

12. ГОСТ 26181–84–Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения сорбиновой кислоты.
13. Techakriengkrai, I. Analysis of benzoic acid and sorbic acid in Thai wines and distillates by solid–phase sorbent extraction and performance liquid chromatography / I. Techakriengkrai, R. Surakarnkul //J. Food Composition and Analysis. – 2007. –V 20. – P.220–225.
14. Saad, B. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high– performance liquid chromatography/ B. Saad, Md. Bari, M. Saleh // J. Chromatography A. – 2005. –V.1037. – P.393–397.
15. Дулина, Е. Определение консервантов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. Дулина, В.Литинская //Вісник Харківського нац. університету. – 2005. – Вип 13(36). – №669. – С.134–138.
16. Dong Ch. Headspace solid–phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acid in beverages / Ch. Dong, W. Wang //Anal. Chim. acta. – 2006. – V.562. – P.23–29.
17. Калиновская, И.В. Флуоресцентные свойства разнолигандных карбоксилатов европия / И.В. Калиновская, А.Н. Задорожная, Ю.М. Николенко, В.Е. Карасев // Журн. неорган. химии. – 2006. – 51, №3. – С. 505–509.
18. Барлтроп, Дж., Койл Дж. Возбужденные состояния в органической химии. Пер. с англ. – М.: Мир, 1978. – 446 с.

УДК 664.149:579.67

ИЗУЧЕНИЕ СТЕПЕНИ СЕЛЕКТИВНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТ-ПОДЛОЖЕК К РАЗЛИЧНЫМ ГРУППАМ БАКТЕРИЙ

Мельникова Л.А., канд. биол. наук, Журня А.А., н.с.

Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию, г. Минск

Колосовская Л.С., директор, Сыс И.Е., инженер-микробиолог

Государственное предприятие «Белтехнолеб» РУП Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, г. Минск

В статье приведены результаты изучения степени селективности и чувствительности тест-подложек к различным группам микроорганизмов в сравнении с традиционными методами посева на агаровые среды.

In article results of studying of degree of selectivity and sensitivity of test substrates are resulted in various groups of microorganisms in comparison with traditional methods of crops on agar environments

Ключевые слова: тест-подложки, микроорганизмы, селективность, чувствительность, питательные среды.

Современные требования к качеству и безопасности сырья, полуфабрикатов, готовой продукции и соответственно к срокам хранения обуславливают необходимость постоянного санитарно-микробиологического контроля на всех критических этапах ее производства и хранения. Производство безопасной пищевой продукции высокого качества может быть обеспечено лишь при соблюдении санитарно-гигиенических условий с использованием современных высокоэффективных и простых экспресс-методов санитарно - микробиологического контроля. Традиционные методы качественного и количественного анализа санитарно-показательных микроорганизмов трудоемки, малопроизводительны и не могут быть использованы для оперативного контроля, особенно на предприятиях, где отсутствуют аккредитованные на техническую компетентность бактериологические лаборатории. Поэтому возникает необходимость изыскания более простых, объективных, высокопроизводительных методов санитарно-микробиологического контроля. В последние годы ведущие производители микробиологических питательных сред предлагают более экономичные и простые в использовании питательные среды нового поколения. Одной из таких разработок являются микробиологические подложки, покрытые специальными питательными средами, использование которых позволит проводить упрощенные микробиологические исследования с наименьшими временными и финансовыми затратами.

Целью работы являлось изучение степени селективности и чувствительности тест-подложек серии «Petrifilm» к различным группам микроорганизмов в сравнении с традиционными методами посева на агаровые среды.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись 9 тест-штаммов микроорганизмов различных таксономических групп: *E. coli* M17; *Proteus mirabilis* 94/98; *Morganella morganii* 35/84; *Citrobacter freundii* 3/85; *Klebsiella pneumoniae* K-40; *Sallmonella enteritidis* ЦВЛ; *Staphylococcus aureus* P209; *Serratia marcescens* M 99; *Bacillus subtilis* JP-5832.

