

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ МЯСА ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Шайхатарова А.С., студентка 4 курса
Научный руководитель – к.б.н., доцент Майоров П.С.
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: качество, бактерии, молока, молочнокислые бактерии, свойства, LAB, *Lactobacillus*.

В статье представлены результаты проведения исследований по оценке влияния молочнокислых бактерий на изменение микрофлоры мяса. Полученные результаты показали отрицательный результат по наличию патогенных форм микроорганизмов в пищевом сырье, обработанном кисломолочными бактериями, однако в данном эксперименте уже наблюдается значительное повышение микробной обсемененности исследуемого сырья, но при это она находится в установленных нормативными документами границах в течение 7 суток.

Введение

Молочнокислые бактерии - это группа микроорганизмов, которые играют важную роль в производстве пищевых продуктов. Они используются для брожения молока, чтобы получить йогурт, кефир, творог и другие молочные продукты. Однако, кроме этого, молочнокислые бактерии также могут быть использованы в качестве средства защиты пищевой продукции [1,2,4].

Они обладают антимикробными свойствами, что означает, что они способны убивать или тормозить рост патогенных микроорганизмов, таких как *Salmonella*, *Listeria* и других возбудителей болезней, что делает их важным инструментом для улучшения безопасности пищевых продуктов. Кроме того, молочнокислые бактерии конкурируют за питательные вещества с патогенными

микроорганизмами, что также способствует уменьшению их численности в пищевых продуктах [9-11].

Эти бактерии также способствуют образованию кислоты, что может изменить рН среды, делая её менее пригодной для роста патогенных микроорганизмов. В конечном итоге, такие изменения способствуют безопасности и долговечности пищевых продуктов.

В связи с этим целью исследования являлось проведение оценки влияния молочнокислых бактерий на изменение микрофлоры пищевой продукции.

В качестве целевого объекта наших исследований были использованы образцы мяса свинины, говядины и курятины.

Материалы и методы

В качестве основных объектов исследования использовали 3 референс-штамма молочнокислых бактерий: *Lactobacillus acidophilus* В-2900, *Lactobacillus plantarum* В-5466 и *Lactobacillus paracasei* В-4079. Все указанные бактерии были получены из коллекции кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновского ГАУ. Кроме того, в работе были использованы 5 штаммов молочнокислых бактерий, выделенные из объектов внешней среды.

Для оценки влияния молочнокислых бактерий на микрофлору мяса в работе использовали образцы мяса свинины, говядины и курятины.

Питательные среды и реактивы: ГРМ-бульон (МПБ), ГРМ-агар (МПА), MRS-среда, среда Бликфельдта, LB-бульон, Магниева среда, среда Кесслера, Висмут-сульфит агар, среда Эндо, среда Китта-Тароцци, агар бактериологический, пептон сухой ферментативный, хлорид натрия, карбонат кальция, среды Гисса, сульфат магния, обезжиренное молоко, гидрофосфат калия двузамещенный, гидрофосфат калия однозамещенный, N-N-диметил-пара-фенилендиамид, бромтимоловый синий, калия гидроксид, реактив Эрлиха, альфа-нафтол, метиловый красный, перекись водорода, растворимый крахмал, желатин, набор окраски по Граму, иммерсионное масло.

Приборы и оборудование: набор лабораторной бактериологической посуды, холодильники минусовые и бытовые, термостат ТС 1/80 СПУ, микроскоп «Биомед» с видеофотонасадкой,

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.

Влияние молочнокислых бактерий на развитие микрофлоры мяса оценивали при определении основных санитарно-гигиенических показателей мяса: КМАФАнМ и наличие патогенной микрофлоры. Исследуемые образцы мяса обрабатывали суспензиями соответствующих микроорганизмов, после чего проводили контроль основных микробиологических показателей мяса в процессе его хранения.

Для определения общего микробного числа каждую пробу мяса из расчета 1:10 помещали в колбы содержащие 50 мл стерильного физраствора, и оставляли их отстаиваться на 10 минут. Затем отбирали 1 мл суспензии для приготовления 10-кратных разведений 1:10, 1:100, 1:1 000. Из каждого разведения производили высев на чашки Петри 1 мл суспензии и заливали 9 мл растопленного и охлажденного ГРМ-агара. После застывания засеянные чашки убрали в термостат на 24 часа при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$.

Исследование на наличие БГКП проводили на средах Кесслера и Эндо.

