

НУБІП України

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

07.01 – 1789 "С" 2020. 11. 15. 18 ПЗ

НУБІП України

ХРИСТЮК ПЕТРО ПАВЛОВИЧ
2021 р.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет тваринництва та водних біоресурсів
УДК 619:614.31:639.331.5:628.1

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету
тваринництва та водних біоресурсів
Короненко Р.В.
« » 2021 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри біології тварин
Сахацький М.І.
« » 2021 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

на тему: «Розвиток мікроорганізмів за сухої витримки преміальних стейків з яловичини»

Спеціальність 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва»

Магістерська програма «Спеціальне тваринництво»

Програма підготовки освітньо-професійна

Керівник магістерської роботи

кандидат сільськогосподарських наук, доцент

Осадча Ю.В.

Виконав

Христюк Н.П.

КИЇВ – 2021

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет тваринництва та водних біоресурсів

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біології тварин
доктор біологічних наук, професор

Сахацький М.І.

«22» грудня 2020 р.

ЗАВДАННЯ
ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ
ХРИСТЮКУ ПЕТРУ ПАВЛОВИЧУ

Спеціальність 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва»

Магістерська програма «Спеціальне тваринництво»

Програма підготовки освітньо-професійна

Тема магістерської роботи: «Розвиток мікроорганізмів за сухої витримки преміальних стейків з яловичини» затверджена наказом ректора НУБіП України від «15» 11. 2020 р. № 1789 «С». Термін подання завершеної роботи на кафедру 10.11.2021 р.

Вихідні дані до магістерської роботи: охолоджена яловичина, преміальні стейки, суха витримка, кількісний та якісний склад мікрофлори, склад референт-штамів представників ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*).

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Моніторинг обсіювання охолодженої яловичини при заготівлі на м'ясопереробних підприємствах;
2. Кількісний склад мікрофлори преміальних яловичих стейків;
3. Динаміка кількісного складу мікрофлори яловичих стейків за технології сухої витримки;
4. Якісний склад мікрофлори преміальних яловичих стейків;
5. Склад референт-штамів представників ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*) яловичих стейків «Портерхауз»;
6. Домінантні форми мікроорганізмів, які формують мікрофлору преміальних яловичих стейків у процесі 21-добової сухої витримки.

Перелік графічного матеріалу – схеми, таблиці, рисунки.

Дата видачі завдання «22» грудня 2020 р.

Керівник магістерської роботи

Осадча Ю.В.

Завдання прийняв до виконання

Христюк П.П.

НУБІП України

ЗМІСТ

ВСТУП

5

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

8

1.1. Санітарно-гігієнічні вимоги до одержання якісного та безпечного м'яса

8

1.2. Формування мікрофлори м'яса при заготівлі

11

1.3. Мікробіологічні та біохімічні зміни в м'ясі у процесі холодильного зберігання

15

1.4. Психротрофна мікрофлора м'яса в процесі холодильного зберігання

21

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

28

2.1. Матеріали дослідження

28

2.2. Методи дослідження

29

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

34

3.1. Оцінка обсіювання охолодженої яловичини під час заготівлі на м'ясопереробних підприємствах

34

3.2. Характеристика кількісних змін мікрофлори яловичих стейків за технології сухої витримки

36

3.3. Якісна характеристика мікрофлори яловичих стейків сухої витримки на 21 добу дозрівання

40

ВИСНОВКИ

46

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

48

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

49

НУБІП України

ВСТУП

Актуальність теми. М'ясо і м'ясопродукти становлять значну частину раціону людини, оскільки є джерелом повноцінних білків. Завдяки високій поживності м'ясо, як сировина, є добрим живильним середовищем для розвитку мікроорганізмів усіх груп. Тому під час його короткотермінового зберігання (оходження) застосовують різну температуру з метою зупинки мікробіологічних і біохімічних процесів [14,27,30]. Однак, технологія дозрівання яловичих стейків, які набирають споживчого попиту в Україні, передбачає досить тривалу, до 21 доби і більше, витримку м'яса за плюсових температур без підморожування. За цього здебільшого звертають увагу на контамінацію м'ясних туш мезофільними аеробними та факультативно-анаеробними мікроорганізмами і бактеріями родини *Enterobacteriaceae*, які є показниками дотримання вимог санітарії під час забою тварин [3,21,24,29]. Однак, дослідження показують, що за холодильного дозрівання яловичини мікробіологічні зміни відбуваються завдяки розмноженню, в тому числі, і психротрофної мікрофлори (ПСхМ) [12,16]. Як наслідок, ця група мікрофлори досі вивчена недостатньо, не з'ясовано її гігієнічне і технологічне значення, біологічні властивості, природний резервуар, шляхи циркуляції в технологічному ланцюзі дозрівання яловичих відрубів.

