нижче 4,2-4,5, вони стійкі до підвищеного вмісту хлориду натрію і добре ростуть на середовищах зі вмістом 5-10% NaCl. Золотистий стафілокок, розмножуючись у вершковому та заварному кремах, виділяє екзотоксин - ентеротоксин, тобто кишкову отруту. Описано 6 типів ентеротоксину - А, В, С₁, С₂, Д, Е, які є термостабільними низькомолекулярними білками. Найбільш часто реєструють інтоксикації, які викликають ентеротоксини А і Д. Отруєння кремовими виробами настає за умови вмісту стафілокока 10⁶-10⁹ клітин в 1 г крему. При цьому зовнішніх ознак псування та зміни органолептичних властивостей не відзначається.

Сальмонели, які можуть потрапити в крем з ячної продукції, також добре розвиваються в ньому й утворюють термостійкий ендотоксин, який стає причиною сальмонельозу - харчової токсикоінфекції.

У відповідності до вимог по зберіганню та реалізації продукції, яка швидко псується, в торгівлі та громадському харчуванні торти та тістечка з різними кремами дозволяється зберігати за температури не вище 6°C, з білково-збивним кремом - 72 години, з заварним кремом та зі збитих вершків -36 годин.

5. Пастила, мармелад, вершкова помадка малостійкі при зберіганні, тому що мають підвищений вміст вологи - 22-24%. Вологість сприяє розвитку в цих виробках осмофільних дріжджів і плісневих грибів (*Aspergillus versicolor*, *A. repens*, *Penicillium solitum*). Для боротьби з цими видами псування застосовують сорбінову кислоту, яку вносять при виготовленні. Для запобігання пліснявінню мармеладу пергамент для його загортання змочують спиртовим розчином сорбінової кислоти (4 г/дм³).

Особливість технологічного процесу виготовлення карамелі запобігає розмноженню мікроорганізмів, і вона може зберігатися без псування протягом кількох місяців. Механізація потокових ліній із виробництва карамелі практично виключає контакт виробів із навколишнім середовищем і руками персоналу, що запобігає контамінації готової продукції мікроорганізмами.

При зберіганні цукерок можливе здуття їх корпусів у результаті тиску газів, які утворюються осмофільними дріжджами при бродінні чи газогенними видами бактерій. При загортанні продукції вручну можливе вторинне забруднення, в тому числі й патогенними мікроорганізмами - збудниками харчових отруєнь та інфекційних захворювань.

Для збереження цукерок від псування застосовують консервування за допомогою сорбіту (шестиятомний спирт, що має солодкий запах). У мармелад його вносять у кількості 5-10%, в пастилу - 10%, зефір - 10-15% від маси виробів. Особливо ефективне застосування сорбіту для цукерок, що випускаються для діабетиків. Сорбіт частково замінює діабетикам цукор і зберігає цукерки від псування. Нестійкі цукерки рекомендується загортати в

пергаментний папір, оброблений розчином бензойної кислоти (10%).

Глазуровані цукерки можуть бути нестійкі при зберіганні. Ознаки псування цукерок з'являються на третій - четвертий день зберігання – корпус цукерок здувається, а іноді розтріскується під тиском газів, які утворюють осмофільні дріжджі та газоутворювальні види бактерій. Бактеріальному псуванню піддаються глазуровані цукерки з помадкою збивною, лікерною та іншими начинками, вологість яких сягає 10-20%.

При виготовленні тортів, тістечок весь інвентар кожної зміни підлягає стерилізації та дезинфекції. Найбільш важливо слідкувати за чистотою шприців та відсадних мішечків, які використовують для оформлення кремових виробів. Надзвичайно важливим є перероблення тістечок і тортів, не реалізованих у торговій мережі. Питання про можливість і способів їх перероблення вирішуються тільки після отримання висновку санітарного лікаря.

В експедиції, де зберігають готові кремові вироби, має бути ідеальна чистота. Температура повітря допускається не вище 4-6°C, готову продукцію зберігають тільки в закритих лотках і коробках на стелажах та полицях. Лотки перед викладенням виробів промивають гарячою водою та содою, сушать і покривають пергаментним папером. Термін реалізації продуктів з заварним кремом – не більше 6 годин, із вершковим – 36 годин, з сирним кремом – 24 години, з білково-збивним кремом, у т. ч. суфле, жележно-збивним кремом, фруктово-збивним кремом – 72 години.

Мікробіологічний контроль цукристих, шоколадних і борошняних кондитерських виробів проводять загальноприйнятими методами, які описані в розділі 4 за наступними показниками: кількість МАФАНМ, дріжджів і плісневих грибів в 1 г, а також наявність БГКП і патогенних мікроорганізмів, у тому числі сальмонел. В залежності від виду виробу кількість МАФАНМ повинна бути в межах від $5 \cdot 10^2$ до $5 \cdot 10^4$ КУО/г, дріжджів має бути не більше 50-100 КУО/г, плісневих грибів - 50-100, БГКП не мають визначатися в 1,0-0,01 г, а сальмонели - в 25 г. В борошняних кондитерських виробках крім зазначених показників контролюють наявність *Staphylococcus aureus*, який не повинен визначатися в 1-0,01 г в залежності від виду виробу.

ЛЕКЦІЯ 7

Тема 7. Мікробіологія м'яса та м'ясних виробів.

1. Види мікробіологічного псування м'яса.
2. Визначення свіжості м'яса.
3. Мікробіота ковбасних виробів, види псування.
4. Санітарно-бактеріологічний контроль ковбасного виробництва.
5. Мікробіологічний аналіз м'ясних консервів.
6. Мікробіота м'яса при холодному зберіганні.

1. Під час післязабійного зберігання м'яса зміни в тканинах можна охарактеризувати як саморозпад або їх самоперетравлювання під дією власних ферментів. Розпад тканин у нормі під дією тканинних ферментів називається автолізом. Автолітичні зміни в м'ясі умовно поділяють на посмертне залякнення, дозрівання і глибокий автоліз. При псуванні м'яса в процесі зберігання в тканинах відбуваються зміни як під дією власних ферментів, так і ферментів мікроорганізмів, які спричиняють негативні органолептичні зміни, знижують його харчову цінність.

Відомі такі види мікробного псування м'яса: гниття, кисле бродіння, ослизнення, загар, пліснявіння (табл. 7.1).

Таблиця 7.1. Класифікація мікробіоти організму тварин, м'яса та готової продукції залежно від їх ролі в формуванні якості продуктів

Збудники псування	Патогенні мікроорганізми			Санітарно-показові мікроорганізми
	Збудники шлунково-кишкових інфекцій	Збудники зооантропонозів	Збудники харчових отруєнь	
- оцтовокислі (р. <i>Acetobacter</i>) - молочнокислі (р. <i>Lactobacillus</i>) - маслянокислі (<i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i>) - мікроміцети (плісєневі гриби та дріжджі) - гнильні *	- холера (<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio el Tor</i>) - тиф (<i>Salmonella typhi</i>) - паратиф (<i>Salmonella paratyphi</i>) - дизентерія (<i>Schigella Zonne</i>)	- туберкульозу - бруцельозу - сибірки - рожи свиней - туляремії - орнітозу - сапу - лептоспірозу - лістеріозу - ящуру	- інтоксикацій або токсикозів (<i>S. aureus</i> , <i>C. botulinum</i>) - мікогосиксо - зів - токсикоінфек-цій (<i>Salmonella</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. Cereus</i>)	- МЛФЛнМ** - <i>Enterococcus</i> - <i>E. coli</i> - <i>Staphylococcus</i> - <i>P. vulgaris</i> - <i>C. botulinum</i> , - <i>C. perfringens</i> - <i>Salmonella</i>

Гнильний розклад м'яса (гниття) починається, як правило, з поверхні під дією аеробних мікроорганізмів, які потрапляють у м'ясо із навколишнього середовища та інших джерел контамінації. Це, головним чином, - спороутворювальні палички *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. megaterium*. 3

поглибленням мікробіологічного псування м'яса мікроорганізми проходять у його товщу через прошарки сполучної тканини біля суглобів, кісток і великих кров'яних судин.

Унаслідок глибоких змін гемоглобіну та міоглобіну змінюється колір м'яса. У початковій стадії гниття він коричневий, потім свинцево-сірий, а на глибокій стадії має зеленкуватий відтінок залежно від утворення міоглобіну, сульфміоглобіну, холеміоглобіну. Під дією ферментів мають місце гідроліз, амоніфікація та мінералізація білків. Із білків утворюються альбумози, поліпептиди, амінокислоти, вони входять до складу слизу, а при варінні зіпсованого м'яса переходять у бульйон, який стає в'язким, каламутним, з гнильним запахом. У тканинах м'яса накопичуються токсичні продукти розкладу білків: H_2S , NH_3 , індол, фенол, крезол, скатол, кадаверин, путресцин. При гнильному розкладанні м'яса також утворюються жирні кислоти - продукти дезамінування амінокислот і розкладання ліпідів. Здебільшого вони леткі (оцтова, масляна, мурашина, пропіонова). Спочатку утворюються оцтова й масляна, на глибших стадіях псування м'яса - мурашина та пропіонова.

Серед гнильних мікроорганізмів розрізняють 4 групи:

1. Палички, грамнегативні, які не утворюють спори, рухливі, аероби (*Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Achromobacter*, *Aeromonas*);

2. Палички, грамнегативні, які не утворюють спори, рухливі, факультативні анаероби (*P. vulgaris*, *E. Coli*);

3. Палички, грампозитивні споротворні. рухливі, аероби (*B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. cereus*, *B. megatherium*);

4. Палички, грампозитивні споротворні, рухливі, облигатні анаероби (*C. putrificum*).

В залежності від характеру мікробіоти - аеробного або анаеробного — розрізняють відповідні види гниття, які називають поверхневим і глибинним. Але відомо, що гниття майже завжди носить аеробно- анаеробний характер.

У процесі гниття розрізняють фази:

- бактеріцидна фаза продовжується протягом першої доби, коли має місце невелика кількість мікроорганізмів і ефективно проходять біохімічні процеси дозрівання м'яса;

- на протязі другої доби спостерігається фаза інтенсивного розмноження кокової мікробіоти, молочнокислих бактерій, коли кількість гнильних паличок мала;

- третя та четверта доби характеризуються фазою експоненціального росту грамнегативних неспороутворюючих паличок;

- фаза розвитку грам позитивних спороутворюючих мікроорганізмів. У цей період в анаеробних умовах у глибині тканин активізуються клостридії.

Загар м'яса. При загарі м'яса в глибоких шарах тканин з'являється неприємний запах. Колір м'яса змінюється до зеленуватого, реакція при цьому

кисла, тому цей вид псування має ще назву **кисле гниття**. Воно виникає при поганому знекровлюванні туш, коли затримуються охолодження й циркуляція повітря камер. Вважають, що причиною є специфічні автолітичні зміни при слабкому відведенні тваринного тепла від м'яса, які активізують аеробні гнильні бацили. Якщо при неглибокому загарі м'ясо розрізати на шматки й проварити, то ознаки загару зникають повністю. При глибинному загарі м'ясо не можна використовувати в їжу.

Кисле бродіння. Збудниками його є дріжджі, молочнокислі, оцтовокислі бактерії та інші, які розщеплюють вуглеводи з утворенням молочної, оцтової кислот. Для псування характерна зміна органолептичних властивостей - смаку, запаху, кольору, консистенції. Зниження рН стимулює розвиток спочатку мікроміцетів, яких потім замінюють гнильні бактерії та збудники харчових отруєнь.

Пігментація. Збудниками псування є аероби, які синтезують пігменти. Колонії *Serratia marcescens* мають червоний колір, *Sarcina flava* – жовтий, *Pseudomonas aeruginosa* – блакитно-зелений, *P. fluorescens* – зелений, флуоресцентний, *S. aureus* – золотистий. Якщо м'ясо не набуло глибоких органолептичних змін, то колонії знищують, поверхню м'яса дезинфікують, м'ясо йде на термічну обробку.

Ослизнення – початковий процес майже кожного виду мікробного псування м'яса. На поверхні м'яса утворюється слиз із мезофільних і психрофільних мікроорганізмів, загальна кількість яких досягає більше ста мільйонів клітин у 1 г. Збудниками є коки та палички: *Micrococcus albus*, *M. aureus*, *M. liquefaciens*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. alcaligenes*, *P. putrescens*, *Achromobacter*, *P. vulgaris*, гнильні бацили, мікроміцети. Цей вид псування є характерним при зберіганні охолодженого м'яса.

Пліснявіння виникає при зберіганні туш у вологих камерах, коли температурний режим не відповідає вимогам технологічних інструкцій або при забрудненні приміщення спорами мікроміцетів. Залежно від складу плісняви розрізняють поверхневе та глибинне пліснявіння. Збудниками поверхневого пліснявіння є аероби родів *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, міцелій яких розповсюджується на поверхні тканин м'яса. Мікроаерофільні гриби *Thamnidium*, *Cladosporium* спричиняють глибинне пліснявіння. М'ясо набуває неприємного специфічного запаху, окремі представники продукують термостабільні мікотоксини, які не знищуються термічною обробкою. При інтенсивному поверхневому та глибинному пліснявінні м'ясо направляють на технічну утилізацію.

2. М'ясо контролюють у всіх випадках, коли припускають, що воно містить збудників зооантропонозів чи харчових токсикоінфекцій і токсикозів.

Відповідно до «Правил ветеринарно-санітарної експертизи м'яса і м'ясопродуктів» передбачені обов'язкові мікробіологічні дослідження при підозрі на сибірку, бешиху свиней, лістеріоз, ускладнену форму ящура,

некробацильоз, інші інфекції та незаразні захворювання з метою вирішення питання про можливість і порядок використання м'яса та інших продуктів забою тварин. Мікробіологічне дослідження також проводять у всіх випадках змушеного забою тварин, у тому числі при отруєннях і підозрі на отруєння, шлунково-кишкових захворюваннях і захворюваннях дихальних органів, у всіх випадках при підозрі на наявність сальмонел чи токсигенних коків, видаленні кишківника з туші через 2 години й більше з моменту знекровлення; при неможливості визначити придатність у їжу шляхом ветеринарно- санітарного огляду.

Для визначення доброякісності м'яса враховують ступінь бактеріального забруднення, кількісний і якісний склад мікробіоти м'яса. М'ясо направляють на мікробіологічний аналіз у всіх випадках, коли припускають наявність у ньому бактерій, які обумовлюють виникнення харчових токсикоінфекцій або збудників інфекцій, що передаються від тварин до людей, тобто:

- при шлунково-кишкових захворюваннях тварин і при захворюваннях родових шляхів і ускладненнях;
- при підвищеній температурі тіла тварини;
- при забої стомлених тварин або при забої тварин зі зниженою температурою тіла;

- при розбиранні, яке зробили пізніше двох годин після забою.

Бактеріологічному дослідженню також підлягають:

- привізні туші, в яких при розбиранні вийняті органи й тому важко дати висновок про придатність м'яса до вживання;

- туші тварин, у яких при житті були виявлені бактерії роду *Salmonella*;

- туші, які недостатньо знекровлені;

- туші тварин, оброблених убитими мікробами, витяжками або продуктами життєдіяльності мікробів, якщо забій відбувається до закінчення 7 діб після обробки;

- туші тварин, забруднені мікробами (крім туберкульозних) живими або послабленими, якщо забій відбувається до закінчення трьох тижнів після обробки.

Крім того, бактеріологічне дослідження м'яса проводиться в усіх випадках на вимогу ветеринарно-санітарної інспекції.

3. Ковбасні вироби піддають мікробіологічному дослідженню у випадках порушення санітарного та технологічного режимів виробництва або при використанні сировини низької якості, при невідповідності органолептичних показників продукції вимогам стандартів або технічних умов, а також періодично - для перевірки дотримання санітарно-гігієнічного та технологічного режимів виробництва продукції.

Періодичні дослідження в порядку попереджувального контролю

дотримання санітарно-гігієнічного та технологічного режимів ковбасного виробництва проводять у такий термін:

- для груп ковбас варених, фаршированих, ліверних, кров'яних вищого, I і II гатунків, м'ясних хлібів, сардельок, зельців вищого, I і II гатунків, а також варених, запечених, смажених продуктів із свинини, яловичини, баранини, м'яса птиці - не рідше одного разу на 15 днів;

- для груп ковбас ліверних, кров'яних, зельців III сорту, холодців і паштетів - не рідше одного разу за 5 днів;

- для груп ковбас напівкопчених, варено-копчених і сирокочених, а також копчено-варених, копчено-запечених і сирокочених продуктів зі свинини, яловичини, баранини, м'яса птахів - не рідше одного разу на місяць.

Мікробіологічне дослідження ковбасних виробів проводять для визначення МАФАНМ (не поширюється на сирокочені ковбаси), присутності бактерій роду сальмонел, бактерій групи кишкових паличок, бактерій роду *Proteus*, патогенних стафілококів і *C. perfringens*.

Вимоги. Допускається присутність МАФАНМ для варених ковбас I гатунку – 1000, II гатунку – 2000 КУО/г; *C. perfringens* не дозволяється в 0,01 г варених ковбас I і II гатунку; наявність *P. vulgaris* не регламентується, але присутність небажана; не допускається наявність БГКП в 1 г, *S. aureus* – в 1 г, патогенних *Salmonella* і *Listeria* – в 25 г варених виробів I і II гатунку. Також останнім часом у країнах Європи в ковбасних výroбах визначають присутність *Listeria monocytogenes* – збудника лістеріозу.

Ковбасні вироби є м'ясним продуктом, призначеним для споживання без додаткової термічної обробки, тому до них і до технологічного процесу їх виготовлення висувають суворіші санітарні вимоги.

Санітарно-гігієнічна експертиза м'яса в ковбасному виробництві починається з моменту надходження його ззовні. Завданням експертизи на цьому етапі є не допустити у виробництво ковбасних виробів недоброякісного й небезпечного з ветеринарно-санітарного погляду м'яса. М'ясо, яке має ознаки псування - плісняву, слиз, загар, забруднення, побитості й крововиливи, - не може бути використане для виготовлення ковбаси. Не допускається в переробку фінозне м'ясо без попереднього знешкодження. Експертиза м'яса в ході технологічного процесу дає можливість виявити гнійники, пухлини, гематоми, фін у глибоких шарах м'язів. Бактеріологічне дослідження об'єктів у ході технологічного процесу дає можливість виявити джерело контамінації мікроорганізмами готових виробів і усунути їх.

М'ясо, яке використовують для виготовлення ковбас, і інші інгредієнти зазвичай тією чи іншою мірою забруднені різною мікробіотою. Через специфічність виробництва створюються сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів і в готових výroбах. Технологічну обробку сирих ковбасних виробів слід розглядати не тільки як процес, що додає продукту певних органолептичних властивостей, але і як процес знешкодження сировини.

Для виготовлення ковбас використовують тільки свіже м'ясо. Не дозволяється застосовувати у виробництво м'ясо від хворих тварин і птахів. Умовно придатне м'ясо використовують тільки з дозволу ветеринарно-санітарного нагляду. М'ясо до надходження в сировинне відділення ковбасного цеху піддається перевірці. При цьому звертають увагу на ступінь свіжості м'яса. М'ясо зі зниженою свіжістю, яке має ослизнення, цвіль і забруднення, в ковбасний цех без попередньої санітарної обробки не допускають. Окрім м'яса, перевіряють якість і чистоту (чи задовольняють санітарним вимогам) спецій, муки, кухонної солі, селітри та прянощів, а також оболонки.

Обробку м'яса для ковбас починають із обвалювання (відділення м'язової тканини від кістки) й жилування (розбирання його за сортами). При цьому вміст мікробіоти в м'ясі різко підвищується. Збільшення числа мікроорганізмів відбувається не за рахунок їх розмноження, а за рахунок забруднення м'яса мікробами з рук робітників, із інструментів і устаткування, інвентарю, з повітря приміщення.

Для зменшення ступеню бактеріального забруднення м'яса під час обвалювання та жилування необхідно постійно підтримувати чистоту приміщень, обвалювальних столів (де йде накопичення крові і м'язового соку), інструментів, дотримуватися правил особистої гігієни. Столи й інструменти необхідно ретельно промивати розчином хлорного вапна (0,2%). Після обвалювання та жилування м'ясо подрібнюють і солять. При цьому разом із розсолом або сумішшю засолу (сіль і нітрат натрію) можуть потрапляти мікроорганізми. Найчастіше серед цих мікроорганізмів зустрічаються: *B. subtilis*, *P. fluorescens*, пігментні коки, актиноміцети, спори цвілевих грибів, деякі галофіли. Багато з цих мікроорганізмів мають протеолітичні властивості.

Соління проводять у спеціальному приміщенні за температури 3-4°C. За такої температури мезофільні мікроорганізми в м'ясі не розмножуються.

Доцільно для засолу користуватися стерильною кухонною сіллю та селітрою. В 1 г нестерильних спецій налічують до 5-6 млн мікроорганізмів із переважанням спороутворювальних форм, а також кокові форми, БГКП.

Добре подрібнене посолене м'ясо перемішують на вовчку або в машині змішувача, де може відбуватися розмноження мікробів, а при додаванні до нього шпику та спецій фарш забруднюється мікроорганізмами додатково. Швидкому збільшенню кількості мікробів у фарші сприяє підвищення температури до 18-22°C при обробці в кутері, тому фарш слід готувати дотримуючись необхідних санітарних вимог: машини для подрібнення м'яса, змішувач фаршу безпосередньо перед роботою слід промивати кілька разів гарячою водою або обробляти парою. Цеховий персонал, який обслуговує устаткування, повинен перед роботою і в процесі роботи ретельно мити та дезинфікувати руки розчином хлорного вапна (0,2%).

Під час шприцювання мікроорганізми можуть потрапляти у фарш із рук робітників, устаткування та з ковбасної оболонки. Найбільш гігієнічним є шприцювання фаршу пневматичними або гідравлічними шприцами.

Термічна обробка – це заключна стадія виробництва ковбасних виробів, яка включає осадження, обсмаження, варіння, охолодження.

Батони, набиті фаршем, піддаються осадженню. Якщо під час осадження не порушується технологічний режим, то число мікробів у батонах залишається без зміни. Після осадження проводять обжарювання ковбас і потім їх варіння. При цьому особливу увагу потрібно приділяти контролю за температурою й тривалістю процесу. Від цього залежить вміст залишкової мікробіоти в готових ковбасних виробах, а отже, їх стійкість і доброякісність.

Обсмаження та варіння ковбас мають важливе профілактичне значення. Термічна обробка повинна зруйнувати всі патогенні вегетативні форми й забезпечити загибель більшості сапрофітних форм, наявних у сирих фаршах.

Варіння починають за високої температури (85-90°C), поступово знижуючи її до 75-87°C. Якщо варіння йде за низької температури, то в центрі батона створюються сприятливі умови для розвитку мікробів і закисання ковбаси. При контролі правильності режиму варіння перевіряють також і температуру в середині батона, яка до кінця варіння залежно від виду ковбаси дорівнює $71 \pm 1^\circ\text{C}$. За такої температури в основному до 99% мікроорганізмів гине, але 1% бактерій і спори можуть залишитися життєздатним. Якщо після варіння в ковбасах залишається значна кількість життєздатної мікробіоти, то це вказує на порушення технологічного або санітарного режиму, або ж на використання для вироблення ковбас м'яса, а також спецій і прянощів сильно забруднених. Чим більше життєздатних мікроорганізмів у готових ковбасах, тим вони швидше піддаються псуванню. Після варіння ковбасні вироби швидко охолоджують до температури у серцевині батона 0-8°C і зберігають за температури 8-15°C.

4. Ковбасні вироби, особливо варені, є нестійким харчовим продуктом, який широко вживається населенням зазвичай без додаткової термічної обробки. Тому до ковбаси та ковбасних виробів висувають суворі санітарно-бактеріологічні вимоги, а початкову сировину, напівфабрикати на етапах технологічного процесу та готову продукцію піддають бактеріологічному дослідженню.

Порядок і методи бактеріологічного контролю ковбасних виробів передбачають визначення (рис. 7.1):

- вмісту МАФАНМ в 1 г продукту, характеру мікробіоти, що виросла на МПА;
- збудників харчових отруєнь: БГКП, сальмонел, протею, патогенних сульфітредукуючих клостридій, стафілококів.

У сирому ковбасному фарші з тих мікробів, що мають санітарне значення, переважають дві групи бактерій: грамнегативні палички (різновиди кишкової палички) та грампозитивні коки – переважно ентеро- й стафілококи. Слід зазначити ще одну групу мікроорганізмів – це спороутворюючі бактерії.

