

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ И СКОРОСТИ РАЗВИТИЯ БАКТЕРИИ *E. COLI* В МЯСНОМ ФАРШЕ

Хакимов Н.Т., студент 4 курса, Родичева А.Н., магистрант 3 курса  
Научный руководитель – к.б.н., доцент Майоров П.С.  
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

**Ключевые слова:** качество, бактерии, мясной фарш, *E. coli*, КМАФАнМ, биобезопасность.

*В статье представлены результаты проведения оценки влияния и скорости развития бактерии E.coli в мясном фарше. Отмечено, что при начальной микробной обсемененности мясного фарша бактериями группы кишечная палочка  $10^3$  КОЕ/г в условиях хранения образцов при комнатной температуре происходит рост начальной концентрации бактерий на 2-3 сутки до уровней, превышающих установленные нормативные значения. При хранении образцов в условиях холодильника тоже самое наблюдалось уже на 4-5 сутки.*

### Введение

Мясо является превосходным источником белка для человека, но оно также очень восприимчиво к микробному загрязнению, что приводит к порче продуктов питания и болезням пищевого происхождения. Постоянно растет число заболеваний пищевого происхождения, вызываемых бактериальными патогенами, такими как *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Listeria*. Продукты питания подвергаются воздействию этих патогенов во время производства, обработки, хранения и упаковки. Физические обработки, включая ультрафиолетовое излучение, высокое давление, сухое тепло и пар, являются действенными методами для уменьшения количества патогенных микробов в сырье. Эти стратегии были приняты во внимание, поскольку со временем использование антибиотиков сократилось. Это связано с тем, что устойчивые к антибиотикам бактерии могут проникать в пищевую цепочку человека и негативно влиять на лечение человека противомикробными препаратами. Однако

хорошо известно, что физические методы снижения микробной нагрузки на сырые пищевые продукты оказывают негативное влияние на органолептические качества продуктов, что снижает их приемлемость.

В связи с этим целью исследования являлось проведение оценки влияния и скорости развития бактерии *E.coli* в мясном фарше.

В качестве целевого объекта наших исследований был использован фарш из куриного мяса.

### Материалы и методы

**Штаммы бактерий и бактериофагов.** В работе были использованы штаммы бактерий *E.coli* Я1, 22, 3254 и бактериофаги Col4-УГСХА, ЕС1, ЕС2, ЕС3, ЕС4, полученные из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновского ГАУ.

Для оценки изучения развития микрофлоры в мясном фарше и оценки влияния и скорости развития кишечной палочки использовали готовый мясной фарш (рис.1)



Рис. 1. Используемые в работе образцы фарша

Питательные среды и реактивы. ГРМ бульон (МПБ) (Оболенск), ГРМ агар (МПА) (Оболенск), среда Эндо (Оболенск), агар бактериологический (Оболенск), пептон сухой ферментативный (Оболенск), хлорид натрия (AppliChem), среды Гисса

(Оболенск), лимонно-амиачное железо (AppliChem), сульфат магния (AppliChem), обезжиренное молоко (AppliChem), гидрофосфат калия двузамещенный (AppliChem), гидрофосфат калия однозамещенный (AppliChem), глюкоза (Оболенск), N-N-диметил-пара-фенилен-диамид (AppliChem), бромтимоловый синий (Оболенск), калия гидроксид (AppliChem), реактив Эрлиха, NO<sub>3</sub> (AppliChem), альфа-нафтол (Оболенск), метиловый красный (Оболенск), перекись водорода, растворимый крахмал (HiMedia), желатин (Оболенск), набор окраски по Граму (Оболенск), иммерсионное масло (HiMedia).

Приборы и оборудование. Лабораторная бактериологическая посуда, холодильники минусовые и бытовые, термостат ТС 1/80 СПУ, микроскоп «Биомед» с видеопотонасадкой, набор для фильтрации фагов (Millipore-Millivac), водяная баня, лабораторные центрифуги СМ – 6 М с угловыми и баккет-роторами, автоклав ГК-100-3, термометр ртутный, дистиллятор, лупа бинокулярная МБС – 9, шкаф сушильно-стерилизационный ШСС – 80.