Розуміння динаміки зміни кількісного складу мікрофлори яловичих відрубів, визначення критеріїв контамінації яловичини психротрофною мікрофлорою перед постановкою на дозрівання дозволить обґрунтовано вибрати оптимальні терміни її витримки без порушення органолептичних, фізико-хімічних і мікробіологічних показників. Крім того, під час дозрівання яловичини кількісний і якісний склад мікрофлори поступово змінюється і мезофільна група мікроорганізмів втрачає своє значення як показник гігієнічної безпеки продукції [22,41]. Однак досліджень, які б показували зміни родового і видового складу психротрофної мікрофлори під час сухого чи вологого способу дозрівання яловичини, обмаль або вони не характеризують мікробіологічного процесу в цілому. Такий підхід дозволить виявити найбільш активні види і роди

бактерій, що беруть участь у зниженні якості стейків та дають змогу надалі розробити превентивні заходи з попередження їх обсіменіння.

Мета і завдання роботи. Метою роботи було вивчення особливостей розвитку мікроорганізмів за сухої витримки преміальних стейків з яловичини.

Для досягнення поставленої мети ставилися наступні завдання:

– провести моніторинг обслуговування охолодженої яловичини при заготівлі на м'ясопереробних підприємствах;

– дослідити кількісний склад мікрофлори преміальних яловичих стейків;

– визначити динаміку кількісного складу мікрофлори яловичих стейків за

технології сухої витримки;

– вивчити якісний склад мікрофлори преміальних яловичих стейків;

– визначити склад референт-штамів представників ентеробактерій

(*Enterobacteriaceae*) яловичих стейків «Портерхауз»;

– визначити домінантні форми мікроорганізмів, які формують мікрофлору преміальних яловичих стейків у процесі 21-добової сухої витримки.

Предметом досліджень були яловичі відруби та стейки «Портерхауз» у процесі 21-добової сухої витримки.

Об'єктом досліджень були мікробіологічні показники (ріст мікроорганізмів на поживних середовищах загального та спеціального призначення), морфологічні показники колоній мікроорганізмів (розмір, колір, форма колоній, форма контуру колоній, тип поверхні колоній).

Методи дослідження: мікробіологічні – приготування поживних середовищ загального та спеціального призначення, проведення посівів, культивування мікроорганізмів, ідентифікація референт-штамів мікроорганізмів, *аналітичні* – огляд літератури, узагальнення результатів досліджень, *біометричні* – середнє арифметичне, його похибка, достовірність різниці між середніми арифметичними двох вибірок.

Особистий внесок. Магістрантом самостійно проведено науково-виробничі, експериментальні дослідження та здійснено їх статистичну обробку і аналіз, а також зібрано та узагальнені літературні дані. Самостійно описано та

узагальнено одержані результати, сформульовано висновки та пропозиції виробництву.

Структура та обсяг роботи. Випускна робота складається із вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів досліджень, результатів дослідження та їх обговорення, висновків, пропозицій виробництву та списку використаних літературних джерел.

Робота викладена на 58 сторінках комп'ютерного тексту, містить 4 таблиці та 7 рисунків. Список використаної літератури налічує 93 джерела.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

НУБІП України

1.1. Санітарно-гігієнічні вимоги до одержання якісного та безпечного м'яса

Незважаючи на значний науково-технічний прогрес і нові технологічні розробки хвороби харчового походження на основі мікробного фактора продовжують бути глобальною проблемою в усьому світі. Ступінь забруднення кінцевого продукту залежить від рівня мікробної контамінації сировини, ветеринарно-санітарних процедур, типу і якості обробки продукції, а також умов зберігання [6]. М'ясо і м'ясні продукти – це джерела високоякісного білка, і їх амінокислотний склад, як правило, компенсує недолік в основних продуктах харчування. Вони є постачальниками заліза і цинку, багаті вітамінами групи В.