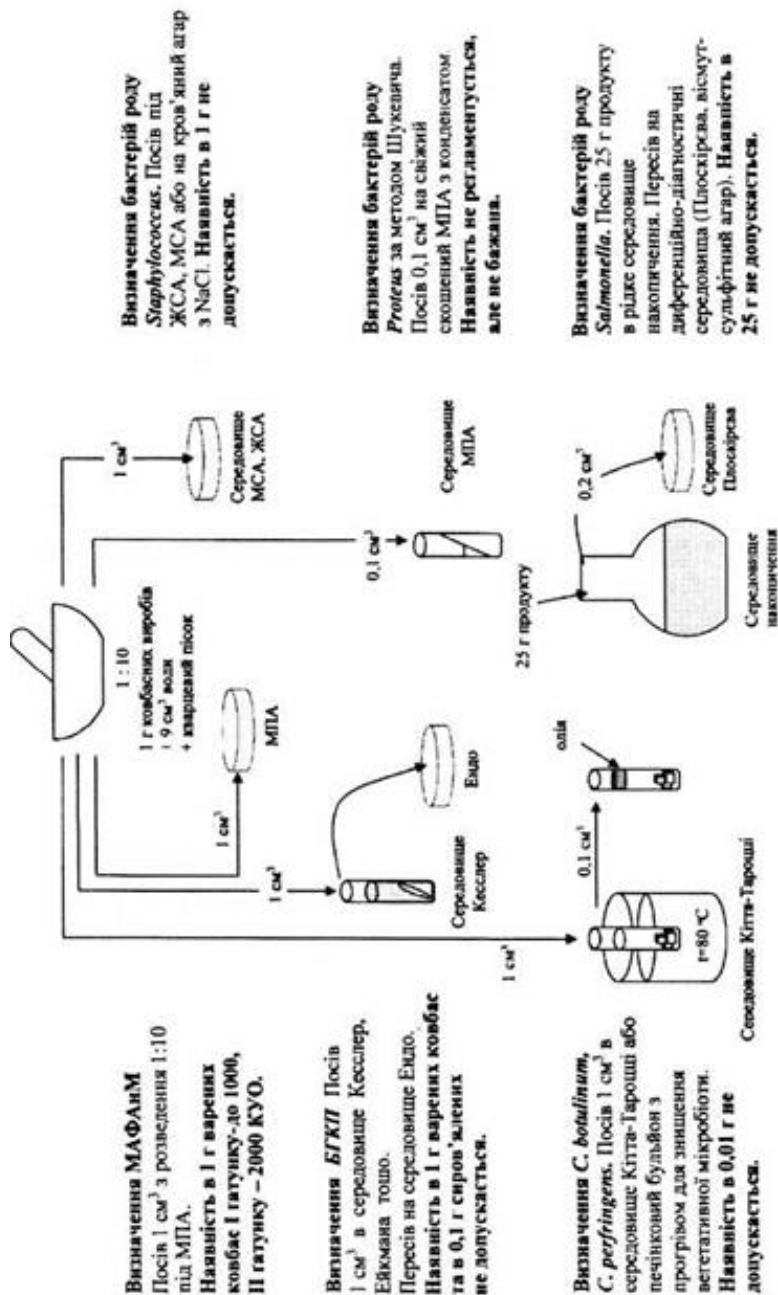


Рис. 7.1. Схема мікробіологічного контролю ковбасних виробів.

Саме вони формують залишкову мікробіоту готових ковбасних виробів, оскільки при варінні ковбас за температури $71\pm 1^{\circ}\text{C}$ в центрі батона повністю відмирають бактерії кишкової групи й практично повністю коки.

Як правило, про доброякісність ковбасних виробів судять за органолептичними показниками – зовнішнім виглядом, станом оболонки, кольору, консистенції, запахом і смаком. Якщо продукт за органолептичними показниками не відповідає вимогам стандарту або технічних умов, то він підлягає бактеріологічному дослідженню. Бактеріологічний аналіз ковбасних виробів проводять також у тих випадках, коли встановлений факт виготовлення ковбас із сировини зниженої якості (м'яса, багато разів дефростованого, виснажених, ослаблених тварин), при порушеннях санітарно-гігієнічного режиму та технології виробничого процесу. В останньому випадку аналіз проводять багато разів до виявлення та усунення причин порушення.

Для контролю санітарно-бактеріологічного стану технологічної лінії виробництва ковбас систематично здійснюють бактеріологічний аналіз за планом бактеріологічної лабораторії не рідше одного разу на місяць, а в літній час – щотижня. При цьому досліджують як готову продукцію, так і продукт на різних етапах технологічного процесу.

Вимоги. В ковбасних výroбах не допускається присутність БГКП в 1г, сульфитредукуючих клостридій - в 0,01 г, коагулазопозитивного стафілокока - в 1,0 г, сальмонел - у 25 г. Кількість МАФАНМ у варених ковбасних výroбах не має перевищувати $1 \cdot 10^3$ КУО/г, у варено-копчених цей показник не нормується.

5. Для виготовлення м'ясних консервів використовують якісне та чисте в бактеріальному відношенні м'ясо, отримане від здорових тварин і птиці. Не використовують умовно придатне та декілька разів заморожене м'ясо.

Технологія та організація виробництва консервів внаслідок різноманітності їх асортименту досить складні, а компоненти консервів під впливом мікробіоти піддаються швидкому псуванню. Неправильне проведення технологічного процесу, низький рівень санітарії або застосування неправильних режимів стерилізації призводять до зниження якості консервів, а іноді й до псування продукції на виробництві.

Основою санітарно-бактеріологічного контролю консервів із вмістом м'ясної складової є:

- систематична перевірка бактеріального забруднення вмісту консервних банок перед стерилізацією;
- періодичний бактеріологічний контроль сировини, напівфабрикатів і допоміжних матеріалів;
- контроль температури під час фасування;
- контроль рН продукту до стерилізації, а в натуральних м'ясних, рибних та інших консервах із нерегульованою кислотністю – в готовій

продукції.

Контроль повних м'ясних консервів під час виготовлення та на промислову стерильність ведеться за тими ж правилами й методами, що й консерви групи А.

Допустима кількість мезофільних мікроорганізмів перед стерилізацією для деяких видів м'ясних консервів як приклад наведено в таблиці 7.2.

Специфічну групу продуктів переробки м'яса становлять так звані напівконсерви – консерви групи Д. Це пастеризовані м'ясні, м'ясорослинні продукти (шпик, солений та копчений бекон, сосиски, шинка та ін.), які зберігаються за температури не вище 5°C.

Таблиця 7.2. Допустимий рівень вмісту мікроорганізмів у консервах перед стерилізацією

Найменування консервів	Допустима кількість МАФАНМ в 1 г (см ³), КУО, не більше
Тушковане м'ясо	5,0-10 ⁴
М'ясорослинні при закладці сирого м'яса та фаршу	1,5 10 ⁷
М'ясорослинні та салобобові при закладці м'яса та фаршу з попередньою тепловою обробкою	1,0 10 ⁸
Перші та другі обідні страви без м'яса та з вареним м'ясом	1,0 10 ⁴
Перші та другі обідні страви з сирим м'ясом	5,0-10 ⁷
Солянки овочеві. Солянки овочеві з копченостями, овочі з м'ясом	1,0-10 ⁷
Паштет м'ясний і печінковий	5,0-10 ⁷

Мікробіологічна стабільність напівконсервів досягається комбінованими діями нітратів, нітритів, копчення, соління та термічної обробки. Значення рН деяких із цих продуктів вище за 5,2. Багато м'ясних продуктів під час високотемпературної обробки втрачають свої органолептичні властивості, тому виробництво м'ясних напівконсервів базується на виготовленні продуктів, розвиток залишкової мікробіоти в яких обмежений низькотемпературним зберіганням.

М'ясні напівконсерви в залежності від ступеню термічної дії на продукт та тривалості їх зберігання поділяють на напівконсерви з обмеженим строком зберігання (приблизно від 6 до 12 місяців) за температури не вище 15°C – це так звані 3/4-консерви та напівконсерви з обмеженим терміном зберігання за низьких значень температури, наприклад, 6 місяців за температури 5°C чи 3 місяці за 10°C - так звані справжні напівконсерви.

Пастеризацію м'ясних напівконсервів проводять за температури 65-75°C, що гарантує загибель неспортованих бактерій та вегетативних форм бацил і клостридій. У присутності консервантів у м'ясних напівконсервах залишкова мікробіота за 15°C не розвивається.

У разі порушення технології виробництва напівконсервів (при

недостатній термічній обробці та відсутності швидкого охолодження пастеризованих продуктів і т. п.) у м'ясних напівконсервах нерідко виявляється велика кількість фекальних стрептококів.

Субстерилізацію м'яса %-консервів проводять за режимами, еквівалентними $F_0 = 0,65-0,85$, рідше – $F_0 = 1,0$ за температури 100- 110°C. Деякі дослідники вважають, що мікробіологічна стабільність %-консервів досягається за температури нижче 15°C в тих випадках, коли в 1г після субстерилізації залишається не більше $1-10^4$ бактерій.

У зв'язку з тим, що мікробіологічна стабільність м'ясних напівконсервів групи Д досягається комбінованою дією консервантів і субстерилізації чи пастеризації, при виробництві цих консервів контролюють процес соління та копчення.

На етикетках банок із напівконсервами групи Д повинні бути вказані температурні умови та гранична дата зберігання.

6. М'ясо консервують холодом із метою запобігання його псуванню та продовження строку зберігання. Холод – найкращий метод консервування, при якому вдається максимально зберегти смакові та поживні властивості продукту з мінімальними енергетичними витратами впродовж тривалого терміну. Консервування холодом м'яса та м'ясопродуктів дає великий економічний ефект, тому що вартість транспортування живих тварин значно вища, ніж охолодженого або замороженого м'яса.

Замороженим називають м'ясо та м'ясопродукти, температура яких не вища – 8°C. При охолодженні м'яса температура туші знижується до -1°C (не вище 4°C), а при його зберіганні – не нижче криоскопічної ($0 \pm 1^\circ\text{C}$). При цьому відносна вологість повітря має бути 85-95%. Охолоджене м'ясо зберігається не більше двох-трьох діб.

Холодильна технологія м'яса базується на постулаті, що більшість мікроорганізмів не здатна розвиватися за температури нижче 0 °C. Відомі кардинальні граничні точки температури, які впливають на фізіологічний стан мікроорганізмів: оптимальна, максимальна, мінімальна. Мінімальна – це така температура, нижче якої мікроорганізми не здатні до розвитку, клітини переходять в стан анабіозу, їх життєдіяльність зупиняється, але вони можуть знову відновитися за відповідних температурних умов і наявності поживних речовин. Найбільш пристосовані до умов холодильного зберігання м'яса психрофіли, в яких мінімальна температура складає від -7°C до 0°C, оптимальна - 10-35°C, максимальна - 30- 40°C. Наприклад, клітини грибів родів *Pichia* та *Rhizopus* гинуть за температури -10°C, *Geotrichum* – за -8°C, *Penicillium* – за -5°C, психротрофні бактерії роду *Pseudomonas* – за -6,5°C; *Flavobacterium* – за -8°C. Термофіли та мезофіли відмирають за температури 10°C і вище, але деякі токсигенні мезофіли характеризуються значною резистентністю до холоду.

Наприклад, відомо, що *C. perfringens* може зберігати життєздатність за

температури -20°C на протязі 6 місяців, *C. botulinum* за -16°C 1 рік, *S. aureus* за -30°C 24 години, *Salmonella* – за -10°C до 115 діб. Під час виробництва та зберігання охолодженого та замороженого м'яса відбуваються неоднакові зміни кількісного та якісного складу мікробіоти, розмноження якої веде до псування продукту та отруєння людини.

Під впливом низької температури психротрофи проходять кілька фаз: лаг-фаза, експоненціальна, стаціонарна, відмирання. Тривалість лаг-фази (затримки росту) залежить від таких факторів: рівень початкової температури, швидкість охолодження, вологість повітря камери, ступінь контамінації, автолітичних змін у тканинах туші. Якщо рівень цих показників відповідає вимогам технологічної інструкції, то розмноження мікроорганізмів затримується до трьох-п'яти діб, у протилежному випадку – до однієї доби.

Тривалість експоненціальної фази також залежить від умов зберігання та виду тварин. Деякі психротрофи, для яких умови температури, складу атмосфери, вологості повітря сприятливі, інтенсивно розмножуються, починають домінувати і внаслідок антагоністичних відносин із іншими мікроорганізмами призводять до загибелі останніх. На охолодженому м'ясі в аеробних умовах зберігання інтенсивно розмножуються неспортовні грамнегативні бактерії *Pseudomonas* і *Achromobacter*, а також плісеневі гриби та аеробні дріжджі *Rhodotorula* і *Torulopsis*. Активність розвитку кожної групи цих аеробних психротрофів залежить від режимів зберігання. Наприклад, з початку зберігання розвиток і розмноження *Pseudomonas* і *Achromobacter* відбуваються з однаковою швидкістю, потім останні поступово гинуть і при перевищенні терміну зберігання охолодженого м'яса залишаються *P. putrificiens*, *P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. geniculata*, які є головними збудниками псування (ослизнення). В умовах, які є несприятливими для психротрофних аеробних бактерій, має місце висока активність дріжджів і мікроміцетів. До останніх відносяться гриби родів *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Thamnidium* -збудники пліснявіння, кислого бродіння, неприємного запаху.

При активному розмноженні мікроорганізмів унаслідок їх життєдіяльності наприкінці стаціонарної фази настає псування охолодженого м'яса.

Охолоджене м'ясо зберігається не більше, ніж два-три тижні. З метою продовження терміну зберігання використовують додаткові заходи (часткова модифікація складу газового середовища з додаванням 10% CO₂, вакуумування, зберігання в атмосфері азоту, обробка м'яса іонізуючим випромінюванням), при яких складаються умови несприятливі для розвитку аеробних бактерій, мікроміцетів. Розмноження цих груп мікроорганізмів затримується, вони переходять спочатку до стану анабіозу, а потім гинуть. При застосуванні холодильного зберігання з додатковими заходами в складі мікробіоти м'яса переважають мікроаерофілі та факультативно-анаеробні лактобацили, мікробактерії, а також факультативно-анаеробні грамнегативні бактерії *Aeromonas*.

При заморожуванні м'яса відбувається швидке відмирання мікроорганізмів. У порівнянні зі змінами мікробіоти охолодженого м'яса, коли розрізняють чотири фази розвитку психротрофів, при заморожуванні мікроорганізми м'яса проходять лише дві фази: короточасну лаг-фазу і, головним чином, останню, четверту фазу – відмирання (друга, експоненціальна, і третя, стаціонарна, – відсутні). Більшість мікроорганізмів переходить у стан абіозу, тому заморожене м'ясо нестерильне.

Загибель мікроорганізмів спричиняють такі фактори:

1. При повільному заморожуванні в міжклітинному просторі з води утворюються великі кристали льоду з механічною дією на тканини. Розміри кристалів льоду та переміщення вологи з клітин у міжклітинний простір залежать від швидкості теплопровідності й кінцевої температури продукту. При швидкому заморожуванні утворюються дрібні кристали льоду в середині клітин, і більшість мікроорганізмів гине.

2. Виморожування води призводить до підвищення концентрації осмотично активних речовин м'ясного соку, яке є причиною незворотнього плазмолізу клітин мікробів; внаслідок перетворення води в лід відбувається також зниження вологості, активності води a_w припинення фізіологічних процесів живлення, розвитку, розмноження мікроорганізмів.

3. Зміни концентрації сухих речовин, зниження рН середовища призводять до денатурації білків та інактивації ферментів, порушується супряження анаболічних і катаболічних процесів метаболізму, а також структура цитоплазми, її в'язкість, дисперсність і напівпроникність мембран, ЦПМ. Після закінчення виморожування води в клітині та в міжклітинному просторі розчини мінеральних солей залишку та білки цитоплазми перетворюються в однорідну тверду масу.

У складі залишкової мікробіоти мороженого м'яса знайдені представники таких груп мікроорганізмів:

- неспороутворювальні аеробні грамнегативні палички родів *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, – збудники ослизнення;
- актиноміцети, корінебактерії-збудники ослизнення;
- кокові неспоротворні, грампозитивні збудники ослизнення родів *Micrococcus*, *Staphylococcus*;
- дріжджі родів *Torula*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia* – збудники ослизнення та кислого бродіння;
- аеробні спороутворювальні грампозитивні палички групи *subtilis* - *licheniformis* – збудники поверхневого гниття;
- анаеробні клостридії *C. sporogenes*, *C. putrificum* – збудники глибинного гниття;
- молочнокислі неспороутворювальні грампозитивні палички *Lactobacillus casei*, *L. breve*, *L. plantarum* – збудники кислого бродіння;
- мікроміцети родів *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Alternaria*,

Cladosporium, *Geotrichum* – збудники пліснявіння;
– збудники харчових отруєнь і зооантропонозів.

ЛЕКЦІЯ 8

Тема 8. Мікробіологія гідробіонтів.

1. Мікробіота свіжої риби та її дослідження.
2. Мікробіота охолодженої та мороженої риби та її дослідження.
3. Мікробіота солоні, в'яленої, копченої риби та її дослідження.
4. Мікробіота промислових безхребетних та її дослідження.

1. Гідробіонти – це організми, які постійно мешкають у водному середовищі. Найбільше промислове значення має риба, але харчова промисловість переробляє також м'ясо китів, акул, ікру риб, які є джерелами білків, вітамінів, макро- та мікроелементів, поліненасичених жирних кислот. Риба та рибні продукти традиційно присутні в раціоні харчування населення. За біологічною цінністю риба не поступається тваринним продуктам.

До гідробіонтів відносять також морських і річкових безхребетних, водорості (наприклад, ламінарію - морську капусту). Вони є не менш цінним джерелом легкозасвоюваного білка, заліза, цинку, міді, вітамінів РР і В₁₂. Продукти моря є найкращим джерелом фосфору, йоду, а також забезпечують організм кальцієм, селеном і фтором. В усіх країнах м'ясо крабів, раків, лангустів, кальмарів, гребінців, мідій та інших моллюсків вважають делікатесним продуктом.

М'ясо риби містить багато білків, жиру та води, а ніжна консистенція м'яса риб сприяє швидкому поширенню мікроорганізмів у її тілі. Вміст білків у рибі коливається від 14 до 24%, жиру – від 4 до 8%, вона містить значну кількість вітамінів групи В і вітаміну А, морська риба – виняткове джерело біодоступного йоду і селену.

Риба є швидкопсувним продуктом, тому що містить мікроорганізми і на поверхні, й у середині кишківника та в зябрах. Мікробне забруднення поверхні риби знаходиться в прямій залежності від якісного та кількісного складу мікробіоти водоймища. У теплих морях значну частину її складають мезофільні мікроорганізми, в помірних і холодних регіонах переважають психрофільні види. Крім того, в залежності від солоності води на рибі може бути присутня галотолерантна та галофільна мікробіота. На поверхні луски, зябрах свіжої риби виявляються мікроорганізми родів *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*), *Proteus*, *Micrococcus*, *Escherichia* та ін.

Наявність патогенної мікробіоти у воді в більшості випадків є результатом скидання неочищених або погано очищених стічних вод. Це явище характерне, насамперед, для внутрішніх водних басейнів і прибережних

морських вод. У воду можуть потрапити кишкові палички, ентерококи, сальмонели та шигели, *Clostridium botulinum*.

Контамінація риби починається дуже швидко після вилову, переважно психрофільними мікроорганізмами, тому риба – продукт ще більш схильний до псування, ніж м'ясо тварин. Як і у випадку з м'ясом, м'язова тканина свіжої риби вважається стерильною, оскільки природний імунітет живих клітин перешкоджає діяльності гнильної мікробіоти.

Значне число бактерій виявляється в покривній слизовій оболонці, на зовнішніх зябрах і в шлунково-кишковому тракті. Число бактерій на 1 см² поверхні тіла риби може становити від $1 \cdot 10^3$ до $1 \cdot 10^6$.

Ступінь контамінації залежить від навколишнього середовища, географічного положення водойми, пори року, знярядь лову й виду риби. Наприклад, у свіжій морській рибі, виловленій тралом, міститься в 10-100 разів більше бактерій, ніж у виловленій на вудку. Причиною є завихрення морського ґрунту (мулу) при буксируванні трала.

На поверхні свіжої морської риби превалують бактерії родини *Achromobacteriaceae*, які становлять 60% всієї мікробіоти, з них 35-40% бактерій відноситься до роду *Alcaligenes*, 30% становлять бактерії виду *Achromobacter liquefaciens*. Менше 10% всієї природної мікробіоти на поверхні риб припадає на роди *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Corynebacterium*, *Bacillus*. Іноді на поверхні риби зустрічаються пігментоутворювальні бактерії родів *Sarcina*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* або біolumінесцентні (*Photobacterium phosphoreum*).

Мікробіота прісноводної риби в помірному кліматі складається в першу чергу з психрофільних мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*. Внутрішні води часто бувають забруднені стоками, тому прісноводна риба може бути носієм патогенних мікроорганізмів, найчастіше сальмонел і стафілококів. На рибі можуть бути також патогенні для риби мікроорганізми, небезпечні й для людини.

Поверхня риби майже завжди покрита шаром слизу. Слиз на лусці має деяку антибактеріальну активність завдяки лізоциму та ряду інших антимікробних речовин, вони перешкоджають інтенсивному розмноженню бактерій на здорових рибках.

Шлунково-кишковий тракт риби містить різноманітну мікробіоту й служить джерелом гнильних бактерій. Сюди мікроби надходять із води та з донного мулу разом із їжею. Нерідко в кишківнику риб виявляють *E. coli* та анаеробні клостридії – *C. sporogenes*, *C. putrificum*. Можлива присутність мікроорганізмів-збудників харчових отруєнь роду *Salmonella* та *C. botulinum*. Число бактерій у кишківнику риби коливається від 10^4 до 10^8 в 1 г.

М'язова тканина, живіт здорової, нічим не ослабленої риби, як правило, не колонізовані бактеріями. У хворих, стомлених або виснажених риб мікроорганізми можуть потрапити у внутрішні органи й тканини з поверхні

тіла, з кишківника й зябер. Можливе проникнення бактерій у тканини риби через кровоносні судини. Мікроби можуть потрапити в товщу м'язів при ушкодженні тіла риби знаряддями лову або при недбалому вивантаженні й транспортуванні. У тканинах і органах такої риби найчастіше знаходять такі мікроорганізми: *Sarcina lutea*, *S. flava*, *S. alba*, *Micrococcus flavus*, *M. cereus*, *Chromobacterium prodigiosum* (*Serratia marcescens*), *E. coli*, *Proteus vulgaris*; *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus megaterium*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *Clostridium putrificum*, *C. sporogenes*, а також мікроміцети – *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* і різні види мукових грибів.

Серед мікроорганізмів, що часто виявляються на поверхні риби, переважають психрофіли – *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Proteus vulgaris*, бактерії групи кишкових паличок та ін.

Мікроорганізми родів *Pseudomonas* і *Achromobacter* є головними збудниками псування білкових продуктів при зберіганні в холодильнику.

Бактерії роду *Pseudomonas* – це гнильні паличкоподібні неспороутворювальні грамнегативні рухливі з полярними джгутиками аеробні бактерії, що утворюють на м'ясопептонному агарі безбарвні, прозорі або напівпрозорі колонії. Багато штамів психрофільних бактерій починають відмирати вже при 37°C. Ріст бактерій затримується при рН нижче 5,5 і при вмісті хлористого натрію більше 5-8%. Ряд представників *Pseudomonas* (флуоресцентні бактерії) змінюють колір середовища на зелений або бурий. До числа головних збудників псування рибних продуктів при зберіганні в холодильнику відносять *P. putrificiens*, *P. fragilis*, *P. fluorescens*.

Бактерії роду *Achromobacter* – це аеробні грамнегативні неспороутворювальні нерухомі короткі товсті поодинокі палички, які утворюють сіруваті або сірувато-білі непрозорі колонії на агарі. Більшість з них чутливі до пеніциліну, окситетрацикліну, до вуглекислого газу, але відносно стійкі до опромінення. Майже всі вони – сапрофіти, вільно живуть на ракоподібних, рибах і моллюсках.

Proteus vulgaris – це дрібні грамнегативні безспорові рухливі палички з різко вираженими гнильними властивостями, здатні за певних умов розкласти білки до простіших речовин – індолу та сірководню, спричиняючи сильне залужнювання субстрату. Він добре розвивається за температури 25-37°C, перестає розмножуватися за температури біля 5°C, але може зберігатися в заморожених продуктах.

Бактерії групи кишкових паличок – найбільш типові представники фекальних бактерій, вони завжди знаходяться в кишківнику здорових людей, тварин і комах. Це короткі рухливі (перитрихи) неспороутворювальні поліморфні грамнегативні палички. Оптимальна температура культивування 37°C. Однак, серед них зустрічаються холодостійкі (психрофіли) та мезофільні бактерії, які добре ростуть при 1,5°C (а деякі й при мінус 1,5°C).

Свіжа риба не може довго зберігатися без обробки. Особливо швидко змінюється якість риби, якщо після вилову з неї не відразу видаляють

кишківник, який містить велику кількість мікроорганізмів. У тканини снулої риби мікроби надходять із кишківника, з поверхні риби і з крові зябер. Чим вища загальна забрудненість риби, тим більша кількість мікробів буде в товщі тканин і внутрішніх органах. При цьому якісний склад мікробіоти, як правило, не змінюється, якщо виключена можливість забруднення риби з навколишнього середовища.

Якщо рибу не переробили або не заморозили, то дуже швидко починається її псування. Гнильна мікробіота риби, яка спричиняє основні процеси розкладання, розвивається дуже швидко за температури 15-20°C. Ця мікробіота є природною для риби. Первинне псування риби відбувається в результаті розкладання білків, жирів і вуглеводів. Якщо розкладання відбувається під впливом власних ферментів (автоліз), риба набуває м'якої консистенції без неприємних запахів і відхилень від смакових стандартів.

При нормативній температурі зберігання на автоліз накладається процес бактеріального розкладання під впливом протеолітичних мікробних ферментів. Слиз на лусці перетворюється на поживний субстрат для бактерій; мікробіота кишок, зябер і поверхні починає інтенсивно розмножуватися й проходити в м'язи. Потім може наступити аеробне та анаеробне гниття, що є найрозповсюдженішим видом мікробного псування риби.

Аеробне гниття відбувається в три фази: розмноження мікробів на поверхні риби, утворення колоній із паралельною зміною органолептичних властивостей м'язових тканин і активне гниття з їх розпаданням. Найбільш активні протеолітичні ферменти мають бактерії родів *Pseudomonas* і *Achromobacter*.

Анаеробне гниття спричиняють анаеробні клостридії, які надходять у м'язи з кишківника або з ран на тілі. Але спочатку в процесі беруть участь коки та гнильні факультативно-анаеробні бактерії, бацили, які адсорбують O_2 і створюють умови для розвитку гнильних клостридій.