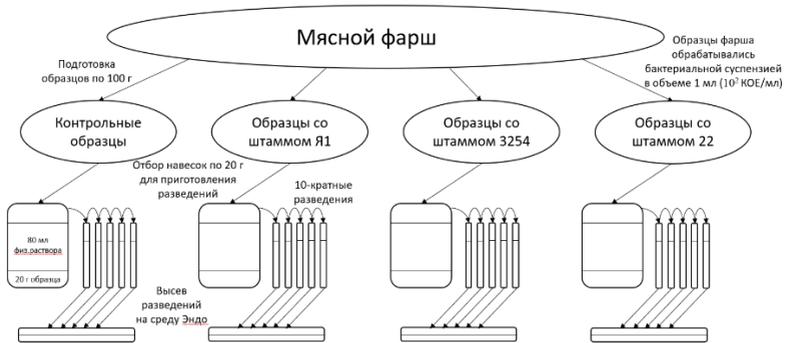
Выделение и идентификацию бактерий проводили по общепринятым бактериологическим методам [8,9,12].

Показатели микробиологического качества мясного фарша определяли в соответствии с действующими нормативными документами: ТР ТС 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции», ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», ГОСТ Р 54354-2011 «Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа».

### **Результаты исследований**

Поскольку исследуемые образцы фарша имели микробиологические показатели, находящиеся в соответствии с действующими стандартами качества, далее были проведены эксперименты, направленные на изучение скорости роста бактерий *E. coli*, которыми исследуемые образцы были искусственно контаминированы.

Была разработана соответствующая схема постановки эксперимента, представленная на рисунке 2.



**Рис. 2. Схема изучения скорости роста бактерий *E. coli* в мясном фарше**

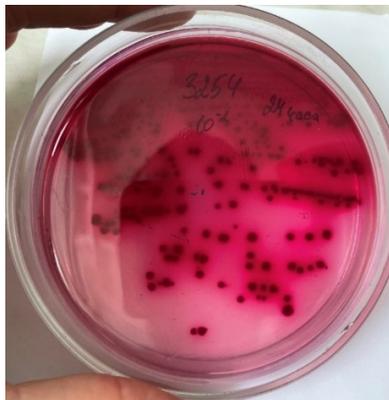
В соответствии с данной схемой были выбраны 2 основных температурных режима хранения мясного фарша, наиболее приближенных к естественным условиям (в условиях холодильника (4°C) и при комнатной температуре (22°C)). Контаминацию исследуемых образцов фарша проводили путем его обработки 1 мл бактериальной культуры в концентрации  $10^5$  КОЕ/мл.

Все исследуемые образцы мясного фарша хранили при заданной температуре в течение 120 часов с ежесуточной фиксацией результатов. Через каждые 24 часа проводили отбор навесок фарша для исследования, далее суспендировали его в физ.растворе и готовили разведения. Из каждого разведения проводили высев на среду Эндо путем внесения 1 мл суспензии и ее распределения по поверхности питательной среды шпателью. Посевы культивировали до 48 часов.

Предварительно, перед постановкой эксперимента было проведено изучение наличия бактерий группы кишечной палочки в исследуемом образце фарша. Роста специфичных колоний на среде Эндо отмечено не было. В дополнение к микробиологическим показателям в процессе постановки эксперимента отмечали изменение в некоторых органолептических показателях (цвет, запах, консистенция).

По истечению 24 часов наблюдали заметное изменение цвета фарша, он приобрел сероватый цвет, ощущался неприятный запах, консистенция оставалась без изменений. Посевы на среду Эндо через 24

часа не показали роста характерных колоний во всех образцах. Спустя 48 часов культивирования посевов отмечали рост характерных для штаммов 3254 и Я1 колоний в 1 и 2 разведениях из образцов фарша, хранившихся при температуре 22 °С, что характеризовала наличие бактерий группы кишечная палочка в 0,001 г (рис.3).



**Рис. 3. Рост бактерий *E.coli* 3254 на среде Эндо при высеве второго разведения суспензии мясного фарша**

Таким образом было отмечено, что при искусственной контаминации образцов фарша бактериями *E.coli* из расчета  $10^3$  КОЕ/г, отмечался рост данных бактерий спустя 24 часа хранения в 0,001 г при допустимых в соответствии с ТР ТС 034/2013 для мясного фарша нормах в 0,0001 г.

По истечению 48 часов выдержки фарша были получены схожие результаты в условиях хранения при температуре 22 °С. Отличием было лишь то, что из 1 и 2 разведений специфичные колонии появились уже спустя 24 часа культивирования посевов из всех трех опытных образцов. При этом их количество было сопоставимо с первым опытом. Также после культивирования первого разведения из образца фарша, обработанного бактерией 3254 и хранившегося при температуре 4 °С, был отмечен рост характерных колоний. Органолептические изменения в фарше были более выраженным по сравнению с предыдущим опытом.