Для определения развития бактерий рода *Salmonella* в исследуемых образцах мяса по 1 мл полученных ранее разведений помещали в магниевую среду и инкубировали посевы при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 ± 1 ч. После культивирования проводили пересев на висмут-сульфитный агар и после инкубирования отмечали рост характерных колоний.

Посев на скошенный агар производили для выделения бактерий рода *Proteus*. Для этого суспензию исследуемого образца мяса бактериологической петлей засевали в нижнюю часть склона и термостатировали при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 ± 1 ч. Наличие бактерий определяли по наличию характерного роста.

Так же начиная со второй недели часть кусков мяса обработали молочнокислыми бактериями, часть бактериями из мясной закваски, а часть оставили контролем и оценивали одни и те же показатели.

Результаты исследований

В качестве контролируемых для данного эксперимента были взяты показатели, нормирующие в соответствии с нормативными документами показатели качества мяса и мясной продукции. Эксперимент проводили в течение 28 дней с еженедельным контролем микробиологических показателей качества. тестовые образцы мяса были обработаны бактериальными суспензиями из расчета 1:20 при начальной концентрации 10^8 КОЕ/мл.

На первом этапе эксперимента был проведен контроль начальных показателей качества пищевого сырья, в качестве которого использовали образцы мяса курицы, свинины и говядины.

По полученным результатам в образце №1 (курица) по подсчетам получилось – $2,4 \times 10^4$ КОЕ/г (рис. 1)

В образце №2(свинина) по подсчетам получилось -3×10^3 КОЕ/г (рис. 2)

В образце №3(говядина) по подсчетам получилось -5×10^3 КОЕ/г (рис. 3)

Приведенные показатели находились в соответствии с нормативными документами в связи с чем эксперимент был продолжен.



Рис. 1. Рост бактерий с образца курицы

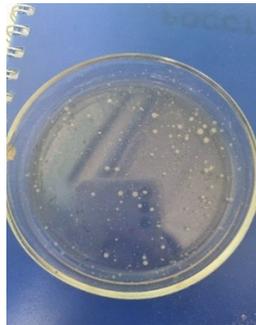


Рис. 2. Рост бактерий с образца свинины

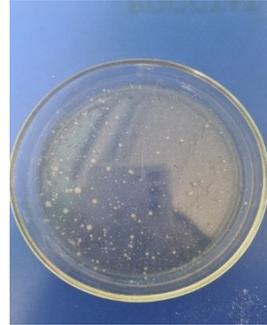


Рис. 3. Рост бактерий с образца говядины

В этот же день был произведен посев на Магниеую среду, на среду Кесслера и на скошенный агар.

На среде Кесслера было отмечено незначительное помутнение среды без изменения ее цвета и образования пузырьков газа. На

Магниево́й среде также отмечено незначительное помутнение среды. На скошенном агаре ползущего роста бактерий отмечено не было.

Спустя сутки с магниевой среды произвели пересев на среду Эндо, а со среды Кесслера был произведен посев на Висмут-сульфит агар. рост специфичных колоний на данных средах после их термостатирования отмечено не было.

Через семь дней были проведены те же самые исследования, но уже с образцами мяса, обработанными исследуемыми бактериями.

Показатель КМАФАнМ несколько увеличился по сравнению с первыми результатами, однако стоит отметить, что частично это обусловлено искусственным внесением бактерий в образцы, обработанные кисломолочными бактериями.

В образце «свинина контроль» показатель составил $3 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В образце «свинина (закваска 1)» показатель составил $4 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В образце «свинина (закваска 2)» показатель составил $9 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В образце «Курица контроль» по подсчетам получилось $2 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

В образце «Курица (закваска 1)» показатель составил $3 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

В образце «Курица (закваска 2)» показатель составил $4 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

В образце «Говядина контроль» показатель составил $5,7 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В образце «Говядина (закваска 1)» показатель составил $2 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

В образце «Говядина (закваска 2)» показатель составил $2 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

После посева на Магниево́ую среду на среду Кесслера никаких изменений не было обнаружено. На скошенном агаре также роста отмечено не было.

На следующие сутки с магниевой среды был произведен посев на среду Эндо, а со среды Кесслера был произведен посев на Висмут-сульфит агар (рис. 4).



Рис. 4. Рост бактерий на Висмут-сульфит агаре

Так же образцы были произведены посева на среду Китта-Тароцци.