Число клітин мікроорганізмів у м'язовій тканині риби, що досягає $8 \cdot 10^5$ в 1 г, є максимальним при визначенні придатності риби для харчування.

Бувають випадки неспецифічного отруєння рибою, що породжують біогенні аміни - отрута, яка утворюється при бактеріальному розкладанні риби. У цьому випадку білок м'яса риби розкладається до вільних амінокислот, в тому числі й гістидину, який декарбоксилюється до гістаміну. Саме він викликає інтоксикацію. Гістамін утворюють як мезофільні, так і психрофільні бактерії родів *Proteus*, *Achromobacter*, *Aerobacter* та *E. coli*.

Для подальшого зберігання рибу потрібно охолодити або засолити. Перед цим її піддають первинній обробці: миють, видаляють зябра, обезголовлюють, патрають, удруге миють і філетують. При цьому філе неминує контамінується мікроорганізмами внутроців, зябер і шкіри риб, а також мікробіотою рук робітників, устаткування й інвентарю. Середній показник зараження рибного філе становить 10^3 - 10^5 на 1 г.

Установлено, що мікробіологічне псування риби настає, коли кількість

мікробів сягає $1 \cdot 10^7 - 1 \cdot 10^8$ КУО/г продукту.

Виробництво харчових продуктів, особливо рибних, вимагає дотримання високої санітарної культури під час усіх етапів технологічного процесу. Найважливіше значення мають якість і свіжість сировини, яка переробляється, тому сировина на рибопереробних підприємствах контролюється щоденно.

Експериментальні дослідження свіжості риби

Оцінку свіжості риби встановлюють на підставі комплексу визначень, які включають органолептичні, бактеріоскопічні та хімічні показники.

Для дослідження від кожної партії відбирають пробу в залежності від її розміру. Дрібну рибу масою до 100 г відбирають цілою – 5-7 штук, від риби масою до 13 кг – 2-3 проби масою 100-150 г із двох- трьох риб, від риби масою більше 30 кг – 3-4 проби з головної та серединної частини масою до 500 г.

Органолептичні показники визначають за допомогою органів чуття за такими ознаками:

- *запах*: у доброякісної риби специфічний; неприємний запах повністю відсутній;
- *стан зябер*: у свіжої риби характерним є рожевий колір зябер, зяброві пластини пружні та не злиплі, мають специфічний рибний запах;
- *зовнішній вигляд*: слиз на лусці в доброякісної риби прозорий, очі опуклі й прозорі, анальний отвір втягнутий усередину, луска ясно-сірого кольору, яка важко відстає від шкіри. Поверхня риби блискуча срібляста (допускається незначне потемніння). Черевце без ушкоджень і здуття;
- *консистенція*: в свіжої риби тіло пружне, ямка після натискання пальцем швидко вирівнюється. Несвіже м'ясо - м'яке, в'яле, ямка вирівнюється повільно.

Як правило, висновок про свіжість риби роблять за органолептичними показниками. Однак у випадках стійкого бактеріального забруднення готової продукції, з метою виявлення джерела забруднення, перед консервуванням високоякісних порід свіжої риби (осетрина, стерлядь, кета та ін.), при порушенні термінів та умов зберігання, якщо риба не отримала високу органолептичну оцінку, на вимогу замовника, за епідеміологічними або для наукових цілей проводять мікробіологічний контроль.

Контроль включає визначення кількості МАФАНМ, наявності БГКП, золотавого стафілококу, сальмонел і паразитичних вібріонів. Також можуть проводити дослідження за спеціальними методами ветеринарної служби для виявлення збудників хвороб риб або патогенних мікроорганізмів фекального походження, особливих видів мікроорганізмів, що потрапляють у водоймище зі стічними водами (туберкульозна паличка, туляремійні мікроорганізми, лістерели, лептоспіри та ін.).

Для точного визначення числа та виду бактерій проводять мікробіологічний аналіз загальноприйнятим методом: з наважки зябер (1 г)

роблять змив у 50-100 см³ стерильної водопровідної води; зі шкіри роблять змиви тампонами з площі 100 см² за допомогою трафарету. Мікроорганізми з тампонів змивають у 50-100 см³ стерильної водопровідної води. Потім готують десятикратні розведення та роблять посіви:

- під МПА для визначення числа МАФАНМ в 1 г зябер або на 1 см² шкіри;
- на середовище Плоскірева для виявлення сальмонел;
- у середовище Кесслер для виявлення бактерій групи кишкових паличок;
- у середовище Кітта-Тароцці для виявлення облигатних анаеробів.

Усі дослідження роблять в умовах асептики.

Вимоги. У рибі-сирці, свіжій рибі та рибному фарші КМАФАНМ допускається до $5 \cdot 10^4$ КУО/г. У рибі охолодженій, філетованій, рибному фарші, формованих виробів КМАФАНМ допускається до $1 \cdot 10^5$ КУО/г.

БГКП (коліформи) не допускаються в рибі-сирці в 0,01 г, рибі охолодженій, мороженій – в 0,001 г, фарші рибному, формованих виробів – у 0,001 г, фарші особливої консистенції – у 0,01 г. *S. aureus* не допускається у 0,01 г для всіх найменувань, окрім фаршу особливої консистенції - він повинен бути відсутній у 0,1 г. Патогенні мікроорганізми, у тому числі *Salmonella* та *Listeria monocytogenes* у всіх вище зазначених найменуваннях не допускаються в 25 г. Сульфітрeredуючі клостридії не повинні виявлятися в рибному філе та рибі охолодженій, фарші особливої консистенції у 0,01 г і 0,1 г відповідно.

Вміст *Vibrio parahaemolyticus* у всіх найменуваннях, окрім фаршу особливої консистенції, повинен бути не більше 100 КУО/г для морської риби. У фарші особливої консистенції його не визначають.

Метод посіву дозволяє точно встановити кількісний і якісний склад мікробіоти. Однак цей метод має ряд обмежень у використанні. Головним із них є тривалість бактеріологічного аналізу, яка становить 24-48 годин. Це перевищує припустимий термін зберігання свіжої риби, тому метод посіву використовують у конфліктних ситуаціях, а для прискореного висновку про свіжість риби та її мікробіоту застосовують бактеріоскопічний метод, тобто роблять мазки-відбитки, забарвлюють їх за Грамом і досліджують під мікроскопом. У препаратах підраховують мікроорганізми й результати співставляють із даними табл.8.1.

Таблиця 8.1. Оцінка свіжості риби

Характеристика риби	У полі зору мазка ру мазка	
	з поверхні тіла риби	з відбитка м'язів
Доброякісна	Поодинокі мікрококи й диплококи	Відсутність мікробів
Затримана в сховищі, але придатна до вживання	10-30 мікрококів і диплококів	5-10 мікрококів і диплококів
Непридатна до вживання	30-50 і більше коків, бацил, неспороносних грамнегативних паличок	10-30 коків, бацил, неспороносних грамнегативних паличок

2. Найбільш поширеним способом збереження риби є **охолодження**. В основу зберігання риби в охолоджену стані покладена гальмівна дія низьких температур на ферментативні процеси й розвиток гнильних мікроорганізмів. Для охолодження використовують різні види льоду: розділений, спеціальний у суміші з хлоридом натрію, охолоджену морську воду з розчином хлориду натрію. Зазвичай застосовують дрібний лід. Однак при цьому тушка риби охолоджується нерівномірно й деформується, тому доцільно застосовувати спеціальні види льоду – штучний, лускатий або сніговий із додаванням антибіотиків (із хлортетрацикліном або з біоміцином – біоміциновий лід) або антисептиків (гіпохлорит кальцію або натрію).

Сучасним засобом охолодження риби є використання сухого льоду (двоокис вуглецю). З його допомогою досягають таких низьких температур, які необхідні при перевезенні морожених продуктів. Проте сухий лід є лише додатковим засобом, що охолоджує, й ніколи самостійно не використовується для охолодження. Власна температура сухого льоду складає – 80°C. Тому може виникати сильне переохолодження та висихання риби. Постійне зволоження риби забезпечується водним льодом. При охолодженні риби температуру її тіла не доводять до температури замерзання клітинного соку м'язів.

Терміни зберігання охолодженої риби в холодильних камерах за температури від +1 °C до +5°C такі:

- нерозділеної - до 9 діб;
- патраної-до 12 діб.

При реалізації риби в холодильниках за температури від -1 °C до -2°C термін зберігання складає до 2 діб; у ящиках із пересипанням льодом (температура від +2°C до +4°C) - до однієї доби. Використання часткового підморожування дозволяє продовжити термін зберігання свіжої охолодженої риби до 20 діб.

Із мікроорганізмів, присутніх на рибі, псування охолодженої риби зазвичай викликають гнильні бактерії родів *Pseudomonas*, *Achromobacter* і *Flavobacterium*. Найбільш активно розмножуються та гідролізують білки псевдомонади. В результаті їх діяльності утворюється велика кількість триметиламіну (ТМА), який надає рибі характерний для псування неприємний запах. Найінтенсивніше ТМА утворюється через 6-7 днів зберігання зараженої риби, коли число псевдомонад досягає 10^5 - 10^8 бактерій в 1 г.

Інколи охолоджену та підморожену рибу пакують у полімерну плівку. Експериментально встановлено, що пакування риби в плівку під вакуумом або без нього стримує процес розмноження бактерій і запобігає окисненню ліпідів риби.

Для отримання мороженої риби використовують декілька способів заморожування:

- природне: за температури повітря нижче -15°C;
- сухе: в морозильних камерах при -23 °C і нижче;

– льодосольове: додаванням 28 % NaCl до льоду при -19°C;

– рідким азотом: за температури кипіння азоту -195,6°C.

Тривалість заморожування – 10-15 хв.

Вживання холоду для консервації продуктів, які швидко псуються, зокрема рибних, має велике технологічне та економічне значення. Температура нижче 0°C не вбиває бактерії, а лише припиняє їх розмноження. Мікробіота риби при цьому знаходиться в стані анабіозу. Загибель мікроорганізмів настає в результаті виморожування вільної води, підвищення осмотичного тиску в тканинах субстрату й механічного руйнування клітин кристалами льоду. Але при заморожуванні можуть зберігати життєдіяльність психрофільні мікроорганізми, які здатні розмножуватися за температури зберігання вище -10°C. Швидке заморожування риби – обов'язкова умова того, щоб мікроби з кишечника, а також через зябра або розриви покривів не змогли пройти в м'язи. На кожному 1см² поверхні тіла свіжої риби, що поступила на заморожування, виявляють від 1000 до 16000 клітин мікроорганізмів. Велике значення має і якісний склад мікробіоти. На поверхні мороженої риби виявлені коки *Micrococcus flavus*, *M. aurantiacus*, сардини, *Escherichia coli*, спороутворювальні палички (*B. subtilis*, *B. licheniformis*), а також плісєневі гриби родів *Mukor*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

Заморожування не руйнує екзотоксини *Clostridium botulinum*, ентеротоксини стафілококів, а лише зменшує на 1-2 порядки число бактерій групи кишкових паличок та іншої мікробіоти.

Швидке заморожування є, безумовно, ефективним засобом зберігання риби. Воно практично виключає небезпеку мікробного псування риби. Установлено, що чим швидше здійснюється заморожування й чим нижча температура, тим менше змін відбувається в тканинах риби.

Терміни зберігання мороженої риби залежать від її виду, способу обробки та заморожування, але в основному – від температури:

– від -10°C до -12°C - 0,5-4 місяця;

– при -18°C - 1-6 місяців;

– від -25°C до -30°C - 2-12 місяців.

За час зберігання один - два рази на місяць рибу оглядають, перевіряючи відсутність пліснявини та іржі (немікробний вид псування).

На торговельних підприємствах морожену рибу зберігають у морозильній камері (від -5°C до -6°C) до 14 діб, а без холоду - не більше 1 доби.

Зазвичай перед реалізацією охолоджену рибу піддають лише органолептичному аналізу. При необхідності проводять бактеріоскопію та ставлять проби на редуктазу, аміак, сірководень і проводять дослідження на наявність продуктів гниття.

Мікробіологічний аналіз свіжої, охолодженої та мороженої риби проводять:

– у разі отримання сумнівного результату органолептичної оцінки;

– на вимогу органів санітарного нагляду або державної інспекції за якістю;

– у разі підозри на те, що риба є причиною токсикоінфекцій.

Мікробіологічні дослідження риби проводять бактеріоскопічним методом і методом посіву в поживні середовища, який дозволяє здійснювати не лише облік числа мікроорганізмів, й визначати видову приналежність мікроорганізмів із виділенням чистих культур і подальшим їх вивченням.

3. Соління риби

Застосовується при різних технологічних процесах і як самостійний спосіб консервування осетрових, лососевих, оселедцевих, скумбрієвих та інших риб. М'ясо риби в процесі засолу дозріває й набуває специфічного смаку, аромату, консистенції. Після засолу продукт готовий до вживання без додаткової обробки. Існують різні рецептури засолу, в яких час дозрівання залежить від виду, розміру та сорту риб і складає від 4 до 120 діб, але температура при цьому має бути близько 0°C.

Мікробіота солоної риби залежить від мікробіоти сирцю, засобів і умов обробки, мікробіоти води, яка використовується для миття риби та виготовлення тузлуків, від санітарного стану інвентарю, від мікробіоти кухонної солі, засобів і умов соління і зберігання.

На початку соління кількість мікроорганізмів у тузлуці достатньо велика (10^3 - 10^6 клітин в 1 см³) і визначається в основному мікробіотою солі, тому що тканини свіжої риби мають незначну кількість мікроорганізмів. Уже через 3-4 місяці за температури від -10 до -0°C число мікроорганізмів у тузлуці зменшується на 90%, а після 6 місяців залишається біля 102 клітин в 1 см³. Змінюється і якісний склад мікробіоти риби - гнильні мікроорганізми поступово відмирають.

У солоній рибі мікробні клітини піддаються плазмолізу, тому псування солоної риби можуть здійснювати галофіли та солетолерантні мікроорганізми - мікрококи (*M. roseum*), які синтезують червоний пігмент; неспороутворювальна паличка *Serratia salinaria*, що спричиняє псування («фуксин») риби, а також осмофільні плісеневі гриби та дріжджі, які складають мікробіоту солі. Патогенні мікроорганізми та бактерії групи кишкових паличок зустрічаються вкрай рідко. Проте гальмівна дія солоних розчинів на гнильну мікробіоту неоднакова за різних температурних умов довкілля – це необхідно враховувати при виробництві рибних продуктів. Навіть високі концентрації NaCl не призводять до загибелі спор *Clostridium botulinum* та інших мікроорганізмів.

Види мікробного псування солоної риби.

Затягування – псування риби внаслідок гнильного розпадання білків і розпаду вуглеводів. Затягування може відбуватися як по всьому тілу риби, так і в окремих її частинах, куди в недостатній кількості або несвоєчасно пройшла

сіль. Псування виникає в результаті затягування процесу консервації риби, через недостатню концентрацію солі при засолі або при опрісненні тузлуків. Різко виявлене затягування супроводжується кислим запахом риби з домішкою запаху гнилі. Смак м'яса гіркувато-кислий.

Омилення також утворюється в результаті гнильного розпадання білків. Збудники псування – мезофільна мікробіота, яка інтенсивно розвивається за температури 20-37°C. Залежно від ступеню псування на 1 см² поверхні оселідця може знаходитися від 1 до 300 млн мікроорганізмів. При омиленні на поверхні продукту утворюється безбарвний, а в занедбаному стані в'язкий і липкий наліт, що має вигляд мила. Омилення супроводжується гнильним запахом із аміачним відтінком. Омилення характерне для слабко- та середньосоленої риби, що зберігається без тузлука за недостатньо низької температури, та для риби, опрісненої внаслідок підмокання. Омилення можливе й на сирці, охолодженій рибі, що відтанула, на зволоженій поверхні копченої, в'яленої та сушеної риби.

Опріснення солоної риби веде до її швидкого псування – риба легко омилюється, поверхневі тканини тіла прокисають, і незабаром настає повне псування риби від гнильного розкладання.

Пліснявіння є найбільш поширеним видом псування в'ялених рибних продуктів (біла, зелена, сіра, бура, чорна цвіль). У солоної риби цвіль з'являється, коли вона вилучена з засольної ємності та сухою зберігається тривалий час. Зазвичай це відбувається в разі нестачі засольних ємностей при невчасному отриманні тари для продукції, при недотриманні термінів і засобів зберігання. Запобіжні заходи полягають у своєчасному прибиранні в'яленої риби в тару.

«Фукусин» – псування солоної риби, що виявляється у вигляді нальоту під впливом солелюбних аеробних пігментоутворювальних мікроорганізмів *Serratia salinaria*. При тузлучному засолі псування «фукусин» спостерігається лише на рибі, не зануреній у розсіл. Уражені ділянки м'яса розм'якшуються та ослизняються з утворенням аміаку. Обов'язковою умовою для розвитку «фукусину» є висока концентрація солі в розчині (не менше 240 г/дм³), наявність вологи, аерація та температура не нижче 8-10°C. Фукусиноутворювальна мікробіота витримує вплив високих температур до 70°C, а також сонячне опромінення різної сили й тривалості. Якщо є небезпека псування риби «фукусином», то перед укладанням у тару солону рибу в профілактичних цілях витримують 20-30 хв. у тузлуці, який містить 4- 5% оцтової кислоти. У випадку, коли неможливо здійснити обробку оцтово-сольовим розчином, необхідно охолодити або залити тузлуком уражену «фукусином» рибу, після очищення здійснити природне висушування.

Солону рибу в тузлуці зберігають за температури від - 4 до - 8°C протягом:

– 9 місяців - при високій концентрації солі;

- 6-8 місяців - у середній концентрації солі (залежно від виду риб);
- 4-6 місяців - у слабкій концентрації солі;
- 4 місяці - в пряному засолі.

При пакуванні обробленої солоної риби в полімерні плівки строки зберігання скорочуються до 10-35 діб залежно від виду риби.

З риби готують також в'ялені (солено-сушені) вироби та баночні солоні пресерви. В процесі в'ялення в м'ясі риб відбуваються складні біохімічні процеси, які полягають в дозріванні, ущільненні м'яса та в перерозподілі жиру.

В'ялення риби

Це – повільне зневоднення солоної риби за рахунок випаровування вологи за температури не вище +35°C. Воно здійснюється в природних і штучних умовах протягом 7-20 діб. Окрім в'яленої риби готують підв'ялену, тобто менш просушену та менш зневоднену, а також рибу гарячого сушіння.

На солоно-сушених виробах загальне число мікроорганізмів у перші дні засолу зростає, а потім при в'яленні поступово зменшується до 10^3 - 10^5 клітин в 1 г. Мікробіота в'яленої риби представлена мікрококами (на 50-90 %), а також сарцинами, гнильними (паличками родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*) та молочнокислими бактеріями.

В'ялені рибні продукти зберігають за температури від - 5 до - 8°C та нижчій; терміни зберігання залежать від виду риби та її обробки й складають від 1,5 до 10 місяців. Деякі вироби дозволяється зберігати за температури від +10 до +15°C протягом 1-4 місяців.

Копчення риби

Це – метод консервування для надання продукції специфічного запаху, смаку та підвищення терміну зберігання при обробці солоної або підсоленої риби речовинами, які містяться в коптільному димі або коптільній рідині.

У процесі копчення на мікробіоту риб впливає комплекс чинників, дія яких при гарячому та холодному копченні різна. Після холодного копчення на продукті залишаються головним чином коки (80-90% усієї мікробіоти), разом із якими можуть бути спороутворювальні та неспороутворювальні бактерії, плісеньові гриби та дріжджі. При такому копченні гине біля половини всієї мікробіоти, але кількість МАФАНМ може залишатись у межах 10^2 - 10^5 в 1 г. Розділена туша риби холодного копчення, особливо балик, має більшу кількість мікроорганізмів, ніж риба, яка не була розділена перед копченням.

Риба гарячого копчення є сприятливішим середовищем для розвитку мікроорганізмів. Процес обробки дозволяє отримати майже стерильний продукт, але високої вологості. Тому риба гарячого копчення, не розфасована в стерильний пакувальний матеріал, після охолодження піддається вторинному забрудненню, а число мікроорганізмів може досягати 10^2 - 10^4 бактерій в 1 г. Мікробіота риби гарячого копчення представлена в основному мікрококами, аспорогенними пігментоутворювальними дріжджами роду *Rhodotorula*. Зустрічаються також протеолітичні псевдоамоніфікатори та інші бактерії, які

мають ліполітичну активність, і спори плісневих грибів. Життєдіяльність цих мікроорганізмів значно активується в продуктах, які зберігаються за температури $+10^{\circ}\text{C}$ і більше.

Зберігають рибу холодного копчення за температури від -5°C до 0°C не більше 2 місяців; рибу гарячого копчення – за температури від -2°C до $+2^{\circ}\text{C}$ до 48 годин після виготовлення. Заморожену копчену рибу зберігають при -18°C до 1 місяця. Недотримання режимів виготовлення та зберігання може призвести до виникнення різних видів мікробного псування копченої риби. Копчені вироби мають обмежені терміни зберігання, тому мікробіологічний контроль цих продуктів носить чисто профілактичний характер і має сприяти покращенню санітарного стану виробництва, а отже, збереженню якості готового продукту та профілактиці харчових захворювань.

Санітарно-мікробіологічний контроль на рибокоптильних підприємствах здійснюється на основі технологічних інструкцій, які передбачають систематичний санітарно-технологічний контроль виробництва (інвентарю, обладнання, тари, пакувального та обв'язувального матеріалу, рук і одягу робітників, повітря приміщень), а також плановий контроль риби гарячого копчення (3 рази на місяць), риби холодного копчення (2 рази на місяць), напівфабрикатів та спецій.

Тару, пакувальний матеріал, технологічне устаткування додатково контролюють на наявність плісневих грибів.

Експериментальні дослідження

Для мікробіологічних досліджень із трьох одиниць упаковок відбирають зразки загальною масою не менше 300 г. Дрібну рибу беруть цілою. Якщо риба знаходиться в полімерних мішечках або картонних коробках, то відбирають упаковку без порушення її цілісності. З великої риби проби асептично відбирають із головної та хвостової частин. Час між відбором проб і аналізом повинен бути мінімальним, зразки при цьому можна тримати в холодильнику за температури від $+2^{\circ}\text{C}$ до -4°C не більше 4 годин. Відібрану середню пробу подрібнюють і гомогенізують в асептичних умовах.

Наважку 10 г гомогенату риби гарячого копчення або 1 г гомогенату риби холодного копчення поміщають в асептичних умовах в колбу з 90 см^3 стерильної водопровідної води або фізіологічного розчину й здійснюють змив мікробіоти. З цього основного розведення готують наступні десятикратні та виконують посіви.

Готову продукцію аналізують за основними показниками безпеки: кількість МАФАнМ в 1 г, наявність БГКП, патогенних стафілококів і сальмонел. Крім того, рибу холодного копчення (розподілену, нерозподілену, асорті, баликовий фарш тощо) та формовані вироби з фаршу риби гарячого копчення аналізують на присутність сульфівідновлювальних клостридій. Жельовані продукти (холодці) з копченої риби додатково аналізують на наявність протей.

Перед початком аналізу рибу подрібнюють у ступці.

Порядок аналізу копченої риби виконують за схемою на рис. 8.1.

Вимоги. У копченій рибі кількість МАФАНМ не повинна перевищувати $5 \cdot 10^3$ КУО/г. Наявність патогенних стафілококів у 1 г, сальмонел у 25 г, БГКП та бактерій роду *Proteus* у 10 г не допускається.

У разі виявлення сальмонел у досліджуваному матеріалі (25 г) копчена риба підлягає знищенню, тому що вони продукують ендогенні ентеротоксини.

При виявленні *C. botulinum* і *C. perfringens* копчена риба має бути знищена.

4. Більшість промислових безхребетних - це придонні організми, тому їх мікробіота відповідає мікробіоті води та мулу й відрізняється залежно від типу харчування, температури, місця, сезону та способу вилову. Кількість МАФАНМ на щойно виловлених ракоподібних коливається від 10^2 до 10^6 клітин в 1 г. Головним чином це неспороутворювальні аеробні мезофільні та психрофільні бактерії родів *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, а також *Vibrio*.

Мікробіота панцирних покривів, зябер та внутрішніх органів характерна для морського ґрунту, де переважають спороутворювальні бактерії *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* та ін. М'ясо живих ракоподібних містить мало мікроорганізмів - до кількох сотень в 1г. Переважають бактерії родів *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* та ін. Свіжі ракоподібні не містять або містять в незначних кількостях патогенні або умовно патогенні мікроорганізми. При порушенні санітарних норм переробки можливе інфікування цими мікроорганізмами.

Ракоподібні (креветки, краби, омари, лангусти) та молюски (гребінці, мідії, устриці, кальмари), як і риба, швидко псуються через високий вміст екстрактивних небілкових азотистих речовин, що обумовлюють розвиток ферментативних і мікробіологічних процесів.

Найкращим технологічним засобом зберігання безхребетних є їх заморожування. Під час цього процесу число мікроорганізмів зменшується: за добу на 50%, за два місяці - на 85%, після зберігання протягом 2-12 місяців - на 48-99%.

Крабів виловлюють у грудні - квітні, охолоджують, сортують за розмірами та фізичним станом. При заморожуванні м'яса крабів якісний склад мікробіоти практично не змінюється. Заморожують крабів за температури - 40°C і додатково глазують водою з додаванням аскорбінової та лимонної кислот, які відіграють роль консервантів.

Крабів консервують – розбирають, варять протягом 10-15 хвилин, охолоджують, відділяють м'ясо, солять, закладають у банки та пастеризують, - при цьому кількість МАФАНМ крабового м'яса до пастеризації не повинна перевищувати $1 \cdot 10^5$ КУО/г. До складу залишкової мікробіоти входять грампозитивні неспороутворювальні бактерії, які синтезують молочну кислоту. В м'ясі крабів також виявляють патогенну та умовно-патогенну мікробіоту.