По прошествию 72 часов в образцах фарша, контаминированного микроорганизмами и хранившегося при температуре 22 °С, отмечали

изменение цвета на серый, наличие неприятного запаха и появление ослизнения. По микробиологическим показателям отмечали рост характерных бактерий во всех исследуемых образцах вплоть до 4 разведения, что соответствовало наличию бактерий в 0,00001 г, что явно превышает установленные требования. Образцы фарша, хранившегося при температуре 4 °С показали лучший результат, рост специфичных колоний был отмечен во втором (штаммы Я1 и 22) и третьем (штамм 3254) разведениях.

Спустя 96 часов хранения образцов фарша при температуре 22 °С был отмечен рост характерных колоний из всех разведений, что соответствует уровню 10<sup>6</sup> КОЕ/г. При хранении исследуемых образцов при температуре 4 °С наблюдали более низкую концентрацию микроорганизмов, однако в случае со штаммами Я1 и 3254 она превышала нормативные показатели (табл. 2).

Дальнейшие эксперименты с образцами, хранившимися при температуре 22 °С было принято решение остановить, наблюдалось значительное ослизнение фарша, наличие неприятного запаха и изменение цвет образцов на серый. Работа была продолжена с образцами фарша, хранившимися при температуре 4 °С. Здесь наблюдали также изменение цвета на серый, появление неприятного запаха, но не столь выраженного и появление признаков ослизнения. Спустя 120 часов хранения данных образцов фарша был отмечен рост соответствующих колоний из 3 (штамм 22) и 4 (штаммы Я1 и 3254) разведений, что также превышало нормативные значения. Обобщенные результаты исследования приведены в таблице 1.

**Таблица 1. Изменение количества искусственно внесенных бактерий *E.coli* в мясном фарше при хранении, КОЕ/г**

Время экспозиции, ч	Хранение образцов, обработанных соответствующим штаммом, при температуре 22°С				Хранение образцов, обработанных соответствующим штаммом, при температуре 4°С			
	Я1	22	3254	Контроль	Я1	22	3254	Контроль
24	10 <sup>3</sup>	от	10 <sup>3</sup>	от	от	от	от	от
48	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	от	от	от	10 <sup>2</sup>	от
72	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	от	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	от
96	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	от
120	х	х	х	х	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>

от – рост отсутствовал, х -эксперимент не проводился

Как видно из представленных в таблице 1 результатов контрольные образцы фарша по микробиологическому показателю на протяжении всего эксперимента находились в пределах нормы. При этом отмечалось изменение органолептических свойств. В контрольном образце, хранившемся при температуре 22 °С, наблюдали изменение цвета и появление неприятного запаха уже на 2 сутки эксперимента, в контрольном образце, хранившемся при температуре 4 °С, наблюдали ухудшение органолептических свойств на 4-5 сутки. В соответствии с полученными данными можно отметить, что скорость развития и рост числа клеток бактерий в образцах фарша существенно замедлен по сравнению с культивированием бактерий в питательной среде, однако уже на третьи сутки при температуре хранения 22 °С количество микроорганизмов превосходит установленное нормативами значение. Схожая ситуация наблюдается и с образцами, хранившимися при температуре 4 °С, но с временной задержкой до 5 суток.

### **Заключение**

В рамках проведенных исследований установлено, что при хранении исследуемых образцов фарша в условиях холодильника происходило незначительное увеличения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, при этом данный показатель оставался в пределах нормы в течение всего эксперимента. В случае с образцом фарша, который хранили при комнатной температуре, наблюдался более быстрый рост количества микроорганизмов. Уже через 24 часа отмечалось превышение нормативных значений микробного обсеменения. При этом и в первом, и во втором случае присутствие бактерий группы кишечной палочки в исследуемых образцах отмечено не было. При хранении мяса в условиях термостата отмечался резкий рост количества микроорганизмов в исследуемых образцах. Также отмечался рост бактерий группы кишечной палочки уже через 24 часа, который превышал установленные значения.