Правильне використання м'яса та м'ясопродуктів вимагає послідовного розвитку складної системи виробництва і переробки, в тому числі аспекти фінансування та досвіду для будівництва та експлуатації забійних пунктів та м'ясопереробних підприємств, а також способи зберігання і консервації м'яса

[74,75]. Актуальність питання свіжості м'яса та збільшення тривалості зберігання є першочерговою метою для спеціалістів м'ясної промисловості у забезпеченні якості і безпечності продукції. М'ясо має обмежений термін зберігання, а це створює труднощі як для виробників так і для споживачів, для яких зіпсутий продукт є потенційно небезпечний. Сьогодні диктує свої вимоги

і важливим залишається проблема зберігання м'ясних продуктів. Виробники шукають шляхи вирішення, так як теперішні умови їх територіально обмежують і потребують особливих умов при транспортуванні і зберіганні м'яса та м'ясопродуктів [51,61,81]. Згідно з визначенням Британського інституту

досліджень у галузі харчових технологій (UK Institute of Food Science and Technology, IFST) [64] термін зберігання – це час, протягом якого харчовий продукт залишається безпечним, тобто, відповідає всім належним органолептичним, хімічним, фізичним, мікробіологічним і функціональним

властивостям, відповідає вимогам про харчову та поживну цінність за умов його зберігання. Шляхи бактеріального обсіменіння м'яса різні і допускається різна кількість мікроорганізмів [91]. Вимоги до мікробіологічних показників м'яса регламентуються законом, прописані в нормативних документах та згідно з яких визначають мезофільні аеробні і факультативноанаеробні мікроорганізми, бактерії групи кишкової палички (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*), умовно патогенні мікроорганізми (бактерії роду *Proteus*, коагулазонегативні стафілококи, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*) [12,58].

В нормі після забою тварин мікроорганізми повинні виявлятися тільки на поверхні туш, це пов'язано з екзогенним обсіменінням і відповідає санітарним та технологічним вимогам [38,44]. Згідно з Регламентом Комісії (ЄС) № 2073/2005 кількість колоній аеробних мікроорганізмів на тушах ВРХ перед охолодженням повинна становити від $\log 3,5$ КУО/см² до $\log 5,0$ КУО/см², а вміст бактерій *Enterobacteriaceae* – від $\log 1,5$ КУО/см² до $\log 2,5$ КУО/см². За даними ДСТУ 6030:2008 кількість МАФАНМ у м'ясі яловичини свіжої повинна становити до 10 КУО/г, охолодженої – до 1 тис. КУО/г. Бактерії групи кишкових паличок повинні бути відсутні при мікробіологічному дослідженні у 1,0 г свіжого м'яса яловичини, 0,1 г – охолодженого. Бактерії *Listeria monocytogenes* і патогенні мікроорганізми роду *Salmonella* повинні бути відсутні у 25 г продукту. Мікрофлора, що потрапила на м'ясо, швидко проникає в товщу м'язів, особливо біля кісток, сухожиць та зв'язок. Найшвидше проникає у м'ясо умовно патогенна і патогенна мікрофлора. Встановлено, що за температури 14–18 °С дані бактерії за 1–2 дні проникають у м'ясо на глибину від 4 до 14 см. Мікроорганізми, що проникли в м'ясо, виділяють ферменти, під дією яких розпадаються білкові молекули і утворюються леткі речовини [7]. У Регламенті комісії ЄС №2073/2005 наведені гігієнічні критерії технологічного процесу згідно з яким якість яловичини визначають за вмістом МАФАНМ і бактеріями родини *Enterobacteriaceae* на поверхні півтуш чи чверток на 1 см² площі або на 1 см³ змиву зроблений з площі 10×10 см. За ДСТУ 6030:2008 яловичина повинна відповідати мікробіологічним показникам, які визначають в 1 г м'яса глибоких