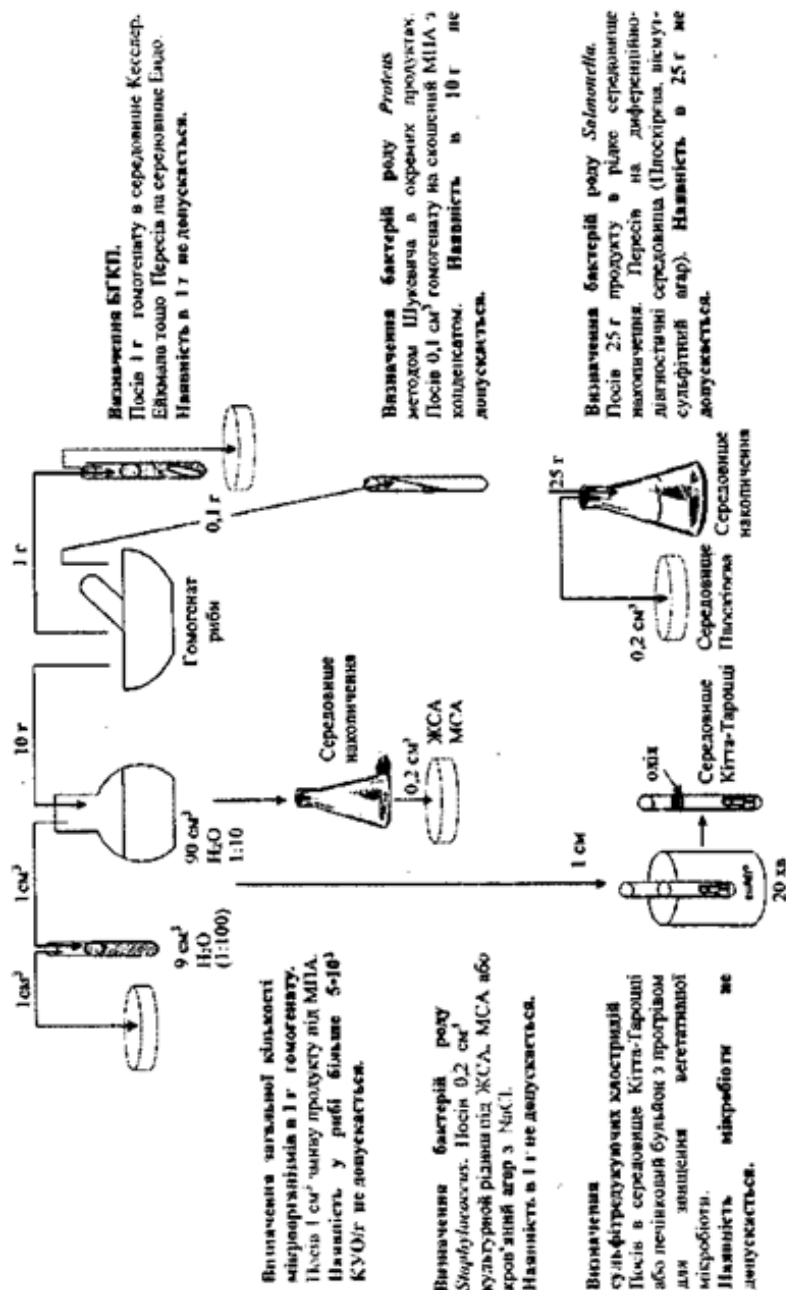


Рис. 8.1. Схема мікробіологічного контролю риби гарячого копчення

Стафілококи найчастіше потрапляють у готовий продукт під час розбирання вареного м'яса. Досить часто зустрічаються сальмонели, *Vibrio parahaemolyticus*, *C. perfringens*. Отруєння, які спричиняє *C. perfringens*, при вживанні морепродуктів зустрічаються досить рідко, але з огляду на широке розповсюдження цього мікроорганізму в кишківнику безхребетних необхідно контролювати його присутність, особливо в готових продуктах. Інколи в м'ясі крабів виявляють спори *C.botulinum*. З метою запобігання розвитку *C. botulinum* необхідно дотримуватися наступних умов: температура зберігання має бути менше 10°C (краще 3-4°C), рН - до 6,5, вміст солі - 5%.

Виловлених омарів охолоджують льодом цілими. В охолоджених омарах переважають бактерії родів *Pseudomonas*, *Achromobacter*. Омари, які зберігаються охолодженими протягом 8-10 діб, стають неїстівними через кислий присмак і запах аміаку. Окрім того, підвищується рН, відбувається розкладання білків, процеси дезамінування в результаті автолізу власних клітин і розвитку гнильної мікробіоти. Після відварювання омарів загальна чисельність мікроорганізмів зменшується на порядок, але при зберіганні варених омарів у охолоджену стані протягом 14 діб кількість МАФАНМ сягає $1 \cdot 10^6$ КУО/г. М'ясо також набуває неприємного стороннього запаху. Кращим є зберігання омарів у варено-мороженому вигляді. Варених омарів розбирають, видаляють панцир, м'ясо заморожують у брикети. Термін зберігання за температури -18°C складає біля 5 місяців, а за температури -12°C - не більше 3 місяців.

У м'ясі омарів досить рідко виявляють патогенні та умовно- патогенні мікроорганізми.

Лангустів, які мають вихідну мікробну забрудненість $(2-5) \cdot 10^2$ КУО/г, зберігають в охолоджену стані протягом 10 діб без суттєвої зміни якості. При більшій вихідній забрудненості на десяту добу зберігання починається псування, збільшується число гнильних бактерій. Рекомендують зберігати лангустів за означених режимів не більше 5 діб, а при заморожуванні за температури -25°C протягом 3,5 місяців мікробна забрудненість навіть зменшується на 99,9%.

У м'ясі лангустів не виявляють патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми.

Ступінь мікробного забруднення молюсків (гребінці, мідії, устриці, кальмари) залежить від бактеріологічного стану води. Мікроорганізми накопичуються у внутрішніх органах молюсків, і це можуть бути збудники сальмонельозу, черевного тифу, дизентерії, холери тощо, часто виявляють і санітарно-показові. Чисельність та видовий склад мікроорганізмів залежить від району вилову та сезону.

Охолоджені льодом устриці та мідії містять мезофільні мікроорганізми, кількість яких під час зберігання зменшується, а кількість психрофільних збільшується. За умови дотримання правильних режимів зберігання кількість МАФАНМ коливається в межах $(0,5-1,0) \cdot 10^6$ КУО/г. В таких зразках виявляють

біля 5 КУО/г *E. coli*. В мікробіоті охолоджених моллюсків переважають мікроорганізми родів *Pseudomonas* та *Lactobacillus*.

Останнім часом особливої популярності набули консерви та кулінарні вироби з кальмарів. Вивчення мікробної контамінації свіжих кальмарів показало наявність у них коків і грам негативних паличок. Кількість МАФАНМ коливається в межах $3,1 \cdot 10^2$ - $2,4 \cdot 10^3$ КУО/г. Термічна обробка кип'ятінням протягом 5-15 хвилин знищує значну кількість мікроорганізмів. Кулінарні вироби з кальмарів мають низьку мікробну забрудненість.

Дослідження промислових безхребетних проводять згідно чинної НТД за тими ж показниками, що й рибу та рибні продукти з невеликою відмінністю, яка стосується живих двостулкових моллюсків, призначених для кулінарного виробництва в період зберігання.

Вимоги. Кількість МАФАНМ у промислових безхребетних не повинна переважати $5 \cdot 10^4$, присутність БГКП і спор мезофільних анаеробних мікроорганізмів в 0,1 г не допускаються, в 25 г – не допускається наявність сальмонел. Окрім того, визначаються патогенні галофільні вібріони, які не допускаються в 25 г продукту.

Бактеріологічний контроль консервів із гідробіонтів.

За сучасною класифікацією рибні консерви відносяться до групи А. Їх виробництво та мікробіологічний контроль на всіх етапах підпорядковані вимогам, які встановлені для консервів цієї групи.

ЛЕКЦІЯ 9

Тема 9. Мікробіологія вина та пива.

1. Морфологічні, культуральні ознаки та фізіологічні властивості винних дріжджів.
2. Завдання мікробіологічного контролю у виноробстві.
3. Чисті культури дріжджів у бродильних виробництвах.
4. Мікробіологічний контроль за процесом бродіння.
5. Дослідження мікробіологічної стійкості виноматеріалів і вин.
6. Мікробіологічний контроль пива.

1. Виноробство вина є одним із прадавніх бродильних виробництв. Ще в середні віки у Франції існувало промислове виробництво виноградного вина. Але тільки роботи Пастера наприкінці XIX століття пояснили перебіг процесів під час бродіння. На основі перетворень продуктів виноградного та плодово-ягідного суслу дріжджами, молочнокислими бактеріями формується продукт - вино, технологія виробництва якого залежить від ефективного управління процесами життєдіяльності мікроорганізмів.

Для керування технологічним процесом приготування вина необхідно знати морфологію та фізіологію різних видів дріжджів, молочно- та оцтовокислих бактерій, вивчити основні види мікроорганізмів - «бур'янів»

виноробства, їх фізіологічні особливості та процеси, які вони спричиняють у виноматеріалах, засвоїти методи їх визначення та ідентифікації, ознайомитися зі способами боротьби зі сторонньою мікробіотою та хворобами вин.

Виноградна ягода, особливо пошкоджена, є носієм різноманітних мікроорганізмів. При роздавлюванні винограду всі ці мікроорганізми потрапляють у сусло й розмножуються в ньому з величезною швидкістю.

Представники культурних видів винних дріжджів *Saccharomyces vini* складають незначну кількість загальної мікробіоти ягоди. Більшість видів мікроорганізмів сусла є шкідниками, бур'янами виробництва, спричиняють захворювання та псування вин. Участь таких «диких» видів дріжджових мікроорганізмів у бродінні повинна бути повністю усунена або максимально обмежена.

Продукти життєдіяльності «диких» дріжджів гальмують розмноження й бродильну енергію винних дріжджів і додають винам невластивий їм аромат і смак, виноматеріали погано освітлюються.

Знайомство з представниками різних видів мікроорганізмів, вивчення їх морфолого-фізіологічних і біологічних особливостей дозволить своєчасно виявити осередок інфекції у виробництві, попередити подальше її розповсюдження.

Культурні дріжджі. Винні дріжджі використовуються у виноробстві як збудники спиртового бродіння. Вони відносяться до сімейства *Saccharomycetaceae* роду *Saccharomyces*. Більшу частину вина виготовляють з використанням різних штамів *Saccharomyces vini*. Раніше цей вид називався *S. ellipsoideus*, оскільки клітини мають форму еліпса. Окрім *S. vini* у виноробстві використовуються також дріжджі *S. oviformis*, *S. uvarum* та ін.

Saccharomyces vini. Форма клітин еліптична або овальна, розмір 5-12х3-8 мкм. Іноді зустрічаються круглі клітини. Форма та розміри клітин можуть мінятися залежно від умов культивування (рис. 9.1). Це - найбільш поширений вид дріжджів при зброджуванні виноградного сусла. Серед усіх дріжджів, що розвиваються при бродінні сусел, *S. vini* складають 80%. Оптимальні умови для життєдіяльності: рН 3,5; температура 28- 30°C; вміст цукру 18-20%. Найбільша кількість спирту накопичується при зброджуванні 25% цукру; гранична концентрація накопиченого спирту 14-16% об. Характерною особливістю культурних винних дріжджів є їх значна спиртостійкість (до 16% у *S. vini*).



Рисунок 9.1. *Saccharomyces vini*.

Вміст сірчистого ангідриду (SO_2) 75-100 мг/дм³ здатний затримувати бродіння при 20°C на 2-4 доби.

Будова клітин винних дріжджів не відрізняється від будови клітин інших дріжджів. Розмножуються винні дріжджі брунькуванням і за допомогою спор. Спори утворюються за несприятливих умов. Кількість спор звичайно – від 2 до 4, а іноді до 8. Утворюються спори безстатевим шляхом. Порівняно з вегетативними клітинами спори дещо стійкіші до несприятливих дій. При бродінні на виноградному суслі клітини розташовуються окремо або парами, бруньки на деякий час залишаються пов'язаними з материнською клітиною.

На твердому поживному середовищі (агаризоване сусло) колонії білі, вологі, більш-менш гладкі, іноді зернисті, мало порізані. На соку з желатином колонії можуть бути матовими або блискучими; вони зазвичай досить великі, часто опуклі. Великі колонії *S. vini* можуть мати різний вигляд залежно від штаму.

Кожен вид дріжджів включає велику кількість рас, які мало розрізняються за зовнішніми ознаками, але значно – за цінними для виробництва фізіологічними та біохімічними властивостями. Зокрема раси дріжджів виду *S. vini* мають індивідуальні особливості щодо спиртоутворювальної здатності, сульфїтостійкості, за біосинтезом летких компонентів та інших продуктів, що створюють органолептичні властивості вин, тому вибір рас дріжджів має велике практичне значення для виноробства.

В процесі бродіння на дріжджах *S. vini* середовище покривається піною; характер дріжджового осаду залежить від раси: він пілкоподібний, скаламучений або пластівчастий, що легко осідає.

Джерелами вуглецевого живлення винних дріжджів є цукри, спирти, кислоти. З факторів росту для *S. vini* найбільш ефективні пантотенова кислота, біотин, інозит. Крім того, певний вплив мають тіамін і піридоксин. Дріжджі *S. vini* зброджують глюкозу, сахарозу, мальтозу, галактозу й частково рафінозу.

Saccharomyces oviformis. На виноградному суслі клітини мають найчастіше овальну, еліптичну, а іноді круглу форму (рис. 9.2). Розміри клітин 4-7х5-9 мкм, розташовані окремо або парами. Утворюють осад і іноді слабке кільце на поверхні. На твердому поживному середовищі (агаризоване сусло) клітини трохи вужчі й довші, розміром 3-6х5-9 мкм, причому деякі дуже подовжені, колонії з розгалуженими краями, товсті, іноді гладенькі, іноді зернисті, білого кольору.

Форма колоній залежить від штамів і нагадує колонії *S. vini*. Спороутворення на середовищі з агаром відбувається поволі й швидше на морквяному бульйоні з агаром. Найчастіше спостерігається по 2-3 спори в асці.

Дріжджі *S. oviformis* здатні зброджувати глюкозу, сахарозу, мальтозу й частково рафінозу. Ці дріжджі не розріджують желатин. *S. oviformis* відносно своїх потреб у стимуляторах практично не відрізняються від *S. vini*.

Чисті культури *S. oviformis* добре розвиваються у виноградному суслі, майже повністю зброджуючи цукри, які містяться в ньому, утворюючи до 18%

спирту. На початку бродіння вони розвиваються трохи повільніше, ніж *S. vini*, але внаслідок великої стійкості до спирту вміст їх безперервно підвищується. При використанні цих дріжджів у виноробстві одержують добрі результати в разі зброджування сусла з високим вмістом цукру при отриманні сухих вин.

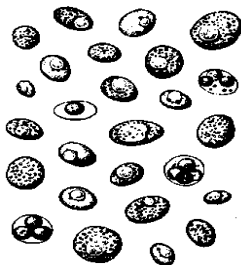


Рисунок 9.2. *Saccharomyces oviformis*

Внаслідок широкого розповсюдження, високої спиртоутворювальної здатності та стійкості до етанолу *S. oviformis* в основному спричиняють бродіння виноматеріалів, що містять залишковий цукор. Дуже часто саме дріжджі *S. oviformis* закінчують процес бродіння.

Здатність дріжджів *S. oviformis* краще виживати в середовищі з високим вмістом спирту, ніж *S. vini*, має велике значення при витримуванні вина та доброджуванні виноматеріалів із вмістом спирту біля 17%. Їх знаходять у дріжджових плівках, що при доступі повітря, утворюються на поверхні вин з високим вмістом спирту.

Дріжджі *S. oviformis* дуже стійкі по відношенню до сірчистого ангідриду. Зокрема, французькі винороби спостерігали розмноження дріжджів *S. oviformis* у високоцукристому суслі (20%) із вмістом сірчистого ангідриду 300 мг/дм³. Підвищена сульфїтостійкість *S. oviformis* пояснюється тим, що в момент припинення бродіння дріжджі починають посилено утворювати оцтовий альдегід, який з'єднується з SO₂ і позбавляє його антисептичної дії.

Дріжджі *S. oviformis* широко використовуються у виробництві шампанського та хересу. Хересні дріжджі (*S. oviformis* var. *cheresiensis*) утворюють на поверхні плівку і енергійно зброджують цукри з утворенням до 17,6% спирту. Після закінчення бродіння на цьому ж вині вони розвиваються у вигляді плівки і в результаті окиснення спирту з утворенням ацетальдегіду (до 700 мг/дм³), ацеталів і летких ефірів надають вину хересний тон. Хересні дріжджі застосовують також для виправлення хворих вин, що містять оцтову та молочну кислоти й мають мишачий тон.

«Дикі» дріжджі – шкідники виноробства. «Дикі» дріжджі виробляють речовини, які псують смак вина й пригнічують розвиток винних дріжджів. Деякі з них не здатні збуджувати спиртове бродіння. Більшість спричиняють захворювання та помутніння вин.

Pichia hansen. На виноградному суслі клітини мають овальну подовжену форму, іноді паличкоподібну, утворюють ланцюжки, більш-менш довгі або розгалужені, розміром 3-10х2-4 мкм (рис. 9.3). На середовищі Городкової клітини округлі, розташовані окремо або по дві. Спори круглі, але спороутворення відбувається важко.

У рідкому середовищі розвивається зморшкувата плівка. На твердому середовищі культура матова, тонко зморшкувата.

Дріжджі роду *Pichia* відносяться до слабкозброджувальних видів. Вони здатні асимілювати тільки глюкозу та фруктозу. Спиртоутворювальна здатність складає 1,8-3,0%. Дріжджі цього роду мають здатність засвоювати цукри в основному шляхом окиснення органічних кислот, тому добре ростуть на поверхні вже зброджених субстратів - вина, пива й інших, вміст спирту в яких не перевищує 12-13%. У молодих винах дріжджі роду *Pichia* можуть зустрічатися у великій кількості - в багато разів перевищують кількість інших дріжджів.

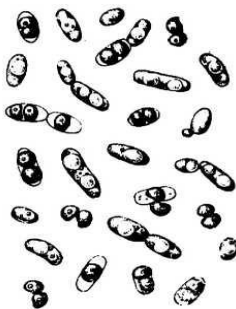


Рисунок 9.3. *Pichia hansen*

Дріжджі р. *Pichia* є збудниками цвілі столових вин і помутніння вин, розлитих у пляшки. За рахунок вмісту в цих винах залишкової кількості цукру, спирту, гліцерину й органічних кислот вони швидко розвиваються та утворюють осад, який робить вино абсолютно непридатним до споживання.

Розвиваючись на поверхні вина у вигляді білої борошнистої плівки, дріжджі роду *Pichia* значно змінюють як склад вин, так і смакові його переваги. У вині збільшується кількість летких кислот, ефірів, у смаку з'являється невластивий йому фруктовий і лікарський тон, вино стає менш екстрактивним, менш забарвленим.

При розливі столових вин у пляшки з доступом повітря дріжджі роду *Pichia* швидко розмножуються й спричиняють дріжджове помутніння вина. Продукти обміну дріжджів роду *Pichia* гальмують розмноження та знижують бродильну енергію шампанських і хересних дріжджів. Дріжджі роду *Pichia* дуже стійкі до сірчистого ангідриду, їх розвиток можна затримати введенням великих доз SO_2 ($> 500 \text{ мг/дм}^3$). Вони є сильними відновниками сульфатів і

сульфітів до елементарної сірки, частина якої може відновлюватися в сірководень.

До «диких» дріжджів також відносяться *Hansenula*, *Candida*, які разом із *Pichia* є збудниками «цвілі» вина й дріжджових помутнінь.

2. Завданням мікробіологічного контролю є контроль за діяльністю винних дріжджів, своєчасне виявлення мікроорганізмів, які спричиняють хвороби вин, знижують їх стабільність при зберіганні, псують сировину та допоміжні матеріали.

Мікробіологічний контроль проводиться фахівцями- мікробіологами, які виконують наступні завдання:

- заготовляють чисті культури дріжджів у лабораторії та забезпечують ними виробництво;
- забезпечують контроль за дотриманням мікробіологічного режиму на всіх стадіях виробництва, вчасно виявляють відхилення від норми й дають вказівки для усунення відхилень;
- готують поживні середовища для проведення лабораторних аналізів;
- проводять мікробіологічний контроль виноматеріалів, тари, обладнання та цехів;
- відповідають за санітарний стан усього виробництва та мікробіологічну стабільність вин.

Мікробіологічний контроль охоплює весь технологічний процес виробництва. Відповідно до інструкцій на заводах передбачені такі місця відбору проб: основна сировина (виноград, плоди, ягоди), допоміжна сировина та матеріали (вакуум-сусло, цукор, тощо), сусло до і після відстоювання, а також бродильне виробництво, вино, санітарний стан обладнання, пляшок, пробок, повітря у виробничих приміщеннях.

3. Для правильного перебігу бродильних процесів у виноробстві та пивоварінні використовують чисті культури дріжджів (ЧКД). Чисті культури - це сукупність клітин одного виду, які мають стійкі ознаки. Причинами, які стимулюють використання ЧКД, є їх бродильні властивості, боротьба з конкурентною мікробіотою - бур'янами та шкідниками спиртового бродіння, а також здатність синтезувати певні вторинні та побічні продукти бродіння, які суттєво впливають на смак і букет напоїв.

Для виробництва пива використовують пивні дріжджі різних рас. Вибір раси визначається специфікою технологічного процесу. Перед введенням дріжджів у сусло здійснюється їх підготовка. В умовах мікробіологічної стерильності відбувається накопичення біомаси дріжджів у кількості, яка необхідна для початку бродіння.

У процесі бродіння пивного сусла розрізняють дві стадії.

На першій стадії (головне бродіння) зброджується основна маса цукрів пивного сусла. Результатом цього процесу є молоде пиво. Бродіння проводять за певним температурним графіком. Тривалість головного бродіння залежить від режимів бродіння, хімічного складу початкового сусла, від кількості внесених дріжджів і т. д. і складає від 7 до 12 діб.

Після закінчення головного бродіння молоде пиво за температури не більше 5°C перекачують на доброджування (друга стадія) та дозрівання. Осілі дріжджі збирають, проціджують, промивають водою за температури 1-2°C. Після цього дріжджі готові до повторного використання. Зберігають рідкі дріжджі протягом двох діб під водою за температури 1-2°C. Основна мета доброджування – одержання напою з приємним смаком, специфічним для даного виду пива ароматом і достатнім насиченням вуглекислим газом. Тривалість доброджування залежить від сорту пива (від 20 до 90 діб) і регламентована у відповідній нормативно-технічній документації.

Використання ЧКД у виноробстві тісно пов'язане з введенням у практику антисептика – сірчистого ангідриду. Процес цей більш складний, ніж в пивоварінні. Пивне сусло зазвичай готується відносно постійного складу, стерилізується кип'ятінням біля 2 годин, тому внесення ЧКД дозволяє отримувати пиво стандартної якості. Більшість мікроорганізмів не здатні розвиватися в пиві, оскільки пригнічуються протимікробними властивостями хмелю, зниженням рН до 3,8-4,0, утворенням CO₂, анаеробними умовами та збільшенням вмісту етилового спирту.

Якість вина головним чином залежить від сорту винограду та району його культивування, а не від дріжджів. До того ж виноградне сусло *не стерилізується*, і тому в бродінні беруть участь, крім культурних, і епіфітні (поверхневі) дріжджі винограду.

В країнах, які виготовляють вина й використовують ЧКД нерегулярно, бродіння сусла проходить на спонтанній мікробіоті. В нашій країні «Загальними правилами збору і переробки винограду на виноматеріали» рекомендується бродіння для всіх типів вин проводити на ЧКД. Приготування дріжджових розводок і способи їх використання зазначені у відповідних інструкціях. Готову дріжджову розводку вносять у кількості 1-2% до об'єму зброджуваного сусла. Під час переробки хворого та пошкодженого винограду об'єм дріжджової розводки збільшують до 7-10%.

Відомо, що раси винних дріжджів відрізняються між собою за багатьма властивостями: швидкістю розмноження, швидкістю зброджування сусла, сульфітостійкістю, термо- та холодостійкістю, кислотовитривалістю, швидкістю освітлення вин, а також за здатністю утворювати спирт.

Названі властивості враховують при доборі культури дріжджів для бродіння сусла в різних умовах. Тільки з використанням ЧКД можна отримати напої з наперед заданою якістю, тому що внесена в сусло розводка ЧКД потрапляє в оптимальні умови, дріжджі енергійно розмножуються, пригнічують розвиток дикої мікробіоти, активно проводять бродіння, швидко

виброджують вуглеводи.

До дріжджів, які використовують у промисловості, висувають такі вимоги:

- здатність до глибокого виброджування сусла;
- сульфітостійкість;
- холодо- та термостійкість;
- висока спиртоутворювальна здатність при високій концентрації цукрів у суслі (більше 22%);
- пилкоподібна структура осаду - за необхідності більшого контакту дріжджів із середовищем, при зупинці бродіння;
- пластівцеподібна структура осаду (конгломератні раси) - для кріплених виноматеріалів, із метою швидкого освітлення виноматеріалів, для шампанізації вин;
- ароматоутворення;
- стійкість до спирту, кислот, антисептиків.

Особливе значення мають дріжджі, оптимальна температура яких не співпадає з оптимальними температурами МКБ, тобто створюються несприятливі умови для останніх.