Представленные тест - штаммы обладали характерными морфологическими, культуральными и физиолого-биохимическими признаками, а также хорошими ростовыми свойствами.

Культуры микроорганизмов выращивали на скопленном агаре в течение 18 часов, смывали стерильным физиологическим раствором и готовили ряд разведений по оптическому стандарту мутности Фарланда до рабочей концентрации клеток 1×10^2 КОЕ/см³. Из последнего разведения делали контрольные посеы для определения числа живых клеток.

Определение количества и выявление разных групп микроорганизмов с использованием агаровых сред проводили по схеме, предполагающей высев 1 мл взвеси тест-штамма с концентрацией 1×10^2 КОЕ/см³ на соответствующую дифференциально-диагностическую среду с последующей инкубацией, подсчетом и идентификацией выросших колоний микроорганизмов с помощью биохимических тестов. При выявлении и определении количества микроорганизмов на тест-подложках 1 мл или 5 мл взвеси тест-штамма с концентрацией 1×10^2 КОЕ/см³ высевали на тест-подложку, инкубировали посеы и подсчитывали количество выросших, характерно окрашенных колоний.

В работе использовали тест-подложки «Petrifilm Aerobic Count Plate» и «Petrifilm E.coli/Coliform Count Plate», производства компании 3М (США).

Для определения различных групп микроорганизмов классическим методом применяли следующие питательные среды: мясопептонный агар, среду КМАФАнМ, среду Эндо и среду Левина. Среды готовили и автоклавировали согласно рекомендациям производителя.

Все эксперименты проводили в трех повторностях. Результаты учитывали по количеству выросших колоний микроорганизмов с последующим пересчетом колониеобразующих единиц на 1 см³ (КОЕ/см³).

С целью оценки селективности и чувствительности микробиологических тест-подложек применяли 2 серии модельных экспериментов.

1 серия. Исследование степени высеваемости и чувствительности тест-подложек серии «Petrifilm Aerobic Count Plate», для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ).

Общее микробное число или КМАФАнМ отражает степень бактериальной контаминации исследуемого объекта. В настоящее время КМАФАнМ определяют посевом на мясопептонный агар (МПА). В работе определяли степень чувствительности тест-подложек данной серии в сравнении с традиционным методом посева на МПА. Результаты проведенных экспериментов показали, что на микробиологических тест – подложках, предназначенных для определения общего микробного числа, растут все испытанные группы микроорганизмов. При этом их количество соответствует количеству бактерий, выросших на стандартных агаровых средах (таблица 1). При сравнении количества выросших колоний микроорганизмов на различных средах для определения общей бактериальной обсеменённости и на тест-подложках коэффициент корреляции R составил: при сравнении тест-подложек с МПА – 0,89, при сравнении тест-подложек со средой КМАФАнМ – 0,97. Коэффициент корреляции двух стандартных методов – посев на МПА и среду КМАФАнМ при этом был 0,9.

Таблица 1 – Исследование степени чувствительности тест-подложек для определения КМАФАнМ на различных тест-штаммах микроорганизмов

Тест-штамм микроорганизма	Количество колоний, КОЕ/см ³		
	МПА	Среда КМАФАнМ	Тест-подложка
<i>E. coli</i> M17	$(1,6 \pm 0,2) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^2$
<i>Proteus mirabilis</i> 94/98	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^2$	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^2$	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^2$
<i>Morganella morganii</i> 35/84	$(1,6 \pm 0,4) \times 10^2$	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^2$
<i>Citrobacter freundii</i> 3/85	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^2$	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^2$	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^2$
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K-40	$(1,6 \pm 0,2) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^2$
<i>Sallmonella enteritidis</i> ЦВЛ	$(1,5 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i> P209	$(2,1 \pm 0,5) \times 10^2$	$(1,9 \pm 0,4) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,4) \times 10^2$
<i>Serratia marcescens</i> M 99	$(1,6 \pm 0,4) \times 10^2$	$(1,7 \pm 0,4) \times 10^2$	$(1,6 \pm 0,3) \times 10^2$
<i>Bacillus subtilis</i> JP-5832	$(2,1 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^2$	$(2,0 \pm 0,4) \times 10^2$