шарів (2–4 см) згідно з ГОСТ 21237–75 [21]. Рішення Комісії № 2001/471/СЕ від 8 червня 2001 року, встановлює правила регулярної перевірки загальної гігієни, що проводяться на відповідному виробництві, відповідно до Директиви 64/433/ЄЕС про стан здоров'я для виробництва та реалізації свіжого м'яса та Директиви 71/118/ЄЕС про проблеми зі здоров'ям, що виникають від виробництва та випуску м'яса [48]. Мікробне забруднення м'яса та м'ясних продуктів не повинні перевищувати рівнів, які могли б негативно впливати на термін зберігання продукту. Якщо це не так, то м'ясо є непридатним для споживання людиною. Багато вчених сходяться до думки, що патогенні мікроорганізми такі як, золотистий стафілокок, сальмонели, збудник ботулізму зберігають і надалі свою життєздатність у охолодженому м'ясі [67]. У такому м'ясі за встановленого температурно-вологого режиму зберігання продовжують активно розмножуватися неспорутворюючі грамнегативні палички роду *Pseudomonas* та *Achromobacter*, аеробні коки роду *Micrococcus*. Мікробіологічна безпеність м'яса і м'ясних продуктів залишається важливою проблемою санітарії і гігієни. Спалахи харчових бактерійних отруєнь і токсикоінфекцій реєструються навіть у країнах з високим рівнем життя. Це обумовлено значними змінами, які відбулися в ланцюгах розвитку «харчових інфекцій» [82]. Зокрема, антропогенна дія на навколишнє середовище, надмірне застосування антибіотиків у медицині і сільському господарстві «прискорили» еволюцію мікроорганізмів і спричинили до появи серед традиційних контамінантів продовольчої сировини і харчових продуктів штамів із зміненими властивостями, резистентних до біоцидів, із посиленими факторами патогенності. Також технології довготривалого зберігання м'яса в охолодженому стані, пакування в плівку створили сприятливі умови для концентрації в харчових продуктах маловивчених мікроорганізмів.

1.2. Формування мікрофлори м'яса при заготівлі

М'ясо отримують шляхом забивання тварини, знекровлення і розбирання туші. При цьому припиняються всі життєві функції організму, в тому числі і ті, які за життя забезпечували знищення мікроорганізмів, що проникали в організм тварини. Тому отримане м'ясо негайно захищають від мікроорганізмів і їх ферментативної дії. Усвідомлюючи шкідливий вплив мікробів, здійснюють цілеспрямовані профілактичні заходи, по-перше – запобігання обсіанню мікроорганізмами м'яса при заготівлі і по-друге – запобігання їх розмноження. Хоча здається що у м'язовій тканині не повинні виявлятися мікроорганізми проте – це хибна уява. Є два шляхи обсіанню м'яса мікрофлорою: прижиттєвий – ендогенний та забійний – екзогенний. Тварина протягом життя за різних обставин отримує обсіаніння здорових тканин та органів так званий ендогенний тип обсіаніння. Екзогенне обсіаніння характеризується надходженням характерної мікрофлори через шкіру тварини, шлунково-кишковий тракт, обладнання, персонал, одяг або навколишнє середовище. Іншими словами інтенсивність екзогенного забруднення м'ясної сировини залежить від дотримання правил гігієни і дотримання санітарних норм при технологічній обробці туш [50]. Підготовка тварин до забою має важливе ветеринарно-санітарне значення. Шкірний покрив є основним джерелом забруднення бактеріальною мікрофлорою туш м'яса. За даними Ковбасенко В.М. та Горобей О.М. [17], при дослідженні туш м'яса, яке отримане від тварин з порушенням передзабійної підготовки, виділяли сероваріанти БГКП (*O*26, *O*111, *O*145) та сальмонели (*S. paratyphi*, *S. cholerae suis*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*). Інші дослідники [26] також вказують, що між чистотою шкірного покриву тварин і кількістю бактерій на тушах м'яса існує пряма залежність. Білетова Н.В. [4] встановила, що на шкірі і волосяному покриві ВРХ міститься до 700 млн., а в окремих випадках, навіть мільярди мікроорганізмів на 1 см² площі, на поверхні шкіри свиней в ділянці спини 58 млн. мікроорганізмів, а в ділянці живота – до 44 млн. На кінцівках тварин частіше, ніж на голові та шиї виявляються ґрунтові мікроби (аероби та анаероби). При мікробіологічному дослідженні ідентифікували мікроорганізми сальмонел у 26,6 % проб, *E. coli* у 60 %, кокові

форми бактерії у 58 %, бактерії роду *Proteus* у 55 %, спорів гнильних бактерій у 100 % проб, відповідно. Тому тварини перед забоєм проходять санітарну обробку.