Виноградне сусло потрапляє на бродіння нестерильним і навіть при хорошому відстоюванні із сульфитацією містить в 1 см³ десятки тисяч клітин епіфітних дріжджів. Якщо невелику кількість культурних дріжджів внести у велику ємність із суслом, то спонтанна мікробіота, яка міститься в суслі в значній кількості, пригнічує розвиток ЧКД. Тому ЧКД необхідно попередньо розмножити для того, щоб вона могла своєю чисельністю подавити природну мікробіоту.

Винзаводи, пивзаводи отримують ЧКД або у вигляді колоній на твердому середовищі, або у вигляді осаду в рідкому, або імпортованих сухих дріжджів. Із ЧКД готують розводку – це поступове збільшення біомаси та активності ЧКД. Під час приготування розводки необхідно дотримуватися стерильності. Готують її в два етапи спочатку в лабораторних умовах, а потім - у виробничих.

Для того, щоб забезпечити нормальне бродіння, у виноробстві вносять від 3% (за об'ємом) дріжджової розводки на початку сезону та знижують до 1% в другій половині сезону. При переробці хворого або пошкодженого винограду кількість розводки збільшують до 5-10%.

На великих сучасних підприємствах розводку готують безперервним способом у потоці. Вона має містити 100- 150 млн/см³ дріжджових клітин. Для забезпечення бродіння сусла на ЧКД необхідно, щоб кількість її клітин у суслі була приблизно в 10 разів більша, ніж містилося епіфітних дріжджів у суслі до внесення ЧК.

Використання ЧКД у виробництві вина має цілий ряд переваг:

- процес бродіння проходить рівномірно;

- не розвиваються шкідники бродіння;
- збільшується вихід спирту;
- зменшується термін бродіння;
- вино має чистий смак і приємний аромат;
- освітлення відбувається швидко завдяки щільному осаду, властивому ЧКД;
- молоде вино більш стійке до захворювань при зберіганні.

4. Для контролю відбирають середню пробу з кожної бродильної ємності. Контроль проводять на різних стадіях бродіння з метою усунення недоліків перебігу процесу. Навіть при нормальному ході бродіння контролюють кожну однорідну партію.

Про перебіг процесу судять із виділення CO_2 , зменшення питомої ваги цукрів, підвищення температури сусла. Вимірювання проводять на початку заброджування й надалі під час бродіння два-три рази до зняття з дріжджів. Результати відзначають на графіку, який викреслюють для кожної партії при бродінні в бочках і для кожної великої ємності.

При уповільненні ходу бродіння для з'ясування причин цього визначають вміст SO_2 і фізіологічний стан дріжджів: відсоток дріжджів із глікогеном і тих, що брунькуються, відсоток мертвих клітин, наявність диких дріжджів і бактерій. Підраховують кількість дріжджів в 1 см^3 сусла, яке бродить, перевіряють бродильну енергію чистої культури й дають рекомендації. При цьому кількість мертвих клітин, диких дріжджів і бактерій повинна бути мінімальною (до 1 %).

Щоб уникнути відхилень у ході бродіння, краще зброджувати виноградне сусло за температури $16-20^\circ\text{C}$. Температура бродіння вище 30°C знижує життєздатність дріжджів, вони відмирають і автолізується. Бродіння сповільнюється, вина залишаються із значною кількістю незбродженого цукру, що сприяє розвитку молочно- та оцтовокислих бактерій. Температура бродіння підтримується за допомогою холодильних установок або теплообмінників.

Під час мікробіологічного контролю сусла, яке бродить, необхідно правильно оцінювати фізіологічний стан дріжджів на підставі мікроскопії. Існують декілька стадій, із яких кожна характеризує певний ступінь біохімічного процесу, співвідношення живих і мертвих клітин.

Стадія *розмноження* характеризується активним брунькуванням клітин, які мають тонку оболонку, гомогенну цитоплазму та невеличкі вакуолі. Дочірня клітина менша за материнську, від якої вона відбрунькувалася, має однорідну плазму й тонку оболонку, в клітині немає глікогену, тому йодом (розчин Люголя) вона забарвлюється в жовтий колір (відсутня характерна реакція на крохмаль). Після стадії розмноження настає стадія бродіння.

Бродіння. Дріжджі переважно поодинокі, цитоплазма зерниста, вакуолі дрібні. У клітинах багато глікогену й жиру, йодом клітини забарвлюються в

червоно-брунатний колір (реакція на крохмаль).

Голодування. Стадія починається після зброджування цукру. Дріжджі осідають на дно рідини й починають витрачати глікоген, тому йодом клітини забарвлюються в жовтий колір, краплини жиру – в червоний.

Відмирання. При тривалому зберіганні в осаді без доступу кисню повітря клітини починають відмирати, вони деформуються, цитоплазма відстає від оболонки. Оболонка мертвих клітин легко пропускає барвник, тому розчином метиленового синього 1:10000 вони забарвлюються в синій колір.

Автолиз. Це розкладання клітин під дією власних гідролітичних ферментів. Відбувається розпад білків, вуглеводів, нуклеотидів та інших компонентів і вихід їх у середовище.

Описані п'ять стадій послідовно змінюють одна одну. За певних умов спостерігаються ще дві стадії розвитку.

Стадія спокою настає, якщо дріжджі довго знаходяться в осаді при доступі кисню повітря. У цій стадії дріжджі живляться органічними кислотами. Вони мають жир, глікоген, щільну оболонку. У стадії спокою дріжджі стійкі до зовнішніх несприятливих умов.

Стадія споруутворення настає при різкому переході від достатнього живлення до голодування за умови наявності вологи та кисню повітря. У клітинах утворюються дві, чотири або вісім спор.

Для визначення споруутворення дріжджі вирощують на середовищі Городкової, потім мікроскопують у препараті «роздавлена крапля» та проводять забарвлення спор.

5. Мікробіологічний контроль виноматеріалів і вин здійснюють протягом усього технологічного процесу.

Проби відбирають стерильно від однорідної партії вина, а за потреби – з кожної ємності. Якщо вино довго залишалося на відпочинку, проби відбирають із товщі вина і обов'язково – з осаду. Стерильною піпеткою з середньої проби відбирають вино об'ємом 10 см³ і центрифугують 10 хв. при 25 с⁻¹. Осад після центрифугування мікроскопують.

В оброблених винах допускається наявність однієї-двох клітин мікроорганізмів у 10 полях зору препарату. За наявності мікроорганізмів у кожному полі зору вино вважають інфікованим і піддають подальшому дослідженню:

– столові вина випробовують на схильність до помутніння, яке викликають дріжджі та оцтовокислі бактерії. Для посіву вина на дріжджі та оцтовокислі бактерії використовують середовище вино- цукор-агар або вино з цукром. Для вирощування оцтовокислих бактерій можна використовувати вино з виноградним суслом, для вирощування дріжджів – виноградне сусло або сусло-агар;

– всі типи вин випробовують на схильність до помутніння, яке

спричиняють молочнокислі бактерії. Для посіву на наявність МКБ можуть бути використані середовища з автолізу дріжджів, капустяного відвару, розбавленого виноградного сусла, до яких додають спирт, щоб попередити розвиток сторонніх бактерій і дріжджів.

Експериментальні дослідження.

Основним методом оцінки мікробіологічної стійкості вин і виноматеріалів є визначення часу розвитку мікроорганізмів у відібраній пробі в елективних середовищах і мікроскопія.

Спостереження за розвитком дріжджів і оцтовокислих бактерій ведуть протягом 6 діб, а молочнокислих бактерій – 15 діб.

Для оцінки стійкості вина користуються таблицею 9.1. Мікробіологічний стан вина оцінюють за таблицею 9.2.

Хворим або нестійким вважаються виноматеріал або вино, в яких знайдено зростання хоча б одного зі вказаних у таблиці оцінки мікробіологічної стійкості виноматеріалів і вин мікроорганізмів.

Таблиця 9.1 Оцінка мікробіологічної стійкості виноматеріалів і вин

На яку добу помічено розвиток мікроорганізмів	Оцінка мікробіологічного стану вина під час розвитку				
	Мікроміцетів		Оцтово-кислих бактерій	Суміші дріжджів і оцтовокислих бактерій	Молочнокислих бактерій
	винних дріжджів	плісневих грибів			
Перша	Нестійке	Здатні до захворювання, а за наявності характерних змін – хворе на цвіль	Хворе	Хворе	Спостереження за посівом починають через три доби
Друга	Нестійке	Якщо вино каламутне – початкова стадія захворювання; якщо вино прозоре – нестійке	Хворе	Хворе	
Третя	Нестійке	Нестійке	Нестійке	Нестійке	Здатне до захворювання, а за наявності характерних змін – хворе
Четверта	Стійке	Стійке	Нестійке	Нестійке	Нестійке
П'ята	Стійке	Стійке	Нестійке	Нестійке	Нестійке
Шоста	Стійке	Стійке	Стійке	Стійке	Нестійке

Непрямим показником хворого вина є концентрація летких кислот, яка перевищує допустиму, а також сторонні тони при органолептичній оцінці.

Нестійкий, хворий виноматеріал обробляють за схемою: пастеризація -

фільтрація - сульфитація. Такі виноматеріали ретельно контролюють і використовують для купажування ординарних виноматеріалів.

Виноматеріали з високою титрованою кислотністю й наявністю бактерій типу молочнокислих кислотознижувачів перевіряють хроматографічним методом на наявність яблучної кислоти.

При виявленні яблучної кислоти вирішують питання про залишення виноматеріалу для окремих типів вин до закінчення яблучно-молочного бродіння або припинення цього бродіння стерилізацією.

Підготовлене до розливу вино контролюють мікроскопією осаду після центрифугування проби. У препараті з такого вина допускається наявність 1-2 клітин мікроорганізмів у 10 полях зору. Таке вино має бути стійким до біологічних помутнінь. Для напівсолодких і столових вин рекомендовані пастеризація перед розливом, гарячий розлив, сульфитація.

Таблиця 9.2 Шкала оцінки мікробіологічного стану вина

На яку добу помічено розвиток мікроорганізмів	Оцінка мікробіологічного стану вина під час розвитку				
	Дріжджів		Оцтово-кислих бактерій	Суміші дріжджів і оцтово-кислих бактерій	Молочнокислих бактерій у посіві вина на поживні середовища
	винних	плівчастих			
Перша	Нестійке	Здатні до захворювання, а за наявності характерних змін – хворе на цвіль	Хворе	Хворе	Спостереження за посівами починають через 3 доби
Друга	Нестійке	Якщо вино каламутне – початкова стадія захворювання; якщо вино прозоре – нестійке	Нестійке	Хворе	Спостереження за посівами починають через 3 доби
Третя	Нестійке	Нестійке	Нестійке	Нестійке	Для високо-кислотних столових сухих вин процес яблучно-молочного бродіння; для інших – захворювання вина
Четверта	Стійке	Стійке	Нестійке	Нестійке	Нестійке
П'ята	Стійке	Стійке	Нестійке	Нестійке	Нестійке
Шоста	Стійке	Стійке	Стійке	Стійке	Нестійке
Сьома	Стійке	Стійке	Стійке	Стійке	Стійке
П'ятнадцята	Стійке	Стійке	Стійке	Стійке	Стійке

6. Протягом усього технологічного процесу солод, сусло під час зброджування, фільтрації тощо піддаються впливу сторонньої мікробіоти.

Джерелом інфікування їх є повітря, вода, устаткування, тара, засівні дріжджі. Сусло та готове пиво містять багато поживних речовин для мікроорганізмів, однак значною мірою їх розвиток гальмується бактерицидною дією екстракту з хмелю, низьким рівнем кислотності (рН 4,1-4,4) та температури, відсутністю кисню, надлишковим вмістом CO₂ та наявністю спирту.

Загальний санітарно-гігієнічний контроль технологічного процесу виробництва пива спрямований на систематичний контроль води, повітря, устаткування, а також чистоти рук обслуги на наявність БГКП.

Експериментальні дослідження

Мікробіологічний контроль продукту включає визначення кількості МАФАНМ, наявності БГКП, патогенних мікроорганізмів, а також збудників псування в залежності від виду пива.

У таблиці 9.3 наведені допустимі рівні показників мікробіологічної безпеки пива.

Таблиця 9.3. Мікробіологічні показники якості пива

Вид пива	МАФАНМ, КУО/см ³	Об'єм (см ³), у якому не допускається:		
		БГКП	патогенні, в тому числі сальмонели	дріжджі та плісневі гриби
Розливне	-	1,0	25	-
Непастеризоване				
у кегах	-	3,0	25	-
у пляшках	-	10	25	-
Пастеризоване та знепліднене	500	10	25	40

Перед аналізуванням пиво підігрівають для видалення надлишку CO₂. Достатню кількість пива відбирають у стерильний посуд і витримують на водяній бані за температури від 30 до 37°C, обережно збовтуючи, доки виділяються бульбашки газу.

ЛЕКЦІЯ 10

Тема 10. Мікробіологія консервів та плодоовочевої продукції.

1. Організація мікробіологічного контролю консервного виробництва.
2. Мікробіологічний контроль сировини та допоміжних матеріалів.
3. Контроль готової продукції на промислову стерильність.
4. Мікробіологічний контроль харчових концентратів, сушених плодів і овочів.

1. Якість продуктів, що піддаються консервуванню, й стійкість готових консервів при зберіганні нерозривно пов'язані із санітарно-гігієнічним станом консервного виробництва.

Технологія та організація виробництва консервів внаслідок різноманіття їх асортименту дуже складні, а компоненти консервів під впливом мікробіоти схильні до швидкого псування. Неправильне проведення технологічного процесу, низький рівень санітарії або порушення режимів стерилізації неминуче призводять до зниження якості консервів, а іноді й до псування продукції на виробництві.

Головне завдання й призначення мікробіологічного контролю консервного виробництва – забезпечення випуску доброякісних консервів. Мікробіологічний контроль дозволяє своєчасно встановити й об'єктивно оцінити зміни в основній сировині, напівфабрикатах, допоміжних матеріалах, внести корективи в роботу зміни або цеху та зберегти якість продукції.

Мікробіологічний контроль на всіх етапах консервного виробництва здійснюється мікробіологічними лабораторіями підприємств на підставі державних стандартів, інструкцій, методичних вказівок, стандартів організацій України та інших документів із метою забезпечення випуску продукції гарантованої для здоров'я та життя людини якості. Діяльність цих лабораторій регламентується чинною інструкцією.

Гармонізація вимог до якості продукції з міжнародними та європейськими стандартами, впровадження системи НАССР – аналізу продукції в критичних контрольних точках – як ефективної превентивної системи контролю якості дозволяють ліквідувати ризики для здоров'я, пов'язані із вживанням харчових продуктів.

Для харчових продуктів застосовують два способи контролю: *вибірковий* і *суцільний*. При *вибірковому* контролі відбирають деяке число зразків, а результати його поширюють на всю партію. Цей спосіб застосовують лише для однорідних партій, а також при задовільних санітарно-гігієнічних умовах виробництва та точному дотриманні всіх технологічних режимів. При неоднорідності партій застосовують *суцільний* контроль, який полягає в дослідженні кожної одиниці виробленої продукції.

При виробництві консервів суцільний контроль за бактеріологічними показниками неможливий, тому що довелося б розкривати всі банки. Бактеріологічне дослідження консервів здійснюють вибірково, а в якості

суцільного контролю для певних видів консервів проводять витримку їх на складі.

Мікробіологічна лабораторія підприємства контролює санітарний стан первинних пунктів обробки сировини, сировинних майданчиків, виробничих приміщень, автоклавних і складських приміщень, транспортної та споживчої тари, технологічного обладнання, способів і засобів їх санітарної обробки, сировини, матеріалів, напівфабрикатів, води, консервів перед стерилізацією, додержання особистої гігієни працівниками підприємств.

Санітарно-бактеріологічне дослідження обладнання, інвентарю, тари.

Контроль санітарного стану устаткування та інвентарю займає важливе місце в системі профілактичних заходів. Порядок і методи санітарної обробки обладнання та інвентарю (поточна та заключна дезінфекція) регламентовані спеціальними інструкціями.

Результати візуального огляду та мікробіологічного контролю реєструють у спеціальних журналах. Мікробіологічний контроль проводять згідно кратності, вказаній в інструкції. Окремо вказують специфічні збудники псування: термофіли, бактерії роду *Proteus* тощо.

Не рідше двох разів на місяць здійснюється бактеріологічне дослідження обладнання. Санітарний стан устаткування, обладнання та інвентарю перевіряють після миття, безпосередньо перед початком роботи технологічної лінії, з метою виявлення джерела підвищеного бактеріального забруднення консервів перед стерилізацією, джерел надходження мезофільних і термофільних анаеробів - збудників бомбажу, термофільних бацил - збудників плоскокислого псування консервів, а також при з'ясуванні причин підвищеного вмісту мікроорганізмів у готовій продукції та браку консервів.

Для контролю чистоти більшості об'єктів визначають кількість МАФАНМ, а також наявність бактерій групи кишкових паличок. Останній показник вважається основним.

У спеціальних випадках установлюють наявність облігатних анаеробів, термофілів, дріжджів і плісневих грибів та іншої мікробіоти.

Для контролю якості миття й дезінфекції інвентарю проби для бактеріологічного аналізу відбирають у той момент, коли інвентар підготовлений до роботи. З дрібного інвентарю мазки беруть стерильним тампоном зі всієї поверхні предмета та досліджують із метою визначення загальної кількості бактерій і наявності бактерій групи кишкових паличок.

На консервних заводах для виявлення облігатних анаеробів і термофілів роблять змиви або беруть частинки продукту з важкодоступних для миття ділянок обладнання, а для виявлення термофілів – і з ділянок з підвищеною температурою. Висів роблять на елективні середовища.

У консервному виробництві регламентується максимальна кількість МАФАНМ на поверхні обладнання як 300 КУО/см², у м'ясопереробному - 1000 КУО/см², а на деяких виробництвах – не передбачена, але повинна бути мінімальною/

Після проведення генеральної санітарної обробки кількість МАФАНМ на 1 см² поверхні стінок автоклава та сіток не повинна перевищувати 30 КУО. Промивна вода після санітарної обробки апаратів, які постійно діють, за мікробіологічними показниками повинна відповідати вимогам стандарту на питну воду.

У змиві зі 100 см² поверхні обладнання бактерії групи кишкових паличок, а також бактерії роду *Proteus* не допускаються.

Для оцінки санітарного стану інвентарю та устаткування існує вибір між візуальним і мікробіологічним контролем. Ці традиційні методи мають недоліки: візуальний – суб'єктивний і не є достатнім, оскільки забруднення може бути невидимим, а мікробіологічний аналіз - довготривалий і для деяких одиниць устаткування не є щоденним дослідженням. Зараз існують портативні зручні прилади для моніторингу гігієни виробництва, які дають чіткі результати всього за 1-2 хвилини й тим самим звільняють час для вжиття необхідних заходів ще до запуску технологічної лінії.

Санітарно-бактеріологічне дослідження тари, кришок.

У досліджувану банку наливають певний об'єм стерильної водопровідної води або пептонно-сольового розчину (зазвичай 50 см³), закривають стерильною кришкою й струшують 5 хвилин. У чашку Петрі вносять 1 см³ змивної води і заливають МПА для визначення кількості бактерій або СА для визначення пліснявих грибів і дріжджів.

Змиви з кришок роблять стерильними ватяними тампонами та поміщають їх у колбу зі стерильною водопровідною водою. Кількість МАФАНМ визначають глибинним методом посіву в чашки Петрі. Забрудненість розраховують на всю поверхню кришки.

Комбіновані матеріали, фольгу, плівку для пакування харчових продуктів розгортають і з внутрішньої сторони беруть змив стерильним ватяним чи марлевым тампоном із 100 см² поверхні з використанням трафаретів. Визначають кількість МАФАНМ, наявність БГКП і плісневих грибів.

Кількість МАФАНМ на внутрішній поверхні кожної одиниці тари для консервів, які стерилізуються (пастеризуються), не повинна перевищувати 500 клітин для тари місткістю більше 1 дм³ та 100 клітин для тари місткістю до 1 дм³ включно.

На внутрішній поверхні тари для консервів, які виготовляються із застосуванням гарячого розливу без подальшої стерилізації (пастеризації), та на внутрішній поверхні кришок (кроненпробок) допускаються не більше 10 КУО мікроорганізмів групи *B. subtilis*. Неспороутворювальні мікроорганізми, плісняві гриби та дріжджі не допускаються.

Контроль особистої гігієни персоналу.

Усі працівники підприємства зобов'язані дотримуватися правил особистої гігієни. Особливо суворо слід дотримуватися заходів, що гарантують попередження поширення фекального забруднення через взуття, одяг, руки

працівників.

Перед початком роботи працівники виробничих цехів повинні одягати чистий санітарний чи спеціальний одяг, мити руки з милом і дезінфікувати їх розчином хлорного вапна (0,2%) або хлораміну. Голову необхідно пов'язувати косинкою або одягати ковпак і підбирати волосся; не дозволяється зачіпати одяг шпильками, голками, приносити в цех у кишенях одягу дзеркало, інші дрібні предмети.

Мікробіологічний контроль рук і одягу персоналу проводять не рідше 2 разів на тиждень, тому що руки персоналу безпосередньо контактують з харчовими продуктами. Бактеріальну забрудненість рук і одягу визначають шляхом дослідження мікробіоти змивів. Беруть змиви з рук перед початком зміни або після перерви в роботі. Контролюють кількість МАФАНМ і наявність кишкової палички як показника свіжого фекального забруднення.

Чистоту рук оцінюють за кількістю мікроорганізмів у 100 см³ змиву:

- відмінно-до 1000;
- добре - 1000-5000;
- задовільно - 5000-10000;
- погано - більше 10000.

Змиви з санітарного одягу (халатів, фартухів тощо) беруть 2 рази на місяць перед початком роботи, протираючи 4 площини по 25 см² (нижня частина кожного рукава й 2 площини з верхньої частини спецодягу). Подальша робота проводиться аналогічно досліджуванню обладнання та інвентарю.

БГКП повинні бути відсутні.

2. Мікробіологічна характеристика плодоовочевої сировини.

Різноманіття факторів і умов, що впливають на кількісний і якісний склад епіфітної (поверхневої) мікробіоти, а також численність ботанічних видів і сортів плодоовочевої продукції обумовлюють різкі відмінності в складі її мікробного населення. Контамінанти плодоовочевої сировини представлені як типовими, так і випадковими видами мікробів, що заносяться з ґрунту, обладнання, тари, інвентарю, транспортних засобів тощо. Серед епіфітної мікробіоти можуть зустрічатися сапрофітні, фітопатогенні та патогенні для людей і тварин мікроорганізми.

Основним джерелом контамінації рослинної сировини є ґрунт.

З ґрунту та іншими шляхами на плодоовочеву продукцію можуть потрапляти дизентерійні палички, черевнотифозні бактерії, стафілококи, збудники ботулізму та інші патогенні для людини мікроорганізми, які здатні досить довго зберігати свою життєздатність – від 1 до 12 і більше місяців.

Кількісний склад мікробіоти дозволяє судити про специфічні особливості свіжої плодоовочевої продукції, про рівень її інфікування мікроорганізмами та ефективності подальшої термічної обробки при консервуванні. Якісний склад мікробіоти рослинної сировини дозволяє судити

про можливість епідеміологічної небезпеки та доброякісності продукції.

Епіфітну мікробіоту можуть складати інертні мікроорганізми, які не завдають шкоди продукції та людям, однак за певних умов здатні спричиняти різного роду захворювання в людей – інфекційні хвороби, харчові отруєння тощо. Зокрема *C. botulinum* є причиною дуже важкого харчового отруєння іноді з летальними наслідками.

Широке поширення *C. botulinum* в природі зумовлює його потрапляння на плоди, овочі, прянощі та інші об'єкти. За силою дії ботулінічний токсин, який є нейротоксичним білком, значно перевершує всі інші відомі хімічні та бактеріологічні отрути.

Широко поширений у природі *Staphylococcus aureus* вельми небезпечний у зв'язку з тим, що до 50% виділених його штамів здатні навіть у лабораторних умовах виробляти ентеротоксини. Вони представляють нерозгалужені поліпептидні ланцюжки з відносно високим вмістом лізину, тирозину, аспарагінової та глютамінової кислот.

Імовірність виявлення небезпечного для здоров'я людей *Clostridium perfringens* на листі зелених рослин становить до 61%, на моркві, цибулі, часнику та інших – до 34%.

На поверхні рослин можуть бути присутні плісняві гриби, які продукують мікотоксини. Мікотоксини – глобальна біологічна, екологічна та економічна проблема. За походженням це – вторинні токсичні метаболіти мікроскопічних грибів. За останні півстоліття вони визнані одним із найбільш шкідливих агентів для здоров'я людини і тварин. Їхня токсична дія перевершує шкідливий вплив відомих токсикантів – синільної кислоти та стрихніну, а за кількістю летальних випадків серед людей і тварин – пестициди.

Особливістю небезпеки мікотоксинів для здоров'я людини та тварин є їхня здатність проявляти дію в мікродозах, що іноді не піддаються сучасним методам виявлення. Захворювання, обумовлені мікотоксинами (мікотоксикози), як правило, не мають характерної клінічної картини або ж перебігають безсимптомно та ускладнюються вторинною мікробіотою, тому реєструються під іншими діагнозами. Здатність продукувати мікотоксини мають, наприклад, *Aspergillus flavus*, *A. clavatus*, *A. parasiticus*, *Penicillium patulum*, *P. expansum*, *P. urticae*, *P. islandicum*, *P. rugulosum*, *Fusarium solani*, *F. nivale*, *F. tricinctum* та багато інших.

Установлено, що один і той же вид мікроміцетів здатен утворювати кілька мікотоксинів, а деякі мікотоксини знайдені в метаболітах грибів декількох видів. Наприклад, антрахінон утворюють *P. islandicum*, *P. Rugulosum*, бутенолід - *P. patulum*, *P. expansum*, *P. urticae*, охратоксин А - *P. ruberulum*, *P. viridicatum*, циклопептид - *P. islandicum*, рубратоксини - *P. rubrum*, *P. purpurogenum*, цитреовіридин і цитринні - *P. citrinum*, *P. citrioviride*, *P. viridicatum*.