Отмечено, что при начальной микробной обсемененности мясного фарша бактериями группы кишечная палочка  $10^3$  КОЕ/г в условиях хранения образцов при комнатной температуре происходит рост начальной концентрации бактерий на 2-3 сутки до уровней, превышающих установленные нормативные значения. При хранении

образцов в условиях холодильника тоже самое наблюдалось уже на 4-5 сутки. При этом стоит отметить, что даже в условиях холодильника наблюдался рост целевой микрофлоры до превышающих нормативные значения уровней.

### **Библиографический список:**

1. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции. Режим доступа: [https://urfu.ru/fileadmin/user\\_upload/common\\_files/docs\\_units/oseb/TR\\_TS\\_021-2011\\_Tekhnicheskii\\_reglament\\_Tamozhennogo\\_sojuza\\_O\\_bezопасности\\_pishchevoi\\_produkcii.pdf](https://urfu.ru/fileadmin/user_upload/common_files/docs_units/oseb/TR_TS_021-2011_Tekhnicheskii_reglament_Tamozhennogo_sojuza_O_bezопасности_pishchevoi_produkcii.pdf)
2. Технический регламент Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (ТР ЕАЭС 040/2016). Режим доступа: <https://mosrst.ru/wp-content/uploads/2020/02/tr-caes-040-2016.pdf?ysclid=luqv9na4fn176122471>
3. ГОСТ 31339-2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб. Режим доступа: [https://www.testprom.ru/img\\_user/gosts/67/120/gost\\_31339-2006.pdf?ysclid=luqv9wur1n849352004](https://www.testprom.ru/img_user/gosts/67/120/gost_31339-2006.pdf?ysclid=luqv9wur1n849352004)
4. Боровков М.Ф., Фролов В.П., Серко С.А. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства. Учебник. – СПб: Издательство «Лань», 2008-448 с.
5. Доценко, В. А. Практическое руководство по санитарному надзору за предприятиями пищевой и перерабатывающей промышленности, общественного питания и торговли : В. А. Доценко. - 4-е изд., стер. - СПб. : ГИОРД, 2013. - 832 с
6. Золотухин С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий: автореф. дис. ... д-ра биол.наук / Ульяновск, 2007. 39 с.
7. Иконникова Н.В. Бактериофаги – вирусы бактерий: учеб. пособие // Минск: ИВЦ Минфина. 2017. 41 с.
8. Исабаев А. Ж. Ветеринарно-санитарная экспертиза продукции птицеводства. Учебно-методическое пособие по специальности 5В120200 - Ветеринарная санитария - Костанай, 2016. - 120 с.

9. Каттер Э., Сулакведзе А. Бактериофаги: биология и практическое // М.: Научный мир. 2012. 636 с.

10. Киселев Л. Ю. Основы технологии производства и первичной обработки продукции животноводства / Л. Ю. Киселев. - Москва : Лань, 2012.

11. Лысакова И.А. Ветеринарно-санитарная экспертиза сырья и продуктов животного и растительного происхождения. Лабораторный практикум: Учебное пособие. – 2-е изд., перераб. – СПб.: Лань, 2015.- 304 с.

12. Молофеева Н.И., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. Фагоидентификация бактерий *Escherichia coli* O157 // Инфекция и иммунитет, 2014. №5. С.98.

13. Arthur M.T., Kalchayanand N., Agga E.G., et al. Evaluation of bacteriophage application to cattle in lairage at beef processing plants to reduce *Escherichia coli* O157:H7. Prevalence on hides and carcasses. *Foodborne Pathog Dis.* 2017;14:17–22

14. Arthur, T.M., Barkocy-Gallagher, G.A., Rivera-Betancourt, M., Koohmaraie, M. Prevalence and characterization of non-O157 shiga toxin production *Escherichia coli* on carcasses in commercial beef cattle processing plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002. 68, 4847–4852.

## ASSESSMENT OF THE EFFECT AND RATE OF DEVELOPMENT OF *E. COLI* BACTERIA IN MINCED MEAT

Khakimov N.T. Rodicheva A.N.

**Keywords:** *quality, bacteria, minced meat, E.coli, KMAFAnM, biosafety.*

*The article presents the results of an assessment of the effect and rate of development of the E.coli bacterium in minced meat. It was noted that with the initial microbial contamination of minced meat with bacteria of the E.coli group  $10^3$  CFU/g under conditions of storage of samples at room temperature, the initial concentration of bacteria increases for 2-3 days to levels exceeding the established normative values. When storing samples in a refrigerator, the same thing was observed for 4-5 days.*