Також важливим є зняття шкіри з забитих тварин. Зазвичай на забійних пунктах використовують механічне зняття шкур із туш ВРХ у підвішеному стані, проте це може відбуватися як за передні так і за задні кінцівки. При порушенні санітарно-гігієнічних вимог кількість мікроорганізмів на поверхні туші є значною і у змивах становить на 1 см² площі, в середньому, більше 600 тисяч

[15]. Не менш важливим є контамінація м'яса мікроорганізмами із шлунково-кишкового тракту тварин. Існують правила годівлі та напування тварин перед забоєм. Коням припиняють згодовувати корми за 18–24 години до забою, свиням – за 8–12 годин, а напування тварин припиняють за 3 години з метою зменшення кількості вмістимого у шлунково-кишковому тракті і зниження кількості сечі в

сечовому міхурі [77]. При недотриманні технологічних умов переробки туш тварин і не достатній компетентності персоналу з шлунково-кишкового тракту у м'ясо може потрапити велика кількість патогенних мікроорганізмів, зокрема, БГКП, *Proteus spp.* Згідно з літературних даних [55,85] вже через 15–20 хвилин після забою у мезентеріальних лімфатичних вузлах виявляли в середньому 30

тис. бактерій різних видів, через 35–40 хвилин – понад 400–500 тис., а через 1–1,5 години – більше мільйона. Тому, для запобігання поширення мікрофлори у м'ясо туш рекомендують максимально швидко видаляти шлунково-кишковий

тракт. У після забійному м'ясі переважає кількість грамнегативних бактерій і виділяється у 67–74 % досліджених проб, а дані мікроорганізми у 69 % випадків можуть спричиняти виникнення бактеріальних захворювань, що передаються їжею.

Часто також із м'яса виділяються *Bacillus spp.*, які є спороутворюючими бактеріями і часто наявні у ґрунті. Інші дослідники повідомляють про наявність *Pseudomonas*, *Escherichia*, та інших грамнегативних бактерій в зразках сирого

м'яса [70]. Hayes J. R. та ін. [59] виявили *Enterococcus spp.*, які становили більшість домінуючих бактерій у 99 % всього м'яса (курки, індички, свинини та яловичини) в Росії та штат Айова. Виникнення таких бактерій-ізолятів на зразках

м'яса визначається умовами зберігання та обробки. Cervený J. та ін. [45] вказують, що умови зберігання впливають на тип мікробів, виявлених у м'ясі та м'ясних продуктах. Ентеробактерії часто присутні на охолоджених м'ясних продуктах і найчастіше виявляються мікроорганізми *Clostridium freundii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* і рідше штами з родів *Klebsiella*, *Shigella sonnei* і *Proteus*. Інші вчені [78] найбільше з м'яса виділяли бактерії *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*, які відносяться до нормальної мікрофлори людей і тварин. Відсутність сальмонел у м'ясі свідчить, що було вжито запобіжні заходи, прийняті заготівельниками. Окрім мікроорганізмів на поверхні м'яса після забою й розробки туш наявні мікроскопічні гриби роду *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* та інші. Також, виявляють факультативно-анаеробні мікроорганізми роду *Proteus*, які згодом викликають псування м'яса. За даними дослідників [89] на поверхні охолоджених туш яловичини кількість мікроорганізмів коливається від $3,70 \pm 0,20 \log \text{ КОУ/см}^2$ до $6,90 \pm 0,43 \log \text{ КОУ/см}^2$. Початкова поверхнева мікрофлора м'яса великої рогатої худоби була представлена наступними групами бактерій: стафілококи, мікрококи, протей, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Serratia*, *Hafnia* та *Escherichia*. Оцінка мікробіологічної небезпеки показує ключову роль психротрофних мікроорганізмів при забіі тварин. Аналіз досліджень вчених Maskey B. M. та Roberts T. A. [72] вказує на те, що кількість мікроорганізмів, які виділяються на м'ясних тушах, коливається залежно від досліджуваної частини туші: найбільше мікроорганізмів виділялося з грудини, крижів та шийної частини. М'ясо та м'ясні продукти забезпечують відмінні умови для росту різної мікрофлори (бактерій, дріжджів, цвіль), деякі з яких є патогенними мікроорганізмами. Кишковий тракт і шкіра тварини є основними джерелами цих мікроорганізмів. Склад мікрофлори м'яса залежить від різних чинників: практика попереднього скотарства (вільне від інтенсивного вирощування); вік тварини під час забою, поводження під час забою, епіляції та переробки; контроль температури під час забою, обробки та зберігання, типу упаковки та поводження при зберіганні. Профілактичні заходи є основною

вимогою при боротьбі з харчовими токсикоінфекціями, їх дія спрямована на зниження кількості патогенних та умовно-патогенних бактерій. Контроль за об'єктами при забої тварин, обробці туш, умов їх зберігання та реалізації забезпечує безпеку харчових продуктів [64].