Таким образом, установлено, что чувствительность тест-подложек серии «Petrifilm Aerobic Count Plate» такая же высокая, как и у традиционных агаровых сред.

2 серия. Исследование селективности и высеваемости микробиологических тест-подложек серии «Petrifilm E.coli/Coliform Count Plate» для определения бактерий группы кишечной палочки (БГКП).

Анализ проведенных исследований по определению степени селективности тест-подложек данной серии позволил установить, что на них хорошо растут все микроорганизмы, относящиеся к БГКП (таблица 2).

В тоже время было отмечено отсутствие роста бактерий, относящихся к родам *Morganella*, *Sallmonella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, что свидетельствует о высокой селективности тест-подложек данной серии.

Анализ результатов проведенных исследований позволил установить, что микробиологические тест-подложки данной серии обладают высокой селективностью в отношении микроорганизмов, относящихся к БГКП.

Таблица 2 – Определение степени селективности тест-подложек для определения БГКП на различных тест-культурах микроорганизмов

Тест культура микроорганизма	Высеваемость колоний на питательной среде, КОЕ/см ³			
	МПА (контроль)	Среда Эндо	Среда Левина	Тест-подложка
2	3	4	5	6
<i>E. coli</i> M17	+	+	+	+
<i>Morganella morganii</i> 35/84	+	+	+	–
<i>Citrobacter freundii</i> 3/85	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K-40	+	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i> 94/98	+	+	+	–/+
<i>Serratia marcescens</i> M 99	+	+	+	+
<i>Sallmonella enteritidis</i> ЦВЛ	+	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i> P209	+	–	–	–
<i>Baillusc subtilis</i> JP-5832	+	–	–	–

Примечание: «–» – отсутствие роста; «+» – есть рост; «–/+» – иногда присутствовал рост, но в меньшем количестве по сравнению со стандартными средами.

Следует отметить, что в 8 % случаев был зафиксирован рост бактерий рода *Proteus*. Выросшие на тест-подложках бактерии оценивали по морфологическим и тинкториальным свойствам (таблица 3).

Таблица 3 – Определение видовой специфичности колоний при росте на микробиологических тест-подложках для определения БГКП

Тест-культура микроорганизма	Размер и форма колонии	Цвет колонии
<i>E. coli</i> M17	Разные	Синие
<i>Citrobacter freundii</i> 3/85	Разные	Красные
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K-40	Разные	Красные
<i>Proteus mirabilis</i> 94/98	Разные, расплывчатые	Бесцветные, желтоватые

Колонии бактерии рода *Proteus* были бесцветными, либо имели желтоватый цвет, тогда как колонии *E. coli* всегда были синего, а колонии БГКП красного цвета.

Для определения коэффициента корреляции между высеваемостью БГКП на микробиологических тест-подложках и средах Эндо и Левина нами были проведены опыты по определению высеваемости энтеробактерий на питательной среде и тест-подложке. На основании сравнительного анализа результатов, было установлено, что коэффициент корреляции между уровнем роста различных микроорганизмов, принадлежащих к БГКП на тест-подложках в сравнении со стандартным посевом на МПА составлял 0,97.