Значна кількість мікотоксинів має віддалені ефекти: тератогенний, мутагенний, ембріотоксичний, канцерогенний. Для них характерна імунно-

супресивна дія та відсутність сенсibiliзуючих властивостей, що негативно відбивається на здоров'ї людей і тварин. У зв'язку з цим органами охорони здоров'я встановлені гранично допустимі концентрації їх у рослинних продуктах.

Мікроорганізми, здатні вражати різні рослинні об'єкти, вважаються поліфагами, а ця їх здатність називається поліфагією. До таких представників відноситься *Rhizopus nigricans* – він вражає яблука, груші, айву, персики, абрикоси, ожину, томати, моркву тощо. Гриби-монофаги вражають тільки певний вид плодовоовочевої продукції. Наприклад, *Phoma rostrupii* вражає тільки моркву, *Phoma betae* - буряк, *Botrytis allii* – цибулю.

Стерилізація, нагрівання, кип'ятіння, заморожування, обробка в мікрохвильовій печі малоєфективні для зниження вмісту багатьох токсинів у рослинному матеріалі.

Часто виявляють певну залежність між ступенем забруднення продукту спорами токсиногенних штамів грибів і наявністю токсинів. Однак постійна й чітка кореляція відсутня, оскільки зовнішні та внутрішні умови по-різному впливають на ріст грибів та токсиноутворення, тому лише за ступенем забруднення продукту спорами грибів не можна оцінити наявність токсинів і їх небезпечність.

Із мікотоксинів у соковитій рослинній сировині та продуктах її переробки регламентований лише патулін.

Продуценти патуліну вражають переважно фрукти та овочі. Токсин виявлений у яблуках, грушах, абрикосах, персиках, черешні, винограді, бананах, полуниці, обліписі, томатах і деяких фруктових соках. За даними різних авторів вміст патуліну в яблуках знаходиться в межах від 0,02 до 17,7 мг/кг. У яблуках, уражених гниллю, його концентрація сягала 100 мг/кг. В яблуках патулін концентрується в основному в ураженій гниллю частині, тоді як у томатах незалежно від розміру ураженої ділянки він розподіляється рівномірно по всій тканині.

Патулін був уперше виділений у 1943 році з культури *P. patulum*, а пізніше – з культури *P. expansum* як антибіотик. Установлення високої токсичності, мутагенних і канцерогенних властивостей патуліну, а також його роль як забруднювача харчових продуктів змушує визнати його особливо небезпечним мікотоксином. У зв'язку з цим періодичність контролю рослинної сировини та допустимий вміст у ній патуліну регламентується органами охорони здоров'я. Наприклад, на наявність патуліну в плодово-ягідних і плодовоовочевих консервах, а також у овочах, картоплі, фруктах, винограді встановлена періодичність контролю один раз на місяць і один раз у квартал відповідно.

Мікробіологічне дослідження сировини та допоміжних матеріалів.

Крім овочів, фруктів, ягід, консервна промисловість переробляє різні види сировини: рибу, гідробіонти, м'ясо, молоко, гриби тощо.

Всі види сировини та допоміжних матеріалів, що надходять на

переробку, повинні мати сертифікати відповідності, висновки державної санітарно-гігієнічної експертизи або інші посвідчення якості.

Найважливішою умовою випуску безпечної продукції є висока якість сировини та всіх інших її компонентів, тому передбачений їх ретельний контроль, у тому числі за мікробіологічними показниками.

Мікробну контамінацію сировини, напівфабрикатів і допоміжних матеріалів контролюють:

- у випадках виявлення в консервах перед стерилізацією підвищеної кількості МАФАНМ або присутності в 0,1 г (см³) продукту загального призначення або в 0,5 г (см³) продукту для дитячого харчування спор мезофільних клостридій;

- у випадках виявлення в консервах перед стерилізацією спор термофільних мікроорганізмів – збудників бомбажу або прокисання продукту.

Не допускаються на переробку сировина, допоміжні матеріали, які пошкоджені гниллю, пліснявою, вміщують забруднення хімічного та біологічного походження в кількостях, що перебільшують допустимі рівні згідно нормативної документації.

Санітарний стан сировини залежить від багатьох факторів: походження, умов зберігання, підготовки (бланшування, обжарювання тощо), і значною мірою обумовлює рівень вмісту мікроорганізмів у продукті, який консервується. З огляду на це встановлена гранична кількість їх в 1 г (см³) для кожного виду сировини. Як приклад у табл. 10.1 наведена допустима кількість МАФАНМ в 1 г (см³) деяких видів рослинної сировини та маса, в якій не допускаються збудники псування консервів.

Експериментальні дослідження.

Контроль кожної нової партії сировини включає органолептичну оцінку, технічний аналіз, а також бактеріологічне дослідження.

До допоміжних матеріалів відносять сіль, цукор, спеції, прянощі, оцет та інші кислоти, які додають для надання продукту смаку, аромату, регулювання кислотності тощо, а також воду, яка є складовою частиною багатьох продуктів.

Мікробіологічні показники деяких видів сировини указані у таблиці 10.1.

Воду, яку використовують для виготовлення консервів і охолодження їх після стерилізації або пастеризації, контролюють на відповідність вимогам ДСТУ на питну воду та відсутність спор мезофільних клостридій у 100 см³. У випадку виявлення спор мезофільних клостридій у воді проводять мікробіологічні дослідження готової продукції.

Мікробіологічне дослідження якості миття сировини.

При виготовленні консервів з соковитої рослинної сировини – овочів, фруктів, ягід, м'ясо-рослинних, рибо-рослинних консервів – багато

мікроорганізмів може бути занесено з рослинами, забрудненими ґрунтом. Серед ґрунтових мікроорганізмів є здатні утворювати дуже терmostійкі спори, які можуть зберегтися в консервах після стерилізації. Це, зокрема, бактерії групи *subtilis-licheniformis*, маслянокислі, в тому числі *Clostridium botulinum*, гнильні – *C. putrificum*, *C. sporogenes*, більшість термофільних мікроорганізмів – збудників плоскокислого, бомбажного та сульфідного псування.

Отже, рослинну сировину, і зокрема бобові, коренеплоди, потрібно ретельно мити.

Таблиця 10.1. Мікробіологічні показники деяких видів сировини

Найменування сировини та матеріалів	Допустима кількість МАФАнМ в 1 г (см ³), КУО, не більше	Маса, г (см ³) продукту, в якій не повинні виявлятися		
		спори мезофільних клостридій	спори термофільних клостридій	спори термофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів
Борошно, крохмаль	5,0x10 ⁴	0,01	0,5	0,5
Крупа	5,0x10 ⁴	0,01	0,5	0,5
Овочі та гриби після миття	5,0x10 ⁴	0,1	0,5	0,5
Овочі та гриби бланшовані	1,0x10 ⁴	0,1	0,5	0,5
Зелень свіжа (суміш)	7,5x10 ⁴	0,1	0,5	0,5
Овочі сушені	5,0x10 ⁵	0,01	0,5	0,5
Цукор, сіль	1,0x10 ³	-	0,5	0,5
Прянощі	1,0x10 ⁶	0,1	0,1	0,1
Екстракти прянощів	1,0x10 ²	-	-	-

При дослідженні якості миття користуються методом змивання мікроорганізмів стерильною водою до миття, а потім після мийної машини, з подальшими посівами десятикратних розведень відповідних змивів на поживні середовища. У посуд зі стерильною водою вносять продукт. Масу його для дотримання стерильності краще за все визначити за різницею: маса посуду з водою і продуктом мінус маса до внесення продукту. Пробу струшують 5 хвилин круговими рухами для змивання й рівномірного розподілу мікроорганізмів.

Для визначення кількості бактерій 1 см³ змивної води висівають у чашку Петрі глибинним методом під МПА. Якщо передбачається значна забрудненість продукту, висіви роблять з десятикратних розведень. Після термостатування посівів протягом 24-48 годин при 30°C, число мікроорганізмів

(КУО/г) розраховують за формулою:

$$X = a \cdot 10^n \cdot V/q \cdot m, \quad (10.1)$$

де a - число колоній, які виросли в чашці, що відповідає числу бактерій у засіяному в ній об'ємі води, КУО;

10^n - коефіцієнт розведення (наприклад, при висіві з четвертого розведення $n = 4$, $a \cdot 10^n = 10000$;

q - об'єм змивної води, внесений при посіві в чашку, зазвичай беруть $q = 1 \text{ см}^3$, іноді $0,5 \text{ см}^3$;

m - маса продукту, внесеного в посуд для змивання мікроорганізмів, г;

V - загальний об'єм змивної води в посуді для змивання, см^3 .

Описаним вище методом контролюють технологічний процес, відбираючи й аналізуючи проби продукту на різних його етапах.

Для оцінки якості (ефективності) миття сировини (X) визначають відсоток змивання мікроорганізмів за формулою:

$$X = ((A - B)/A) \cdot 100\%, \quad (10.2)$$

де A - кількість МАФАНМ на сировині до миття, КУО/г;

B - кількість МАФАНМ після миття, КУО/г.

Якість миття вважається задовільною, якщо змивання мікроорганізмів становить не менше 90%, тобто число їх знижується в 10 і більше разів.

Аналогічно можна контролювати санітарний стан обладнання, порівнявши мікробне забруднення продукту до надходження в апарат, машину або ділянку лінії та на виході з них.

Допустиму кількість мікроорганізмів у сировині та продукті на окремих технологічних операціях установлює мікробіолог заводу на основі результатів багаторазових досліджень, які гарантують допустимий рівень забруднення продукту перед термічною обробкою.

3. В залежності від величини рН та вмісту сухих речовин консерви відносять до однієї з 6 груп.

А. Консерви, які мають $\text{pH} > 4,2$ і інші консерви, виготовлені без нормованого внесення кислоти (крім томатопродуктів). Сюди відносяться консерви: м'ясні (м'ясо тушковане, паштет м'ясний і печінковий, м'ясо-рослинні, салобобові тощо), рибні (натуральні, в томатному соусі, в олії, рибоовочеві, рибні паштети, тюфтелі і т. п.), овочеві закусочні (фаршировані баклажани, кабачки, перець, томати, кабачки і баклажани нарізані кружками, овочева ікра, перець різаний із овочами або з овочевим фаршем і рисом, токана овочева й т. п.), овочеві натуральні (горошок зелений, кукурудза цукрова, морква, буряк, квасоля стручкова, капуста цвітна, спаржа і т.п.), обідні (перші та другі страви, в тому числі з м'ясом), заправки та консерви- напівфабрикати для громадського харчування: гриби натуральні та обідні страви з грибами, солянки овочеві, порепоподібні консерви для дитячого та дієтичного харчування, а також компоти, соки й пюре з абрикосів, персиків і груш з $\text{pH} 3,8$.

Б. Консервовані томатопродукти:

– неконцентровані томатопродукти (цільноконсервовані помідори, помідорні напої, в тому числі: «Сік помідорний», «Помідори натуральні», «Помідори консервовані з зеленню» та ін.);

– концентровані томатопродукти з вмістом сухих речовин 12% та більше (помідорна паста, помідорні соуси та ін.).

В. Консервовані слабокислі овочеві маринади, салати, вінегрети та інші продукти, які мають рН 3,7-4,2, у тому числі огірки консервовані, маринади овочеві та інші консерви з регульованою кислотністю.

Г. Консервована квашена капуста; овочеві маринади з рН нижче 3,7; соки, компоти та пюре з абрикосів, персиків і груш із рН нижче 3,8; фруктові консерви (фрукти протерті з цукром, маринади фруктові, сік виноградний натуральний, компот із фруктів, ревеню та дині, соуси фруктові, соки фруктові з цукром, соки фруктові натуральні, соки фруктові з м'якоттю, соки фруктові концентровані, соки з цитрусових фруктів, варення, джеми фруктові, конфітюри фруктові та інші); консерви для громадського харчування з сорбіновою кислотою та рН нижче 4,0.

Д. Пастеризовані м'ясні та м'ясо-рослинні консервовані продукти (шпиг, солений та копчений бекон, сосиски, шинка та інші).

Е. Пастеризовані газовані фруктові соки та газовані фруктові напої з рН 3,7 і нижче.

Для кожної з наведених груп консервів передбачений спеціальний порядок контролю і відпуску з заводу.

Випуск консервів груп А, Б, В і Д дозволяється тільки на підприємствах, забезпечених мікробіологічними контролем у кожній зміні.

Порядок мікробіологічного контролю якості готових консервів розроблений із урахуванням активної кислотності (рН) продукту, складу його мікробіоти, специфічного для різних видів консервів, а також ступеню термічної обробки (стерилізація або пастеризація). Межею, яка умовно поділяє консерви на кислотні та некислотні (або низько- й середньокислотні) є значення рН 4,2, тому що при нижчих значеннях цього показника, як правило, не може розвиватися *Clostridium botulinum*.

Для кожної групи консервів розроблені режими термічної обробки, які забезпечують загибель мікроорганізмів, здатних спричинити харчові отруєння (наприклад, для консервів з рН > 4,2 це *C. botulinum*) або псування консервів. Абсолютно стерильні консерви виробляють лише в окремих випадках – для космонавтів, лікувального призначення, а більшість продукції промислового виготовлення може містити регламентовані одиничні мікробні клітини – так звану залишкову мікробіоту.

Промислова стерильність - це відсутність у консервованому продукті мікроорганізмів, здатних розвиватися за температури зберігання цих консервів, а також мікроорганізмів і мікробних токсинів, небезпечних для здоров'я людини.

Життєздатні спори мікроорганізмів, що залишилися після термічної обробки, умовно називають *залишковою мікробіотою*.

Залишкова мікробіота консервів може бути розділена на такі групи:

- мікроорганізми, що не впливають на доброякісність консервів;
- мікроорганізми, що спричиняють псування консервів: бомбаж, скисання без газоутворення («плоскокисле псування»), пліснявіння, бродіння та ін.;
- мікроорганізми – збудники харчових отруєнь.

Псування консервів під впливом залишкової термофільної мікробіоти має різні зовнішні прояви. У практиці промислового консервування розрізняють зазвичай три види псування, спричинені термофільними бактеріями: «плоскокисле» псування, бомбаж, сірчановодневе псування.

Плоскокисле псування консервів характеризується прокисанням продукту без зовнішніх змін банки. Кислий продукт може бути злегка розріджений, інколи може статися його розшарування – й маса продукту стає крупічатою. Прокисання спричиняється стеноTERMними бацилами *B. aerothermophilus*, *B. microaerothermophilus*, *B. stearothermophilus*, евриTERMними (які здатні переносити коливання температури в широких межах) термофільними бацилами *B. coagulans* і стеноTERMними клостридіями *C. thermoaceticum*. СтеноTERMні термофіли можуть розвиватися, як правило, лише за температури від 40 до 82°C, і вони більш термостійкі, ніж евриTERMні. Всі вони зброджують вуглеводи з утворенням молочної, оцтової, масляної кислот без видимого газоутворення. Величина pH продукту значно знижується – це один із основних показників розвитку в консервах кислотоутворювальних термофілів. Під впливом продуктів метаболізму мікроорганізми гинуть і не завжди виявляються при посіві зіпсованих консервів.

Збудниками бомбажного псування консервованих продуктів є термофільні клостридії, частіше всього типу *C. thermosaccharolyticum*. Розвиток супроводжується бурхливим утворенням газу – виділяються, в основному, водень і вуглекислий газ (8:1), а також кислот – оцтової, масляної і молочної. Банка роздувається, рідка частина продукту піниться і набуває слабого або яскраво вираженого кислосирного запаху, pH продукту знижується з 7,0 до 4,3 за 16 годин. Білки клостридії цього типу не розкладають. У літературі є дані про те, що в продуктах з помірною кислотністю (pH 5,0-6,4) цей вигляд псування спостерігається частіше, ніж «плоскокисле» псування.

Сірководневе псування консервів виникає в результаті розвитку облігатно-анаеробних термофільних сульфатредуючих клостридій *Desulfotomaculum nigrificans*. У консервах з'являється запах сірководню, продукт чорніє внаслідок розкладання цистеїну білкових сполук із утворенням сірководню, який з'єднується з металом банки і/або кришки, від чого продукт чорніє. Випадки псування консервів під впливом *D. nigrificans* рідкі.

Залишкову мікробіоту стерилізованих консервів складають в основному спори бацил і клостридій. У пастеризованих консервах, окрім цього, можуть зберігатися спори дріжджів і мікроміцетів, вегетативна мікробіота.

Видовий склад залишкової мікробіоти залежить від:

- складу мікробіоти продуктів *перед термічною обробкою*;
- методів і режимів *термічної обробки*.

Залежно від властивостей і видів мікробіологічного браку залишкову мікробіоту ділять на декілька груп.

Мезофільні клостридії. Більшість мезофільних клостридій є сапрофітами, однак є і патогенні – збудники анаеробних інфекцій (правця - *C. tetani*, газової гангрені - *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. histolyticum*), а також токсигенні – збудники харчових отруєнь *C. botulinum*, *C. perfringens*.

Групу мезофільних клостридій складає 61 вид облігатно- анаеробних спороутворювальних бактерій. Близько 30 видів із них можуть розмножуватися в харчових продуктах. За біохімічними властивостями мезофільні клостридії розподіляють на групи:

- *гнильні*, які призводять до глибокого розпаду білків із значним виділенням газів (*C. botulinum A*, *C. putrificum* та ін.);
- *протеолітичні* патогенні (*C. botulinum C, D, E*; *C. perfringens*, *C. tetani*) та сапрофітичні (*C. acetobutylicum*, *C. felsineum*);
- *сахаролітичні* – збудники маслянокислого бродіння та бомбажу, які накопичують масляну, оцтову та інші кислоти зі значним виділенням газів (*C. butyricum*, *C. pasteurianum*, *C. beijerinckii*).

Порівняно з гнильними сахаролітичні клостридії більш кислотостійкі, але утворюють менш термостійкі спори. Псують томатопродукти, вінегрети, салати.

Спалахи ботулізму при споживанні консервів зазвичай пов'язані з *C. botulinum* типів А і В, оскільки їхні спори найбільш термостійкі й псують натуральні консерви, соки.

C. botulinum може розвиватися та продукувати токсини в овочевих консервах (натуральних, пюреподібних для дитячого та дієтичного харчування, салатах, морквяному, гарбузовому соках), грибах, м'ясних, рибних та ін. групи А. Але цей мікроб може продукувати токсини і в більш кислотних плодово-ягідних соках, компотах, пюре, томатному соку.

Розвиток *C. botulinum* і *C. perfringens* у консервах спричиняє бомбаж, однак при малому вмісті цукрів ця зовнішня ознака може бути відсутньою; гнильний або зірклий запахи також з'являються необов'язково, тому доброякісність консервів підозру не викликає.

Харчові отруєння *C. perfringens* спричиняються типом А. Мікроб особливо активний при рН 5,3, але може розвиватися до рН 3,5. Частіше ці мікроорганізми розглядають як збудник псування, рідше – як збудник харчових отруєнь.

Мезофільні бацили. Це сапрофітні спороутворювальні аероби, іноді мікроаерофіли або факультативні анаероби: гнильні, які розкладають вуглеводи без помітного газоутворення, тому бомбаж консервів, як правило, не виникає (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megatherium* – сапрофіти, а *B. cereus* – токсигенний) і сахаролітичні, які розкладають вуглеводи з газоутворенням (*B. polymyxa*, *B. macerans*).

Наявність *B. cereus*, у якого спори менш термостійкі, ніж у вказаних вище, часто пояснюють вторинною контамінацією негерметичних банок, проте його виявляють серед залишкової мікробіоти в багатьох консервах (овочеві, рибні, м'ясні, м'ясорослинні, фруктові, томатні).

Термофільні бацили та клостридії утворюють термостійкі спори, які можуть зберігатися після стерилізації та спричиняють три види псування: плоскокисле, бомбажне, сірчановодневе.

Плоскокисле псування: збудники зброджують вуглеводи, утворюють молочну, оцтову кислоту без виділення газів. Продукт скисає, а кришка залишається плоскою (*B. aerothermophilus*, *B. stearothermophilus*, *B. coagulans*, *C. thermoaceticum*).

Бомбажне псування: збудник *C. thermosaccharolyticum* зброджує цукри з виділенням CO₂ та H₂, що дає бомбаж.

Сірководневе: збудник *Desulfotomaculum nigrificans* - вуглеводи не ферментує (бомбажу немає), а розкладає білки з виділенням H₂S, який зв'язується із залізом банки, утворюючи чорні плями.

Більшість термофілів (крім *Desulfotomaculum nigrificans*) є сахаролітичними, тому розвиваються й спричиняють брак консервів, багатих на вуглеводи (овочеві натуральні, пюреподібні), але до того ж вони утилізують і білки, тому плоскокисле псування зустрічається і в м'ясних і рибних паштетах, м'ясо-рослинних і сало-бобових консервах, ікрі з кабачків і баклажанів.

Псування консервів термофілами при підвищеній температурі виникає швидко: при 50-60 °C на протязі біля 15 годин.

Молочнокислі мікроорганізми є факультативними анаеробами. Гомоферментативні види спричиняють плоскокисле псування, гетероферментативні – бомбаж. Продукти прокисають.

Мікроорганізми роду *Leuconostoc* спричиняють ослизнення продукту.

Дріжджі можуть зберегтися в консервах внаслідок недостатньої термічної обробки або негерметичності тари.

Оцтовокислі мікроорганізми неспороносні, тому в консервах можуть виявлятися внаслідок недостатньої термічної обробки або вторинного забруднення.

Мікроміцети. Виявляються в консервах при недостатній термічній обробці або при вторинній контамінації. Найбільшу небезпеку представляють гриби - збудники мікотоксикозів.

Стафілококи можуть потрапити внаслідок негерметичності тари або

зберегтися в м'ясних напівконсервах. Відомі випадки отруєнь рибними консервами в маслі. *Staphylococcus aureus* – збудник харчових отруєнь.

4. Сушені овочі, фрукти, м'ясо та харчові концентрати за своїм хімічним складом є добрим субстратом для розвитку різних мікроорганізмів, які знаходяться в них у анабіотичному стані. Єдиною певною умовою для переходу їх у активний стан є вологість продуктів. Залежно від умов зберігання мікробіота у них може зростати або зменшуватись.

Напівфабрикати не відносяться до стерильних продуктів, і окремі види їх можуть бути контаміновані мікроорганізмами значною мірою в залежності від технологічної підготовки їх до процесу сушіння та від природи самих овочів.

Мікробіота сушених овочів і м'яса складається з мікроорганізмів, які знаходилися на овочах і не були знищені під час обробки (грунтова мікробіота), які потрапили під час обробки з води, устаткування, рук персоналу, повітря. Взагалі, це спорові бактерії, але зустрічаються і неспорові - коки, пліснява, молочнокислі бактерії, а в разі порушень у процесі обробки продукту можуть бути присутні термофільні бактерії. Серед мікробіоти сушених м'яса, овочів і плодів можлива присутність таких мікроорганізмів, які при відновленні здатні швидко розвиватися й спричиняти появу небажаного смаку, особливо за їх великої кількості.

Мікробіота концентратів, випущених зі стандартною вологістю та витриманих в умовах, коли продукти не можуть зволожуватись за рахунок своєї гігроскопічності, не є загрозою їх псування. У таких умовах чисельність мікроорганізмів у концентратах навіть зменшується.

Якщо концентрати мають вологість до 19% і зберігаються в умовах відносної вологості повітря не вище 75%, вони не будуть зволожуватися й псуватися.

Під час технологічної обробки сировини напівфабрикати харчових концентратів (зварена крупа, горох, квасоля, м'ясо) проходять досить довгий шлях системою сушарок і очищувачів. За цей час вони збагачуються мікроорганізмами з повітря та устаткування. Подрібнення продукту веде до збільшення площі його поверхні та забруднення мікроорганізмами.

Окрім того, додавання матеріалів, які не проходять термічної обробки (спеції, цукор, сухе молоко, жир), може теж принести свою мікробіоту, якісний склад якої неспецифічний: можуть бути спорові бактерії, неспорові, плісеневі гриби – тобто такі мікроорганізми, які є у воді, ґрунті, повітрі.

Підприємства концентратної промисловості випускають великий асортимент концентрованих перших, других і третіх страв, сухих сніданків, дитячих сумішей та інші види продуктів. Ці концентрати розподіляють на групи залежно від технологічної обробки, для кожної групи існує своя схема мікробіологічного контролю.

В окремих випадках концентрати споживають без термічної обробки,

інколи їх заливають окропом або гарячим молоком, деякі з них настоюють 20-30 хв. Зараз існують концентрати, які зовсім не потребують термічної обробки. Тому в разі появи в мікробіоті концентратів патогенних форм виникає ризик харчового отруєння або інфекції.

Ступінь контамінації мікроорганізмами різних видів харчових концентратів коливається в широких межах (від десятків до мільйонів КУО/г). Норми мікробної контамінації не встановлені.

Зараз ще неможливо встановити норми контамінації мікроорганізмами також окремих видів сушених овочів і плодів, але робітники підприємств можуть самостійно встановлювати такі норми на підставі результатів дослідження, одержаних при бездоганній роботі технологічних ліній.

Зазвичай, мікробіологічний аналіз харчових концентратів включає визначення кількості МАФАНМ і плісневих грибів у 1 г, наявності БГКП, патогенних форм стафілококів, *Bacillus cereus*, бактерій родів *Proteus* та *Salmonella*. Наважка продукту, з якої готують десятикратні розведення для наступних аналізів, має складати 10 г.