Відомо що контамінація м'яса бактеріями здійснюється на всіх етапах його виробництва [66]. Цьому сприяють багато факторів, зокрема: не дотримання належних санітарно-гігієнічних вимог щодо підготовки тварин до забою, стан приміщень, дезінфекція обладнання і приміщень, кваліфікація персоналу, гігієна персоналу, наявність комах, гризунів, птахів та інших тварин. Не менш важливим чинником контамінації м'яса мікроорганізмами є сезонність і умови на різних бойнях [88].

Отже, для отримання якісної м'ясної сировини на м'ясопереробних підприємств слід враховувати значну кількість факторів, зокрема, покращення якості м'яса та дотримання правил ветеринарно-санітарно контролю під час технологічного процесу переробки, удосконалення технологічного обладнання та наявних технологій на підприємстві [8,93]. Повністю усунути контамінацію м'яса практично неможливо, але можна звести її до мінімуму, проводити ретельний огляд перед та під час забою тварин на м'ясо і після подальшої його переробки. Такий контроль – найважливіший елемент «належних виробничих і гігієнічних практик» (відповідно GMP, GHP) і програм HACCP, які направлені на отримання безпечних м'ясопродуктів належної якості [29,63]. Нині харчові інфекції і токсикози, які спричиненні шигатоксинпродукуючими *E. coli*, антибіотикостійкими сальмонелами, ентерококами, стафілококами, кампілобактеріями, лістеріями, психротрофними патогенами, викликають особливу тривогу, оскільки більшість цих агентів походять із числа представників нормомікрофлори шлунково-кишкового тракту тварин, птиці, людини, а також з навколишнього середовища [92]. Тому, вивчення мікрофлори навколишнього середовища забійних підприємств і вплив її на формування мікрофлори м'яса за різних технологічних і санітарних умов є питанням актуальним.

1.3. Мікробіологічні та біохімічні зміни у м'яса в процесі холодильного зберігання

М'ясна промисловість та технологія отримання м'ясної сировини є і була трудомісткою та високовартісною галуззю. М'ясо в процесі обробки та зберігання піддається змінам, особливу небезпеку для нього становить бактеріальне обсіменіння. Існує три основні механізми псування м'яса та м'ясних продуктів після забою і під час їх обробки та зберігання: мікробне псування, окислення ліпідів та ферментативне (автолітичне) псування. Джерелом мікробного псування є цілий ряд факторів, а основними попередниками змін продукту є цвілеві гриби і поверхнева мікрофлора. Цвілеві гриби характеризуються небезпекою швидкого спороутворення та високою здатністю поширення. Як наслідок м'ясний продукт втрачає товарний вигляд та змінюються органолептичні показники. Мікроорганізми та гриби впливають безпосередньо на клітини м'яса, змінюючи при цьому склад жиру та білку в ньому, а також, продукують токсичні речовини, які руйнують клітини. Тому збереженість якості м'яса і м'ясопродуктів та збільшення тривалості його зберігання є актуальним питанням до якого залишається інтерес вчених усього світу [51,57].

Під час зберігання м'яса і м'ясопродуктів вони піддаються впливу факторів навколишнього середовища і як наслідок в хімічному складі продукту проходять небажані для споживача зміни. Частіше всього зміни відбуваються під дією ферментів мікроорганізмів. Зміни кількісного складу мікрофлори напряму залежить від умов холодильника та температурних режимів зберігання охолодженого й 52 замороженого м'яса, а розмноження мікрофлори може зумовлювати псування продукту [68,81].

В експериментах *in vitro* встановлено, що *E. coli*, *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, які виявлені в охолодженому м'ясі, здатні брати участь у формуванні біоплівки у діапазоні температур 37–38 °С – 4–5 °С [35].

Вчені шукають шляхів для того щоб збільшити терміни зберігання м'яса, вони навчилися контролювати розвиток патогенних мікроорганізмів [65].

Появилось багато досліджень спрямованих на вивчення характеристики взаємодії мікроорганізмів у процесі переробки і зберігання м'яса. Було встановлено, що не всі наявні і виділені мікроорганізми піддаються розмноженню, а лише їх частина, під дією котрих і відбувається псування. До важливих факторів псування належать також величина рН, склад і структура сирого або переробленого м'яса, але основними з них є температура зберігання [77,84].