Выводы. Таким образом, на основании полученных результатов исследований установлено, что количество выросших на тест-подложках микроорганизмов совпадает с числом бактерий, выросших на плотных питательных средах (коэффициент корреляции – 0,97). Кроме того, преимущество микробиологических тест-подложек заключается в том, что на их поверхность, возможно высевать значительно больший объем суспензии микроорганизмов (5 мл, а не 0,1 или 1 мл как при работе с классическими агаровыми средами). Это увеличивает статистическую достоверность выявления и количественного опреде-

ления разных групп микроорганизмов, и позволяет быстро и экономически более выгодно, без использования стерилизованных сред и чашек Петри проводить санитарно-микробиологические исследования.

Литература

1. Качество и безопасность продукции: создание и развитие систем управления/А.Б.Лисицин [и др.]; под общ.ред.академика РАСХН А.Б.Лисицина.- М.: Эдиториал сервис, 2010.-312с.
2. Безвредность пищевых продуктов / под ред. Г.Р. Робертса. М.: Агропромиздат, 1986. — 362 с.
3. Донченко, Л.В. Безопасность пищевого сырья и продуктов питания/Л.В. Донченко, В.Д. Надыка. – М.: Пищепромиздат, 1999. – 531 с.
4. Постовит, В. А. Пищевые токсикоинфекции/В.А. Постовит. – JL: Медицина, 1984. –368с.
5. Аверин, Г. Д. Физико-химические основы холодильной обработки пищевых продуктов/ Г. Д. Аверин., Н. Н.Журавская, Э. И. Каухчешвили [и др]. – М.: Агропромиздат, 1985. – 255 с.

УДК 543: 658.562

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАДМИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ И АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

Ребезов М.Б., д-р с-хоз. наук, профессор, Белокаменская А.М., аспирант, Мазаев А.Н., аспирант, Ребезов Я.М., студент
ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет»
(Национальный исследовательский университет), г. Челябинск
Максимюк Н.Н., д-р с-хоз. наук, профессор
ФГБОУ ВПО «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого»,
г. Великий Новгород

Анализ данных показывает, что все результаты исследования проб продовольственного сырья и пищевых продуктов на содержание кадмия, полученные методами инверсионной вольтамперометрии на анализаторе «ТА-4» и атомно-абсорбционной спектроскопии на «Квант-2АТ», по оценке прецизионности и оперативному контролю погрешности с применением метода добавок удовлетворительны.

Data analysis shows that all the results of a study of samples of food raw materials and food products on the content of cadmium, obtained by stripping voltammetry at the analyzer «TA-4» and atomic absorption spectrometry on the «Kvant-2AT», according to the precision and operational control error with additive method are satisfactory.

Ключевые слова: инверсионная вольтамперометрия, атомно-абсорбционный метод, пищевые продукты, кадмий, испытания.

Введение системы технического регулирования безопасности и качества пищевых продуктов, а также внедрение системы ХАССП (анализ рисков и контроль критических точек) снижают уровень риска возникновения опасностей для здоровья потребителей и вместе с тем повышают требования к качеству проведения испытаний пищевых продуктов в соответствии с требованиями СанПиН 2.3.2.1078–01, ФЗ № 88, ФЗ № 90, ФЗ № 178 Российской Федерации. Это определяет необходимость обновления лабораторной базы средств измерений, введение и освоение новых более чувствительных методов исследования, введение стандартов на методы исследований, которые гармонизированы с международными стандартами. В аналитической практике среди инструментальных методов анализа пищевых продуктов и продовольственного сырья по определению содержания тяжелых металлов широко используется атомно-абсорбционная спектроскопия и инверсионная вольтамперометрия.

С целью сопоставления результатов, получаемых данными методами, на кафедре «Прикладная биотехнология» ФГБОУ ВПО «ЮУрГУ» (НИУ) проведен сравнительный анализ результатов исследований пищевых продуктов на содержание кадмия методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторе «ТА-4» и атомно-абсорбционной спектроскопии на «Квант-2АТ».

Экспериментальная часть и методика исследования. Определение кадмия атомно-абсорбционным методом осуществляется в соответствии с ГОСТ 30178–96. Метод основан на минерализации продукта