Вимоги. Кількість МАФАНМ у 1 г і титр БГКП мають бути не більше за встановлені НТД або тривалим досвідом підприємства. Наявність патогенних форм стафілококів, бактерій роду *Proteus* та *Bacillus cereus* у 1 г не дозволяється. Також не допускається наявність сальмонел у 25 г продукту.

Санітарно-епідеміологічними правилами та нормативами встановлені рівні мікробіологічних показників лише для деяких сушених овочів, плодів і концентратів. Наприклад, допускається:

- в десертах овочевих МАФАНМ не більше $5 \cdot 10^3$ КУО/г, плісневих грибів не більше за 100 КУО/г, а присутність БГКП у 1 г не допускається;
- в овочах і картоплі, не бланшованих перед сушінням, МАФАНМ не більше за $5 \cdot 10^5$ КУО/г, плісневих грибів не більше за $5 \cdot 10^2$ КУО/г, присутність БГКП не дозволяється у 0,01 г;
- у картоплі та коренеплодах, бланшованих перед сушінням, МАФАНМ не більше 20 КУО/г, плісневих грибів не більше 50 КУО/г, присутність БГКП не допускається в 0,01 г.

ЛЕКЦІЯ 11

Тема 11. Мікробіологія молока та молочних продуктів.

1. Роль мікроорганізмів у виробництві молочних продуктів.
2. Технічно важлива мікробіота заквасок.
3. Мікробіологічний контроль виробництва молочних продуктів.
4. Мікробіологічний контроль молока, сметани, сирів, масла.
5. Мікробіологічний контроль молочних консервів, сухих молочних продуктів.
6. Мікробіологічний контроль виробництва морозива.

1. Молоко – добре поживне середовище для розвитку більшості мікроорганізмів, тому що воно містить воду й багато поживних речовин, а також має сприятливу для бактерій активну кислотність.

В основі виробництва ферментованих продуктів (ферментованих напоїв, сметани, кисломолочного сиру, твердих і м'яких сирів) лежать біохімічні процеси, які відбуваються під дією ферментів мікробіоти заквасок (молочнокисле, спиртове, пропіоновокисле бродіння, розпад білків, перетворення амінокислот, ферментативне окиснення насичених жирних кислот). Ці процеси відіграють позитивну роль і сприяють утворенню консистенції, смаку й запаху молочних продуктів.

Усі мікроорганізми, які зустрічаються в молоці та молочних продуктах і впливають на формування якості продукції, можна поділити на три групи (табл. 11.1)

Таблиця 11.1 Класифікація та основні представники мікроорганізмів молока залежно від їхньої ролі у формуванні якості продукції

Технічно важлива мікробіота	
Мікробіота заквасок	Бактерії молочнокислі, пропіоновокислі, оцтовокислі, біфідобактерії, дріжджі
Мікробіота псування	Молочнокислі, маслянокислі, оцтовокислі бактерії, бактеріофаги, психротрофні мікроорганізми, бацили, дріжджі, плісневі гриби
Патогенні мікроорганізми	
Збудники інфекцій	Туберкульозна паличка, бруцели, паличка сибірки, вірус ящуру
Збудники кишково-шлункових захворювань	Холерний вібріон, дизентерійна паличка, сальмонели
Збудники харчових отруєнь	Шигели, сальмонели, бактерії роду <i>Proteus</i> , ентеротоксигенні стафілококи, ентеропатогенні кишкові палички, токсигенні гриби, патогенні стрептококи
Санітарно-показові мікроорганізми	
Мезофільні аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми, бактерії групи кишкових паличок, сальмонели, коагулазопозитивні стафілококи, <i>Listeria monocytogenes</i>	

До першої групи відносять мікроорганізми, які входять до складу заквасок і які породжують вади. Представники цієї групи можуть відігравати як позитивну, так і негативну роль у формуванні якості молочних продуктів. Плісневі гриби, психротрофні, спороутворювальні грають тільки негативну роль.

Розвиток сторонньої мікробіоти, а інколи й заквасочної, призводить до

утворення вад. Так, гнильні мікроорганізми (спороутворювальні та неспороутворювальні), виробляючи активні протеолітичні ферменти, можуть спричиняти глибокий розпад білків, що призводить до псування сирого молока й готових продуктів. Надлишок розвитку оцтовокислих мікроорганізмів при виробництві кефіру традиційним способом викликає ослизнення, тягучість згустку, а в сметані й кисломолочному сирі як стороння мікробіота вони породжують нечистий смак. Інтенсивний розвиток дріжджів незаквасочного походження призводить до здуття та зміни смаку таких продуктів як сметана, кисломолочний сир, солодкі сиркові вироби. У кефірі, виробленому на кефірних грибах, надлишок дріжджів спричиняє газоутворення й навіть здуття. Дріжджі можуть спричинити також здуття згущеного молока з цукром (бомбаж). Плісєневі гриби, маючи високу протеолітичну й ліполітичну активність, призводять до утворення згірлого смаку в сметані, кисломолочному сирі, сухому молоці, а в згущеному молоці з цукром – утворення ущільнень – «гудзиків». Молочнокислі мікроорганізми заквасочного походження можуть стати причиною надлишкової кислотності готового продукту.

Патогенні мікроорганізми спричиняють різні захворювання. Серед них зустрічаються збудники інфекцій, які передаються людині від тварини (туберкульозу, бруцельозу, ящуру, сибірки), збудники кишкових інфекцій (холери, дизентерії, черевного тифу й паратифу) та збудники харчових отруєнь, які в свою чергу умовно поділяються на збудників токсикоінфекцій (сальмонели, шигели, протей, *B. cereus* та ін.) і збудників харчових інтоксикацій (коагулазопозитивні стафілококи, патогенні стрептококи, токсигенні гриби та ін.).

Санітарно-показові мікроорганізми використовують, в основному, для оцінки санітарного стану підприємств і дотримання санітарно-гігієнічних і технологічних режимів виробництва. Присутність санітарно-показових мікроорганізмів свідчить про ступінь забрудненості молока виділеннями людини та тварин.

2. Мікробіота заквасок. Молочнокислі бактерії. Це специфічна група мікроорганізмів, які обумовлюють молочнокисле бродіння, тобто перетворення вуглеводів у молочну кислоту. Залежно від шляху, яким бактерії ведуть процес бродіння (гліколітичний або пентозофосфатний), утворюється різна кількість молочної кислоти, а мікроорганізми розподіляються на гомо- та гетероферментативні. Поруч із основним продуктом метаболізму молочнокислі бактерії можуть утворювати побічні: етанол, оцтову кислоту, CO₂, ароматичні речовини.

Молочнокислі бактерії – це основна мікробіота, яка використовується при виробництві молочних продуктів. У природі молочнокислі мікроорганізми представлені кулькоподібними та паличкоподібними. За останньою класифікацією, наведеною у Визначнику Bergey (Берджи) молочнокислі

бактерії віднесені до двох окремих родин – *Streptococcaceae* та *Lactobacillaceae*. Усі молочнокислі бактерії, незалежно від класифікації, мають спільні властивості – позитивно забарвлюються за Грамом, не утворюють спори, нерухомі, не спричиняють видимого розпаду білків, факультативні анаероби.

Родина *Streptococcaceae* представлена трьома родами: *Lactococcus* (*Lac.*), *Leuconostoc* (*Leu.*) та *Streptococcus* (*Str.*).

Рід *Lactococcus* (від лат. *lacticus* – молочний) включає 5 видів, тільки один із них досконало вивчений і використовується в молочній промисловості. Типовим представником цього виду є *Lactococcus lactis* (молочний лактокок). Він об'єднує три підвиди (лат. *subspecies*, скор. *subsp.*) – *Lactococcus lactis subsp. lactis*, скор. *Lac. lactis*; *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (вершковий лактокок), скор. *Lac. cremoris* і *Lactococcus lactis subsp. hordniae*, скор. *Lac. hordniae*. Останній підвид у молочній промисловості не використовується. До підвиду *Lactococcus lactis subsp. lactis* відносять ароматоутворювальний біологічний варіант, який має назву *Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar diacetylactis*. У попередніх виданнях Визначника Bergey його називали *Str. diacetylactis*. Запропоновано біовар *diacetylactis* виділити у підвид молочного лактокока. Далі будемо для зручності називати його *Lac. Diacetylactis*.

Lac. lactis. Клітини овальної форми розміром 0,5х1 мкм, поєднані парами (диплококи) або у вигляді коротких ланцюжків, грампозитивні, нерухомі, добре забарвлюються барвниками.

На щільних поживних середовищах утворюють колонії: на поверхні – дрібні діаметром до 1 мм, круглі, світлі; в глибині – сочевицеподібні. Температура росту від 10°C до 40-43°C, оптимальна - 28-32°C. Росте за наявності в середовищі 4% NaCl, не розвивається при концентрації солі 6,5% і в лужному середовищі.

Молочний лактокок – основний компонент мікробіоти заквасок для кисломолочного сиру, сметани, простокваші, кисловершкового масла, сирів. Він складає основну мікробіоту кефірних грибків. Використовують як активний кислотоутворювач разом із *Lac. cremoris*, *Lac. diacetylactis*, бактеріями роду *Leuconostoc*. Завдяки відносно низькій межі кислотоутворення можна отримувати продукти з невисокою кислотністю.

Lac. cremoris. Клітини овальної форми розміром 0,5х1,0 мкм, відрізняється від *Lac. lactis* розташуванням клітин, як правило, короткими ланцюжками.

Форма колоній така, як і в *Lac. lactis*. Температурний діапазон росту від 10°C до 39°C. Оптимальна температура розвитку 22-30°C. Не росте в середовищі з концентрацією солі 4 %.

Lac. cremoris входить до складу заквасок при виробництві сметани, кисломолочного сиру, масла, сирів.

Lac. diacetylactis. Форма клітин – овальні коки, у вигляді диплококів або коротких ланцюжків, розмір 0,5х1 мкм.

На поживних середовищах утворює колонії: на поверхні – великі, у вигляді крапель, глибинні – сочевицеподібні, на щільних поживних середовищах із агаром утворює глибинні колонії у вигляді павучків або шматочків вати. Цим можна скористуватись для диференціації *Lac. diacetylactis* від молочнокислих лактококів інших видів. Оптимальна температура зростання 28-32°C, росте при 39-40°C, при 45°C зростання відсутнє; стійкий до концентрації солі 4%.

Lac. diacetylactis разом з *Lac. lactis* та *Lac. cremoris* використовують при виробництві молочних продуктів, у яких бажано ароматоутворення (масла, кисломолочного сиру, сметани, простокваші, окремих видів сирів).

Рід *Leuconostoc*. Назва походить від грецьк. *leucos* – білий, безбарвний і *nostoc* - узагальнена назва водоростей.

Цей рід поєднує 9 видів, із яких два мають значення в молочній промисловості – *Leu. lactis* та *Leu. mesenteroides*. Останній включає три підвиди: *Leu. mesenteroides subsp. dextranicum* (скор. *Leu. dextranicum*), *Leu. mesenteroides subsp. cremoris* (скор. *Leu. cremoris*), *Leu. mesenteroides subsp. mesenteroides* (скор. *Leu. mesenteroides*).

Форма клітин – коки, злегка витягнуті, розмір 0,6-0,7 x 0,7-1,2. Розташовуються парами або ланцюжками.

Лейконостоки – факультативні анаероби. Ростуть на спеціальних середовищах. Для розвитку лейконостоків молоко – бідне поживне середовище. Більшість штамів росте в молоці після додавання до нього ростових факторів – екстрактів дріжджів і глюкози. На агарі з гідролізованим молоком лейконостоки утворюють дрібні (до 1 мм у діаметрі) колонії, гладкі, круглі, сірувато-білі, на середовищах із сахарозою – дрібні слизові колонії, на середовищах із лимоннокислим кальцієм – більш крупні, у вигляді крапель, навколо колонії утворюється зона просвітлення, як наслідок зброджування лимоннокислого кальцію. Температурний діапазон росту від 5°C до 37-39°C. Оптимальна температура 20-30°C. Лейконостоки чутливі до температури (гинуть при 55°C протягом 30 хв.) і до солі.

Це гетероферментативні мікроорганізми, процес бродіння ведуть пентозофосфатним шляхом. Основними продуктами метаболізму є молочна кислота (D-ізомер), етанол та/або оцтова кислота, ароматичні сполуки (діацетил, ацетоїн), CO₂. Лейконостоки – слабкі кислотоутворювачі.

Leu. cremoris і *Leu. dextranicum* використовують у багатштамових заквасках разом із *Lac. lactis* і *Lac. cremoris*. Застосування *Leu. cremoris* доцільне там, де необхідно отримати м'який довготривалий аромат, наприклад, у виробництві стійкого до зберігання масла. *Leu. dextranicum* разом з іншими ароматоутворювачами вводять до складу заквасок сирів.

Рід *Streptococcus*. До роду *Streptococcus* входить один вид молочнокислих коків *Str. thermophilus* (термофільний стрептокок). До цього роду відносять ентерококи, хоча за багатьма культуральними, біохімічними та серологічними властивостями вони відрізняються від стрептококів.

Форма клітин – коки, часто поєднані в довгі ланцюжки. Клітини крупніші за молочнокислі стрептококи (0,8-1,2 мкм), це дозволяє відрізнити їх у мікроскопічному препараті при спільному культивуванні. Нерухомі, спори й капсули не утворюють, грампозитивні.

Факультативні анаероби. Добре ростуть на знежиреному та гідролізованому молоці, а також на середовищах, які містять компоненти молока й ростові фактори.

У бульйоні з глюкозою та розчином NaCl (4%) кислотоутворення не спостерігається, а при концентрації солі 2% спостерігається тільки в деяких штамів. На поверхні твердих поживних середовищ *Str. thermophilus* утворює дрібні колонії круглої форми з зернистою структурою та локоноподібними краями. Глибинні колонії – сочевицеподібні. Не росте на середовищах із концентрацією пеніциліну 0,01 МО/см³ і стрептоміцину 5 мкг/см³, тому його використовують як тест-культуру для виявлення антибіотиків у молоці.

Термостійкий, витримує температуру 75°C протягом 15 хв. і 65°C протягом 30 хв., у зв'язку з чим складає значну частину мікробіоти після пастеризації за низьких температур. Характерною ознакою термофільного стрептокока є широкий діапазон росту (10-53°C). Оптимальна температура 40-45°C.

Термофільний стрептокок застосовують при виробництві йогурту, ряжанки, південної та мечниковської простокваші, варенцю, кисломолочного сиру, сметани, сирів із високою температурою другого нагрівання. Часто термофільний стрептокок використовують із болгарською та ацидофільною паличками, мезофільними молочнокислими лактококами, біфідобактеріями.

Ентерококи. Ентерококи – це нормальна мікробіота кишечника людини та тварин і за кількістю така ж, як кишкова паличка. Широке розповсюдження в зовнішньому середовищі свідчить про їх високу стійкість до несприятливих умов. У великій кількості вони зустрічаються в сирому молоці, частина їх витримує пастеризацію, тому зустрічаються у пастеризованому молоці.

Основні види – *Str. faecalis* і *Str. faecium*. До них приєднуються два види стрептококів, які складають нормальну мікробіоту дорослих, дітей, великої рогатої худоби (*Str. bovis*) та коней (*Str. equinus*).

Колонії прозорі, трошки блакитні, можуть бути мутнуваті, з рівними краями. Ростуть у межах температури від 10°C до 45°C, оптимальна температура 37-38°C. Термостійкі, витримують температуру 60°C протягом 30 хв, гинуть при 85°C і короткотривалому витримуванні. Розвиваються при концентрації солі 6,5% і при рН 9,6.

Ентерококи гомоферментативні, широко розповсюджені в сирому молоці, витримують пастеризацію і постійно виявляються в пастеризованому молоці та кисломолочних продуктах. Їх використовують у виробництві деяких видів сирів, кисломолочних продуктів лікувального призначення.

Родина *Lactobacillaceae*.

Рід *Lactobacillus*. Включає три групи – термобактерії (облігатні

гомоферментативні мікроорганізми), стрептобактерії (факультативні гетероферментативні) β-бактерії (облігатні гетероферментативні).

Термобактерії. *Lbc. bulgaricus* (болгарська паличка). Палички розміром від 2 до 20 мкм, завтовшки 1-1,5 мкм. При забарвленні препаратів метиленовим синім спостерігаються чіткі метахроматичні зерна, інколи нерівномірне забарвлення ділянок протоплазми. Як правило, це виникає при несприятливих умовах культивування.

На твердих поживних середовищах утворює колонії: поверхневі – локоноподібні, світлі, діаметром 1,5-3 мм, глибинні – у вигляді шматочків вати («павучки»). Ростуть в температурному діапазоні від 20°C до 60-62°C. Оптимальна температура росту 40- 45°C. Чутливі до багатьох антибіотиків, стійкі до бактеріофагу.

Використовують болгарську паличку разом із термофільним стрептококом як сильний кислотоутворювач, для поліпшення смаку та аромату йогурту, південної та мечніковської простокваші, ряжанки.

Lbc. acidophilus (ацидофільна паличка). Це – кишечний мікроб, який можна виділити із вмісту харчового тракту людини та різних тварин.

Палички із заокругленими кінцями, довжиною від 1,5 до 6 мкм, завтовшки 0,6-0,9 мкм. Спостерігаються метахроматичні зерна при забарвленні метиленовим синім, як і в болгарської палички.

На щільних середовищах утворює колонії: поверхневі – світлі, локоноподібні, діаметром 1,5-3 мм, глибинні – у вигляді «павучків». Оптимальна температура - 37-38°C, діапазон зростання 20-55°C. Рoste при рН 8,3, в присутності 2% солі, 20 % жовчі.

Застосовують при виробництві ацидофільних молочних продуктів, кумису з коров'ячого молока.

Lbc. helveticus (швейцарська паличка). Палички, довжиною від 2 до 6 мкм, завтовшки - 0,5-0,6 мкм. Розташовуються по одній або попарно.

Оптимальна температура росту – 40°C, росте в діапазоні 20-52°C. На щільних поживних середовищах утворює дрібні, сіруваті, гладкі колонії. Рoste за наявності 4%, а деякі штами – до 5% солі. Найбільш сильний кислотоутворювач. Гранична кислотність досягає 350°T.

Використовують у складі заквасок для твердих сирів із високою температурою другого нагрівання.

Lbc. lactis (молочна паличка) за своїми властивостями подібна до болгарської палички. Гранична кислотність досягає 120-180°T.

Використовують у сироробній галузі.

Стрептобактерії (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*).

Палички різної довжини, розташовані окремо, по дві або ланцюжками. За видом і взаємним розташуванням клітин ці мікроорганізми не відрізняються. Нерухомі, капсул не утворюють.

На поверхні щільних поживних середовищ утворюють дрібні круглі колонії, на глибині – подібні човнику. Ростуть за температури від 15°C до 38°C,

оптимальна – 30°C. Стрептобактерії чутливі до нагрівання. Вони гинуть при 60°C протягом 10хв., але короткотривалу пастеризацію (72°C 20 с.) можуть витримувати. Особливістю стрептобактерій є їх висока стійкість до солі та жовчі. Так, *Lbc. casei* та *Lbc. Plantarum* розвиваються у середовищі, яке містить 6% солі та 20 % жовчі.

Стрептобактерії відіграють позитивну роль при визріванні сирів, тому що вони можуть розмножуватись у них після ферментації лактози та за вмістом хлориду натрію 6%. Деякі спричиняють вади на поверхні сиру – іржаві плями.

Бетабактерії (*Lbc. breve*, *Lbc. buchneri*, *Lbc. ferntenti*)

Частіше в молочних продуктах зустрічається *Lbc. breve*.

Дрібні палички із заокругленими кінцями, довжиною 2-4 мкм, завтовшки 0,7-1 мкм. Ростуть у діапазоні температури від 15°C до 38°C, оптимальна – 30°C. Мають низьку терморезистентність. Можуть розвиватись у середовищі з вмістом солі 4%.

Беруть участь у визріванні твердих сирів із низькою температурою другого нагрівання, сприяють утворенню запаху та малюнка.

Біфідобактерії. За класифікацією Берджи біфідобактерії відносяться до родини *Actinomycetaceae*, роду *Bifidobacterium* (від лат. *bifidus* – роздвоєний). Біфідобактерії є облигатною мікробіотою кишечника здорової людини та теплокровних тварин. Вони проявляють антагоністичну активність щодо патогенної, умовно-патогенної та небажаної мікробіоти в кишечнику. На цей час ідентифіковано 24 види біфідобактерій. Найбільш вивченими є *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*.

Усі види біфідобактерій при первинному виділенні є облигатними анаеробами, але при культивуванні вони набувають здатність розвиватися в присутності невеликої кількості кисню. Розвиваються в інтервалі температури від 20°C до 45-50°C, температурний оптимум 36-38°C. Розвиваються в середовищах із концентрацією солі до 2%, а жовчі - 20%.

Застосовують біфідобактерії при виробництві кисломолочних продуктів для дітей раннього віку, а також пробіотичних продуктів для дітей і дорослих. Вони надають продукту дієтичні й лікувальні властивості, тому що синтезують вітаміни В₁, В₂, В₆, В₁₂, К, фолієву кислоту, а також незамінні амінокислоти. Біфідобактерії сприяють нормалізації мікробіоти кишечника, руйнують канцерогенні речовини, які утворюють деякі грампозитивні мікроорганізми при азотному обміні, виконуючи таким чином роль «другої печінки».

Пропіоновокислі мікроорганізми. Це мікроорганізми – збудники пропіоновокислого бродіння. Відносять їх до родини *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*, який включає дві основні групи, одна з них виділена з сиру та молочних продуктів (їх відносять до «молочних пропіонобактерій»), друга – виявлена на шкірі (тому їх називають «шкірні пропіонобактерії»).

За морфологією пропіоновокислі мікроорганізми – це палички, поліморфні, розміром 0,5-0,8 x 1-5 мкм, нерухомі, неспороутворювальні, грампозитивні. Клітини можуть мати вид коків, булави або подовжену чи

розгалужену форму. Оптимальна температура росту – 30-35°C. Деякі штами ростуть при 25°C і 45°C. Оптимальний рН - біля 7.

Їх використовують як заквасочні культури при виробництві сирів з високою температурою другого нагрівання. Після закінчення молочнокислого бродіння лактози в процесі визрівання сирів відбувається пропіоновокисле бродіння, яке супроводжується зброджуванням молочної кислоти в оцтову та пропіонову. Ці кислоти надають сирам гострого смаку, а CO₂ – малюнок (вічки).

Оцтовокислі мікроорганізми. Бактерії, які перетворюють етанол у оцтову кислоту. Широко розповсюджені у виробництві молочних продуктів. Вони відносяться до роду *Acetobacter*, типовий вид *Acetobacter aceti*.

Морфологічні властивості: палички, дрібні, овальні або паличкоподібні, розміром 0,6-0,8 x 1-3 мкм, розташовуються поодинокі, попарно або ланцюжками. Рухомі, перітрихи, грамнегативні, спори та капсули не утворюють.

Облігатні аероби. Ростуть у межах температури від 4-5°C до 42°C, оптимальна 30-34°C. Оптимальний рН 5,4-6,3, можуть рости при рН 4,0-4,5, погано ростуть при рН 7,0-8,0. Невиблагливі до поживних речовин. Ростуть на простих і складних поживних середовищах.

Оцтовокислі мікроорганізми входять до складу кефірних грибків, беруть участь у формуванні специфічного смаку та консистенції кефіру. При надлишковому розвитку (10⁵-10⁶ клітин в 1 г) у кефірі виникає вада «ослизнення». Не входять до складу заквасок для кисломолочного сиру та сметани. При потрапленні в молоко та вмісті 10⁵-10⁶ клітин в 1 см³ спричиняють нечистий смак.

Дріжджі. Це – основні збудники спиртового бродіння. У молоці зустрічаються як спороутворювальні, так і неспороутворювальні. У кисломолочних продуктах із спороутворювальних зустрічаються дріжджі родів *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Fabospora*, з неспороутворювальних – роди *Torulopsis*, *Candida*.

Клітини дріжджів мають круглу, овальну або еліпсоподібну форму (дріжджі роду *Candida* мають витягнуту овальну форму, а *Torulopsis* – круглу). Нерухомі, грампозитивні, капсул не утворюють. Розмір клітин коливається від 3х5 до 4х8 мкм.

Дріжджі – це факультативні анаероби, але краще розвиваються в присутності кисню. Оптимальна температура зростання – 25-30°C, мінімальна - 5-12°C. Дріжджі, які зброджують лактозу, добре розвиваються і при 18-20°C, але підвищення температури до 25-30°C, як правило, стимулює їх розмноження. Гинуть при 75-76°C за 15-20 с., розвиваються в діапазоні рН 3-9. Ростуть при концентрації цукру 40- 55%, солі 8%, отже, є осмотолерантними.

Роль дріжджів у виробництві кисломолочних продуктів велика. Як правило, їх розглядають як збудників спиртового бродіння. Але вони виконують й інші функції – активізують розвиток молочнокислих бактерій, синтезують вітаміни в молочних продуктах. Дріжджі, які зброджують лактозу

й інші цукри, здатні виробляти антибіотичні речовини, активні проти туберкульозної палички та інших бактерій, у т. ч. БГКП.

3. Якість харчових продуктів нерозривно пов'язана з санітарно-гігієнічними умовами їх вироблення, тому обов'язковому мікробіологічному контролю підлягають сировина та допоміжні матеріали, напівфабрикати та готова продукція, санітарний стан устаткування, інвентарю, особиста гігієна персоналу, вода, повітря.

Джерелами мікробіоти сирого молока є шкіра, в тому числі вимені, корми, гній, повітря, посуд та інвентар, обслуга. У сирому молоці після проходження його через комунікації та обладнання можуть бути мікрококи, ентерококи, молочнокислі стрептококи, молочнокислі палички, психротрофні бактерії, БГКП, стафілококи, спороутворювальні, маслянокислі, пропіоновокислі, оцтовокислі бактерії, дріжджі, патогенні та інші мікроорганізми залежно від санітарно-гігієнічних умов отримання молока. Бактеріальна забрудненість молока є важливим показником, який характеризує умови його отримання та санітарну якість.