Упаковка продукту є так званим бар'єром на шляху проникнення мікроорганізмів. Сьогодні часто застосовують метод видалення кисню в упаковці або заміна його іншим газом, наприклад, азотом чи CO_2 , це призводить до змін середовища, розвиваються мікроорганізми і тим самим – до зміни моделей псування. Таким чином для охолоджених м'ясопродуктів під час зниження парціального тиску кисню та збільшенні частки CO_2 в газовому середовищі упаковки переважна мікрофлора, що викликає псування, змінюється: замість психротрофних грамнегативних бактерій (домінуючими серед яких є псевдомонади) починають домінувати психротрофні грампозитивні бактерії (головним чином, молочнокислі бактерії). Таким чином зміни які відбуваються в середині упаковки пов'язані зі зміною умов газового середовища в упаковці м'яса з аеробних на анаеробні або мікроаерофільні, добре відомі і широко висвітлені в літературі [46].

Як показує досвід зміна кількісного складу мікроорганізмів у процесах псування м'яса стало основою у вирішенні питання консервування м'яса. Завжди увага приділяється і шукаються додаткові шляхи для допомоги класичним способам консервування й пакування, які знижують контамінацію і зупиняють ріст та розмноження мікроорганізмів у сирому м'ясі і продуктах м'ясопереробки. До переліку таких бар'єрів відносяться новітні технології з деконтамінації свіжого м'яса, а також застосування натуральних антимікробних речовин, методика біоконсервування, з використанням пакувальних матеріалів, випромінювання та інших методів у різному їх поєднанні [29,47].

Хотілося б наголосити, за яких умов охолодження не завжди може запобігти швидкому мікробіологічному псуванню свіжого м'яса або

м'ясопродуктів – це метод охолодження у поєднанні з вакуумною упаковкою або в модифікованому газовому середовищі [57]. Найважливішим фактором псування залишається температура і газове середовище в упаковці. За правильної температури зберігання розвиваються психротрофні види мікроорганізмів, за цих умов знижується швидкість розмноження всіх мікроорганізмів, припиняючи або затримуючи їх розмноження в аеробних умовах зберігання продовжується в декілька разів. Виходячи з цього стає очевидним, що для зниження обсіання м'яса мікроорганізмами, необхідно підтримувати низьку температуру. Тобто вести строгий контроль температурних режимів [71,84].

Кількість мікроорганізмів на пряму залежить від терміну придатності і ступеня псування м'яса і м'ясопродуктів. У разі перевищення їх кількості продукт стає неприйнятним. Визначити границю псування надзвичайно складно, велику роль відіграють специфічні мікроорганізми псування (СМП), які переважають у м'ясопродуктах за наявних умов зберігання, а не від загальної кількості мікроорганізмів. Кількість СМП і органолептичні показники можуть суттєво відрізнитися, все залежить від розщеплення катаболізмом конкретних компонентів м'яса, що є важливими середовищем для розмноження мікроорганізмів (наприклад, глюкози), або з продукуванням СМП певних продуктів катаболізму. Науковцями запропоновано метод застосування подібних метаболітів як хімічні індикатори псування, виявлення яких у м'ясопродуктах прискореними методами дозволить виявити процеси псування на ранніх стадіях і з прогнозувати терміни придатності на основі кінетичного моделювання [36,56,83].

Найчастіше у свіжому м'ясі виявляють бактерії родів *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Aeromonas*, *Shewanella putrefaciens*, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta*, *Micrococcaceae*, *Clostridium*, *Camobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, а також *Weissella* [54].

Переважає кількість цих бактерій – це грамнегативні паличкоподібні оксидазопозитивні сапрофіти роду *Pseudomonas* та пов'язані з ними бактерії роду каталазопозитивні кокові форми (*Micrococcus*), також виявляються дріжджі

(*Cryptococcus*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*). Проте, їх кількість варіює в процесі псування і деякі види стають домінуючими. Зрозуміло, що псування залежить від виду м'яса, значення рН та умов навколишнього середовища [24].

Грамнегативні бактерії володіють найбільшою здатністю до псування м'яса, за умови зберігання його в аеробних умовах, домінуючою є мікрофлора родів *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* і *Moraxella*. Отже, навіть якщо м'ясо і м'ясопродукти отримані з дотриманням санітарних умов забою тварин, транспортування, зберігання та переробки, м'ясо чи м'ясна сировина може набути змін, що призведе до його псування, це в свою чергу до зниження якості або ж повної непридатності до використання для харчових цілей людей [60].