Полученные результаты показали отрицательный результат по наличию патогенных форм микроорганизмов в пищевом сырье, однако в данном эксперименте уже наблюдается значительное повышение микробной обсемененности исследуемого сырья, но при это она находится в установленных нормативными документами границах.

Схожие исследования были проведены также через 14 и через 21 день. Патогенных микроорганизмов в пищевом сырье обнаружено не было. Однако показатель КМАФАнМ превышал установленные нормативные значения. Стоит отметить, что все образцы мяса, обработанные молочнокислыми бактериями, обладали характерным запахом ферментированной продукции. В связи с этим был сделан вывод, что молочнокислые бактерий не повышают общий уровень обсемененности мясного сырья по сравнению с контролем, однако для установления воздействия на наличие патогенной микрофлоры необходимо проведение дополнительных экспериментов с искусственной контаминацией исследуемых образцов пищевой продукции.

Заключение

Пищевая ферментация является традиционным методом консервирования пищевых продуктов и технологией их переработки и имеет множество особенностей, таких как разнообразие теста, вкусов и текстур, а также важность для здоровья в целом. Ферментированные продукты улучшают усвояемость благодаря предварительному перевариванию полезных микроорганизмов и предотвращению заболеваний.

В рамках представленной работы была проведена оценка влияния молочнокислых бактерий на изменение микрофлоры мяса. Полученные результаты показали отрицательный результат по наличию патогенных форм микроорганизмов в пищевом сырье, обработанном кислomолочными бактериями, однако в данном эксперименте уже наблюдается значительное повышение микробной обсемененности исследуемого сырья, но при это она находится в установленных нормативными документами границах в течение 7 суток. При большей выдержке отмечали, что показатель КМАФАнМ превышал установленные нормативные значения. Стоит отметить, что все образцы мяса, обработанные молочнокислыми бактериями, обладали характерным запахом ферментированной продукции. В связи с этим был сделан вывод, что молочнокислые бактерий не повышали общий уровень обсемененности мясного сырья по сравнению с контролем, однако для установления воздействия на наличие патогенной микрофлоры необходимо проведение дополнительных экспериментов с искусственной контаминацией исследуемых образцов пищевой продукции.

Библиографический список:

1. ГОСТ 32901-2014 Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа
2. ГОСТ 33951-2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов
3. ГОСТ 10444.12-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов
4. Технический регламент Таможенного союза "О безопасности молока и молочной продукции" (ТР ТС 033/2013)
5. Балаклиец Н.И., Тагаев П.А. – Экология и микроорганизмы. Х.: ХООО НЭО «ЭкоПерспектива», 2015.

6. Васильев, Д.А. Методы общей бактериологии. – Ульяновск, 2016. – 152 с.
7. Васильев Д.А. Практическое руководство по биологической безопасности при работе в бактериологической лаборатории / Д.А. Васильев, А.В. Меркулов, А.А. Нафеев, С.Н. Золотухин // Ульяновск. – 2015,- с. 52.
8. Ившина, И. Б. Большой практикум «Микробиология»/ И.Б. Ившина - СПб. Проспект Науки, 2014
9. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования/А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, Л.П. Ещина. // М.: «Медицина», 2004. – 261с.
10. Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. Bergey's 11. Manual of Systematic Bacteriology, Vol.3. The Firmicutes. 2nd ed. // Berlin.: Springer-Verlag. 2009. 1422 p.
11. Zhu, Y. (2018). Advances in Bioprocessing and Engineering. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
12. Miles, E. A. and Trinci, A. P. J. Effect of pH and temperature on morphology of batch and chemostat cultures of *Penicillium chrysogenum*. Trans. Br. Mycol. Soc. 2013. 81 (2): 193-200.

COMPARATIVE ANALYSIS OF CHANGES IN THE MICROFLORA OF MEAT AFTER TREATMENT WITH LACTIC ACID BACTERIA

Shaikhatarova A.S.

Keywords: *quality, bacteria, milk, lactic acid bacteria, properties, LAB, Lactobacillus.*

The article presents the results of research to assess the effect of lactic acid bacteria on changes in the microflora of meat. The results obtained showed a negative result in the presence of pathogenic forms of microorganisms in food raw materials treated with fermented milk bacteria, however, in this experiment there has already been a significant increase in the microbial contamination of the studied raw materials, but at the same time it is within the limits established by regulatory documents for 7 days.