Бактеріальну забрудненість молока-сировини визначають за редуказною пробою, а також за кількістю мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ).

Залежно від кількості мікроорганізмів (КУО в 1 см³) молоко поділяють на чотири гатунки: екстра (не більше 100 тис.), вищий (від 100 тис. до 300 тис.), перший (від 300 до 500 тис.), другий (від 500 тис. до 3 млн).

У разі появи органолептичних вад молочних продуктів, пов'язаних із забрудненням молочної сировини певними групами мікроорганізмів, проводять посилений контроль бактеріальної контамінації. Для виявлення можливих причин мікробіологічного псування продукту доцільно проводити оцінку складу мікробіоти, тобто визначати в молоці не тільки КМАФАнМ, а й кількість психротрофних, термофільних, а також наявність інших технічно шкідливих мікроорганізмів. При посиленому контролі загального бактеріального забруднення молока-сировини проводять редуказну пробу (в кожній партії), аналізують одну й ту ж пробу молока-сировини за показниками: КМАФАнМ, кількість психротрофних аеробних і факультативно анаеробних бактерій, кількість термофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів.

На ступінь знищення мікроорганізмів у процесі пастеризації впливають початковий вміст мікроорганізмів у сирому молоці, режим пастеризації, видовий склад сапрофітної мікробіоти сирого молока, правильна робота пастеризаційно-охолоджувальної установки. Відмирання мікроорганізмів під впливом високих температур є процесом, який відбувається за часом. Чим більше мікроорганізмів у сирому молоці, тим більше їх залишається після пастеризації.

При виборі режимів пастеризації керуються необхідністю знищити всі

патогенні мікроорганізми й більшу частину технічно важливої мікробіоти, яка викликає вади. При цьому необхідно зберігати цінні складові молока.

Сапрофітні мікроорганізми по-різному реагують на теплове оброблення. При режимах пастеризації, які застосовують на цей час у виробництві пастеризованого молока, вершків, сметани та кисломолочних напоїв, гинуть мікрококи, мезофільні молочнокислі стрептококи, психротрофні, БГКП, стафілококи, але залишаються спори, в невеликій кількості - ентерококи, термофільні молочнокислі стрептококи та палички. А при низькотемпературній пастеризації (виробництво твердих сирів, кисломолочного сиру) залишається термостійка мікробіота та деяка мезофільна.

Ефективність пастеризації залежить від видового складу мікробіоти молока-сировини. На цей фактор впливають, насамперед, умови його зберігання до пастеризації. При охолодженні сирого молока до 0-3°C і його тривалому зберіганні переважають психротрофні мікроорганізми (до 25% загальної мікробіоти). Психротрофи мають низьку термостійкість, тому ефективність пастеризації висока (99,9%). Психротрофи при розвитку в сирому молоці виробляють активні протеази та ліпази, які не інактивуються при пастеризації й викликають вади молока. Якщо молоко зберігається за температурою понад 8-10°C, в ньому переважають термостійкі бактерії - ентерококи, термофільні стрептококи (50% і більше). Ефективність пастеризації складає до 98%.

4. Мікробіоту пастеризованого молока складають мікроорганізми, які залишились після пастеризації (залишкова мікробіота) й мікроорганізми, які потрапили в молоко на наступних технологічних процесах (вторинне забруднення). Остання складає від 85% до 95 % загальної чисельності мікроорганізмів пастеризованого молока. Типовими представниками мікробіоти вторинного забруднення є БГКП.

Мікробіологічний контроль пастеризованого молока передбачає контроль сировини, перебігу технологічного процесу, готової продукції, санітарного стану виробництва. При прийманні молока проводять стандартний, а в разі необхідності – посилений контроль.

У пастеризованому молоці, відібраному після секції охолодження пастеризаційно-охолоджувальної установки, БГКП не повинні виявлятися в 10 см³ молока, КМАФАнМ не повинна перевищувати 1-10⁴ КУО у 1 см³. Якщо посівом установлюють, що ефективність пастеризації недостатня (БГКП виявляються в 10 см³ молока), установка має бути зупинена й встановлена причина зниження ефективності пастеризації. Після пуску пастеризаційно-охолоджувальної установки знову необхідно перевірити ефективність пастеризації тричі до одержання стійких позитивних результатів.

Особливість мікробіологічних процесів при виробництві сметани полягає в тому, що вершки пастеризують при високих температурах, тому в

залишковій мікробіоті переважають термостійкі молочнокислі палички та спори. Для сквашування вершків використовують багатощтамові закваски на основі мезофільних лактококів і ароматоутворювальних бактерій. Із метою прискорення процесу сквашування та поліпшення консистенції продукту широко використовують термофільний молочнокислий стрептокок. При цьому *Lac. lactis* забезпечує інтенсивне сквашування вершків; *Lac. cremoris* – утворення згустку в'язкої консистенції; *Lac. diacetylactis* та бактерії роду *Leuconostoc* – ароматоутворення. Розвиток термостійких молочнокислих паличок як залишкової мікробіоти активізується при підвищених температурах і, головним чином, у тих випадках, коли перебування сквашених вершків за температури сквашування затягується. Дріжджі при значному забрудненні можуть спричиняти здуття вершків при сквашуванні, а при невеликій кількості розвиваються в процесі зберігання за низьких температур і викликають вади смаку. БГКП посилюють ріст при підвищених температурах сквашування і повільному охолодженні. Психротрофні мікроорганізми можуть розвиватися в сметані при зниженій кислотності; плісєневі гриби – на поверхні при тривалому зберіганні за низьких температур.

При виробництві деяких видів сметани застосовують закваски, до складу яких, крім мезофільних лактококів і термофільного стрептокока, входять ацидофільна паличка та біфідобактерії.

Чим більше жиру містять вершки, тим менш інтенсивний перебіг в них мікробіологічних процесів при сквашуванні, охолодженні і фасуванні. При 1-8 °С і визріванні 6-12 год. у дрібній тарі та 12-48 год. – у великій можливе розмноження психротрофної мікробіоти, плісєневих грибів і дріжджів, яке продовжується при наступному зберіганні.

При виробництві сметани контролюють молоко та вершки. У разі необхідності проводять посилений контроль сировини, який передбачає встановлення кількості психротрофних і термофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів.

Ефективність пастеризації визначають за відсутністю БГКП у 10 см³ пастеризованих вершків, відібраних після секції охолодження пастеризаційно-охолоджувальної установки. У разі необхідності контроль ефективності пастеризації проводять за показником КМАФАМ.

Готовий продукт повинен відповідати вимогам чинних нормативних документів. Кількість життєздатних молочнокислих бактерій не менше ніж 1-10⁷ КУО/г; дріжджів і плісєневих грибів – не більше ніж 50 КУО/г кожного; не допускаються патогенні мікроорганізми, в тому числі сальмонели в 25 г продукту, золотистий стафілокок – у 1,0 г, БГКП – в 0,001г.

При виробництві кисломолочного сиру основною мікробіотою, яка забезпечує крилоутворення, є мезофільні молочнокислі лактококи закваски (*Lac. lactis*, *Lac. cremoris*, *Lac. diacetylactis*, *Leu. dextranicum*). Їх кількість у готовому продукті досягає 10⁸-10⁹ клітин в 1 г. При виробництві кисломолочного сиру може розвиватись мікробіота, яка залишилась після

пастеризації та потрапила з обладнання, з повітря тощо.

З мікробіологічної точки зору способи виробництва кисломолочного сиру відрізняються тривалістю процесів сквашування й відділення сироватки. Чим триваліше сировина, напівфабрикат і готовий продукт знаходяться за температури, яка допускає розвиток мікроорганізмів, тим більше можливостей для розвитку не тільки корисної, а й сторонньої мікробіоти, в першу чергу, термостійких молочнокислих паличок і БГКП.

Загальні закономірності розвитку мікроорганізмів при виробництві кисломолочного сиру такі:

а) у перші 6-8 год. сквашування не відбувається суттєвого збільшення термостійких молочнокислих паличок і БГКП, тому основний шлях зниження розвитку сторонньої мікрофлори – це скорочення часу сквашування, видалення сироватки, швидке глибоке охолодження продукту;

б) активне розмноження термостійких молочнокислих паличок у кінці процесу виробництва та пов'язане з ним наростання кислотності призводить до відмирання БГКП; у той же час при помірній кислотності кількість БГКП продовжує повільно підвищуватись.

Готовий продукт контролюють за вмістом молочнокислих мікроорганізмів і відсутністю БГКП у певній масі продукту. Сир кисломолочний із терміном зберігання понад 72 год. контролюють також на кількість плісневих грибів і дріжджів.

Загальна кількість життєздатних молочнокислих мікроорганізмів не менше $1 \cdot 10^6$ КУО/г; кількість плісневих грибів – не більше 50 КУО, дріжджів – не більше 100 КУО в 1 г продукту з терміном зберігання понад 72 год., не допускаються: патогенні мікроорганізми, в тому числі сальмонели, в 25 г продукту, золотистий стафілокок – в 0,01 г, БГКП – в 0,001 г продукту з терміном зберігання не більше ніж 72 год та 0,01 г продукту з терміном зберігання більше ніж 72 год. Кисломолочний сир із терміном зберігання меншим, ніж 72 год., не контролюють на наявність дріжджів і плісневих грибів.

У сироробстві при виробництві твердих і м'яких сирів як закваску використовують чисті культури *L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*, *Leu. dextranicum*. Для великих сирів (швейцарський) застосовують, крім названих видів, ще й закваски з молочнокислих паличок *Lbc. helveticus*, *S. thermophilus*, пропіоновокислі бактерії. При виробництві м'яких сирів і сирів зі слизом, крім молочнокислих бактерій, вносять мікроскопічні гриби: *Geotrichum candidum* (закусочний, смоленський), *Pen. roqueforti* (рокфор), а також мікробіоту сирного слизу (дорогобузький, латвійський та ін.).

Готові сири контролюють за наявністю БГКП, *Listeria monocytogenes* та патогенних мікроорганізмів, а також за кількістю золотистого стафілококу. Для м'яких і твердих сирів, у тому числі українського асортименту: наявність БГКП не дозволена в 0,01 г, для напівтвердих – в 0,001 г. Для всіх видів сирів патогенні мікроорганізми, в т. ч. *Salmonella* не допускаються у 25 г продукту, *Listeria*

monocytogenes не допускається у 25 г продукту, кількість *S. aureus* у 1 г продукту не більше $5 \cdot 10^2$ КУО.

Основним джерелом мікробіоти масла є вершки та молоко. Вони можуть містити мікрококи, молочнокислі, психротрофні, протеолітичні бактерії, БГКП. Вміст мікроорганізмів залежить від санітарно-гігієнічних умов отримання молока, вершків і термінів їх зберігання при позитивних температурах. Джерелом додаткової контамінації масла можуть бути обладнання, інвентар, вода, повітря, пакувальний матеріал, смакові наповнювачі, добавки.

Масло вершкове виробляють збиванням і перетворенням високожирних вершків. Безпечнішим з точки зору можливості вторинного бактеріального забруднення є виробництво перетворенням високожирних вершків, оскільки весь технологічний процес перебігає за високої температури, що знижує імовірність розвитку мікроорганізмів.

При виробництві масла збиванням вершків важливою операцією є їх визрівання при низькій температурі з метою переходу частини жиру у твердий стан, змін фізико-колоїдних властивостей оболонки жирових кульок, а також властивостей плазми. Під час цього технологічного процесу виникає загроза розвитку психротрофних мікроорганізмів, кількість яких контролюють у кожній партії вершків у разі виявлення вад смаку вершкового масла до з'ясування причин погіршення якості готового продукту та їх усунення.

При збиванні вершків більша частина мікробіоти переходить у маслянку, але при недостатньо якісному митті обладнання можливе вторинне забруднення.

Масло солодковершкове контролюють за кількістю МАФАНМ, усі види масла контролюють на наявність БГКП у певній масі, кількість плісневих грибів і дріжджів, кількість ліполітичних і протеолітичних бактерій.

Готовий продукт повинен відповідати вимогам чинних нормативних документів. У вершковому маслі екстра, селянському, вершковому з наповнювачами БГКП не дозволено в 0,01 г продукту; дріжджів і плісневих грибів має бути не більше 100 КУО/г в сумі; патогенних мікроорганізмів, зокрема роду сальмонел, а також *Listeria monocytogenes* не допускається у 25 г; золотистого стафілококу не дозволено в 0,1 г масла всіх груп, крім екстра, для якого норма складає 1 г. Кількість КМАФАНМ для вершкового екстра та селянського солодковершкового не повинна перевищувати $1 \cdot 10^5$ КУО/г, для всіх інших груп – $5 \cdot 10^5$ КУО/г. У кисловершковому маслі КМАФАНМ не нормується.

5. За принципами консервування молочні консерви поділяються на три основні групи:

- за принципом абіозу – стерилізовані молочні консерви;
- за принципом осмоанабіозу – згущені молочні консерви з цукром;

– за принципом ксероанабіозу – сухі молочні продукти.

Основними видами продуктів консервування є молоко незбиране згущене з цукром та його різновиди, вершки згущені з цукром та згущені молочні консерви з цукром і смаковими наповнювачами (какао, натуральна кава, цикорій, кавовий напій). Найбільш поширеним продуктом серед згущених молочних консервів є згущене молоко з цукром. Виробляють його з пастеризованого нормалізованого коров'ячого молока випаровуванням у вакуум-випарних установках частини вологи та консервуванням цукром. Основною мікробіотою цього продукту є мікроорганізми, що залишилися після пастеризації, а також мікроорганізми, які потрапили під час виробництва. На молочноконсервних підприємствах застосовують різні температури пастеризації суміші – від 95 до 120 °С. Залежно від прийнятого режиму відбувається селективний відбір мікроорганізмів. За температури до 100°C у молоці залишаються спори, а також мікрококи, ентерококи та термостійкі неспороутворювальні мікроорганізми. За температури понад 100 °С – тільки спори. Надалі та чи інша мікробіота переважає по ходу технологічного процесу та в готовому продукті.

У згущеному молоці з цукром визначаються такі мікроорганізми: спороутворювальні, мікрококи, коагулазопозитивні стафілококи, БГКП, дріжджі, плісеневі гриби. Для спороутворювальних немає умов для розвитку через високу концентрацію цукру, тому їх рідко розглядають як збудників вад згущеного молока з цукром. Мікрококи спричиняють загустіння, гіркий або згірклий смак. Число їх збігається з показником КМАФАнМ, особливо на підприємствах, де використовують пастеризацію до 100°C. Кількість мікрококів у перші 1-1,5 місяця зберігання збільшується від $1 \cdot 10^2$ до $5 \cdot 10^6$ в 1 см³. Потім вони починають відмирати й до кінця року їх вміст наближається до початкового. Тому показник КМАФАнМ може характеризувати бактеріальну забрудненість згущеного молока з цукром тільки при контролі щойно виробленого продукту. Коагулазопозитивні стафілококи у готовому продукті рідко визначаються. БГКП можуть потрапляти в згущене молоко при фасуванні, але умов для розвитку немає, і вони відмирають.

Дріжджі, які зброджують сахарозу, краще розвиваються при підвищеній кислотності молока та зниженій концентрації цукру. Розвиток дріжджів відбувається активно в перші 15-30 днів зберігання, пізніше вони відмирають, тому в старих банках із явно вираженим бомбажем дріжджі можуть бути не визначені.

Плісеневі гриби виникають на поверхні продукту або внутрішній поверхні кришки банки. Найчастіше пліснявіння спричиняє *Penicillium glaucum*. Шоколадно-коричнева пліснява *Catenularia fuliginea* утворює на поверхні продукту ущільнення різного кольору (білого, жовтого чи бурого). У результаті розвитку гриба молоко спочатку стає дещо гущішим, а потім біля основи колонії перетворюється на «гудзик» шоколадно-бурого кольору. З метою попередження пліснявіння рекомендують ретельно слідкувати за

миттям і обсушуванням банок і кришок, закривати банки під вакуумом, зберігати при низькій температурі, в місцях, де рухаються транспортером відкриті банки з продуктом, установлювати бактерицидні лампи.

Мікробіологічний стан молочних консервів має відповідати вимогам, наведеним у таблиці 11.2.

Таблиця 11.2 Мікробіологічні показники згущених молочних консервів

Показник	Молоко незбиране, знежирене, вершки згущені з цукром		Молоко згуще з цукром і какао, вершки згущені з цукром і наповнювачами
	У спожитковому пакуванні	У транспортній тарі	
КМ АФАМ, КУО/г, не більше	2,5-10 ⁴	2,5-10 ⁴	3,5-10 ⁴
БГКП, не дозволено в масі продукту, г	1,0	0,3	1,0
<i>S. aureus</i> , не дозволено в масі продукту, г	1,0	0,1	0,1
Патогенні мікроорганізми, зокрема сальмонели, не допускаються в масі продукту, г	25		25

Сухі молочні продукти отримують сушінням сконцентрованих згущенням молока, вершків, маслянки та сироватки.

Склад мікробіоти сухих молочних продуктів залежить від режимів теплового оброблення на всіх етапах технологічного процесу. Після пастеризації (до 100°C) у нормалізованій суміші залишаються спори бацил і клостридій, а також термостійкі клітини ентерококів, мікрококів, стафілококів. У деяких випадках у молоці визначаються сальмонели, хоча вони й не є термостійкими. Це може бути пов'язано з різким порушенням режимів теплового оброблення молока. При більш жорстких режимах пастеризації переважають спори.

У сухому молоці можуть зустрічатись такі групи мікроорганізмів: спороутворювальні (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. stearothermophilus*), роду *Streptococcus* (*S. thermophilus*, *S. durons*, *S. faecalis*), коагулазопозитивні стафілококи, сальмонели, психротрофні бактерії, плісеневі гриби (р. *Penicillium*), БГКП. Спороутворювальні мікроорганізми спричиняють вади смаку (нечистий), а також харчові отруєння, а мікроорганізми роду *Streptococcus* утворюють кислоту.

Психротрофні бактерії гинуть при термічному обробленні, але при тривалому зберіганні сирого молока за низьких температур накопичують протеолітичні та ліполітичні ферменти, які призводять до вад – гіркий смак

внаслідок розпаду білків і згірклий – внаслідок розпаду триацилгліцеридів. Плісеневі гриби при зволоженні продукту спричиняють пліснявіння. БГКП у процесі виробництва практично не розмножуються й можуть бути показником санітарно-гігієнічного стану виробництва при контролі свіжого сухого молока, тому що при його зберіганні вони відмирають.

Особливо небезпечними є патогенні та ентеротоксигенні мікроорганізми, які можуть розмножуватися при відновленні сухого молока. До них відносять сальмонели, коагулазопозитивні стафілококи і *B. cereus*.

Готові продукти в умовах виробничої лабораторії контролюють за КМАФАнМ, БГКП, кількістю дріжджів і/або плісневих грибів.

В усіх видах сухих молочних продуктів наявність БГКП не допускається в 0,1 г. Кількість МАФАнМ у сухому незбираному молоці та сухих вершках вищого гатунку, сухому знежиреному молоці в транспортному пакуванні, сухому швидкорозчинному молоці, маслянці сухій має бути не більше $5,0 \cdot 10^4$ КУО/г; у сухому незбираному молоці та сухих вершках першого гатунку – не більше $7,0 \cdot 10^4$ КУО/г, у сухому знежиреному молоці в спожитковому пакуванні, сухій молочній сироватці – не більше $1,0 \cdot 10^5$ КУО/г. У сухій сироватці та сухій маслянці кількість дріжджів має бути не більше за 50 КУО/г, а плісневих грибів – не більше 100 КУО/г. Ці показники не нормуються в сухому молоці та сухих вершках.

Патогенні мікроорганізми, в т. ч. *Salmonella*, у 25 г продукту не допускаються, *S. aureus* не допускається в 1 г продукту.

6. Загартоване морозиво – збитий і заморожений до температури не вище -14°C продукт, що потребує зазначеної температури при зберіганні та реалізації з підприємства-виробника.

Мікробіота морозива складається з мікробіоти сировини, яку використовують для його виробництва, та мікроорганізмів, які можуть потрапити в процесі виробництва з обладнання, води, повітря, пакувальних матеріалів тощо.

Мікробіологічний контроль виробництва морозива включає контроль сировини, технологічних процесів, санітарно-гігієнічного стану виробництва та готового продукту.

Молоко-сировину, вершки-сировину, молоко та вершки пастеризовані, масло коров'яче, згущені та сухі молочні консерви контролюють як описано вище. Цукор, цукровий сироп, стабілізатори контролюють на наявність дріжджів і плісневих грибів; плоди, ягоди, пюре, сиропи – на кількість МАФАнМ, дріжджів і плісневих грибів, наявність БГКП; глазур, крем, праліне та інші напівфабрикати – на кількість МАФАнМ і наявність БГКП.

Ефективність пастеризації суміші для морозива контролюють незалежно від якості готового продукту не рідше одного разу на декаду. БГКП не повинні виявлятися в 10 см^3 суміші. Загальне число бактерій 1 см^3 суміші, відібраної після пастеризації, не повинно перевищувати 10 тис. КУО. Крім

того, щодня здійснюють перевірку режиму пастеризації суміші для морозива за термограмами кожної пастеризаційної установки.

При отриманні незадовільних мікробіологічних показників готового продукту проводять додатковий контроль технологічного процесу виробництва морозива для з'ясування причин забруднення продукту.

Паралельно з цим роблять контроль санітарно-гігієнічного стану обладнання. Особлива увага повинна бути приділена якості і регулярності миття резервуарів для збереження сумішей і ліній фасування морозива.

Морозиво на молочній основі контролюють за кількістю МАФАНМ та наявності БГКП у певній масі продукту.

У морозиві на молочній основі кількість МАФАНМ не має перевищувати $1 \cdot 10^5$ КУО/г, БГКП не допускається в 0,01 г, патогенні мікроорганізми, в т. ч. сальмонели, не допускаються в 25 г, золотистий стафілокок – у 1,0 г продукту.

При незначному перевищенні вмісту МАФАНМ (150-200 тис. в 1,0 г) визначають наявність *S. aureus* і сальмонел. Якщо *S. aureus* відсутній у 1,0 г, а сальмонели – в 25 г, партія може бути реалізована за узгодженням із місцевими органами охорони здоров'я.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Капрельянц Л. В., Пилипенко Л. М., Єгорова А. В. та ін. Технічна мікробіологія: підручник / Л. В. Капрельянц, Л. М. Пилипенко, А. В. Єгорова, Я. Б. Пауліна, О. М. Кананихіна, Т. О. Величко, Л. В. Труфкаті, О. О. Килименчук, Т. В. Шпирко; [Під ред. Л. В. Капрельянца]. – Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС: 2020. – 432 с.
2. Технічна мікробіологія: навч.-метод. посібник. / Укл.: Васіна Л.М., Чебан Л.М.– Чернівці: Чернівецький національний університет, 2020. – 124 с
3. Соломон А.М., Казмірук Н.М., Тузова С.Д. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник для студентів напряму підготовки «Харчові технології». – Вінниця: РВВ ВНАУ, 2020. – 312 с.
4. Єгорова А.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв: навч. Посібник/ А.В. Єгорова, Л.В. Капрельянц, Л.В. Труфкаті. - Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС, Стереотип. 2021. – 136 с.
5. Капрельянц Л. В., Пилипенко Л. М., Єгорова А. В. та ін. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник / Л. В. Капрельянц, Л. М. Пилипенко, А. В. Єгорова, Я. Б. Пауліна, Л. В. Труфкаті, О. М. Кананихіна, Т. О. Величко, О. О. Килименчук, О.А. Кручек, Т. В. Шпирко, М.І. Охотська. – Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС: 2024. – 478 с.
6. Технічна мікробіологія: практикум для здобувачів вищої освіти / В.В. Євлаш, Л.В. Газзаві-Рогозіна, А.С. Бикова, О.В. Циганков – Х. : НТУ «ХПІ», ХДУХТ, 2020. – 180 с..
7. Priss, O., Zhukova, V., Holiachuk, S., & Karman, T. (2021). Effect of heat treatment with biopreparation on the quality of tomato fruit during storage. *Technology Audit and Production Reserves*, 3(3(59), 40–45. <https://doi.org/10.15587/2706-5448.2021.235533>
8. Голячук С.С., Гунько Ю.Л., Федорусь Ю.В. Особливості змін окремих фізико-хімічних показників крафтових розсільних м'яких сирів з пробіотиками при їх виробництві. Товарознавчий вісник: збірник наукових праць. – Випуск 16 / Редкол.: ред. Пахолук О.В., відп. секретар Передрій О.І. Луцьк, 2023. С. 19-27. <https://doi.org/10.36910/6775-2310-5283-2023-17>
9. Belova, I., Bakhuklova, K., & Holiachuk, S. (2026). Scientific and technological principles of controlled fermentation in craft production of flour products. *Commodity Bulletin*, 19(1), 82–90. <https://doi.org/10.62763/cb/1.2026.82>

Мікробіологічна експертиза [Текст]: конспект лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти освітньої програми «Експертиза харчових продуктів та продовольчої сировини» галузі знань 6 Інженерія, виробництво та будівництво 613 Харчові технології денної та заочної форм навчання / уклад. С. Є. Голячук. – Луцьк: ЛНТУ, 2026. – 139 с.

Комп'ютерний набір

С.Є. Голячук

Підп. до друку «__»_____2026 р. Формат 60х84/16. Папір офс.
Гарн. Таймс. Ум. друк. арк. 8,69.

Відділ іміджу та промоцій ЛНТУ
43018, м. Луцьк, вул. Львівська, 75