Дослідження, що стосуються безпеки харчових продуктів та якості м'яса, протягом останніх років значно зросли. Окислення ліпідів є однією з головних причин органолептичних змін і втрати якості м'яса, при цьому вони окислюються до токсичних сполук, які можуть бути шкідливими для здоров'я людини. Також окислення ліпідів несе відповідальність за зменшення терміну придатності, під впливом температури та часу зберігання м'яса. Швидкість окиснення ліпідів у м'ясі залежить від балансу між ендогенними і екзогенними фактори, які впливають на м'ясо [90].

Ендогенні фактори включають загальний ліпідний вміст, склад жирних кислот у жирі, типи та кількість заліза, природні антиоксиданти (камесин, ансерин, токоферол), а також антиоксидантні ферменти (каталаза, супероксиддисмутаза та ін.) [46]. Екзогенні фактори включають наявність кисню, додавання солей, а також температурні умови під час виробництва м'яса, зберігання і реалізації. Сприйнятливість до окиснення ліпідів у м'ясі коливається залежно від виду м'яса та регіону походження. Ряд дослідників [80] вивчали процеси окиснення ліпідів у м'ясі яловичини, свинини, птиці та риби за наявності психотропної мікрофлори. Дослідження, в основному, були проведені щодо окислювальних процесів в м'ясі птиці, які виявили динамічне збільшення кількості продуктів окиснення під час зберігання за умов холоду. Зберігання продуктів харчування охолодженням загально визнано як ефективний метод їх

збереження. Обмежувальним чинником такого типу зберігання є наявність психотропних мікроорганізмів, які знижують якість та безпечність м'яса в умовах низьких температур [41].

Зміни, які погіршують якість м'яса, спостерігаються значно раніше.

Обидва процеси пов'язані з активним розмноженням мікроорганізмів. Разом з ростом і розмноженням мікробів розвивається їх ферментативна активність. Для того щоб речовини, що містяться в м'ясі, а саме вуглеводи, білки і жири, можна було використовувати в якості поживних речовин, їх потрібно спочатку перетворити з непоглинаючого стану в речовини, які придатні для всмоктування.

Для цього мікроорганізми в субстрат виділяють екзоферменти, які здійснюють відповідні перетворення. Як джерело живлення мікроорганізми спочатку використовують вуглеводи. Однак вміст вуглеводів в м'ясі незначний, тому за вуглеводами слідують білки, в той час, як жири являють собою саму резистентну субстанцію. Однак названі речовини використовуються не один за одним, тому що початкові стадії їх розкладання перетинаються. Вуглеводи, які представлені головним чином у формі глікогену, розщеплюються до моносахаридів і в цьому вигляді, а рідше навіть у вигляді дисахаридів, всмоктуються. Розщеплення відбувається у клітині мікроорганізму під дією внутрішньоклітинних ферментів, в основному, за схемою Ембден-Мейергоф-Парнас (EMP) [22].

Серед мікроорганізмів, які здатні розщеплювати вуглеводи, є дуже велика кількість штамів родів *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, родини *Enterobacteriaceae* і дріжджів [73]. Білок шляхом гідролізу розщеплюється до полі-, три- і дипептидів і до амінокислот. Частина амінокислот може використовуватися в якості поживних речовин клітинами мікроорганізмів відразу, а інша частина розщеплюється далі. Відбувається це головним чином двома шляхами: в процесі дезамінування і декарбоксілювання. У процесі утворюються аміни, які є типовими продуктами гниття. Велике число речовин, які швидко утворюються, розпадаються або змінюються, мають неприємний запах. Особливо це відноситься до розщеплення сірковмієних амінокислот, при наявності яких поряд з аміаком утворюється і сірководень, який має незначну

порогову величину запаху. Крім того, утворюються і такі речовини, як метилмеркаптан, етилмеркаптан і диметилсульфід. Типовими продуктами гниття вважаються аміак, сірководень, аміни, альдегіди, меркаптани, легкі жирні кислоти, спирти і метан. На наступних стадіях гниття утворюється фенол, крезол, індол, скатол, вода, водень і двооксид вуглецю [22].

Окислювальні процеси за холодильного дозрівання яловичини не припиняються, а лише сповільнюються, залежно від температури, в якій витримується м'ясо. Чим ближче температура до 0 °С, тим повільніше процес окислення. Також на процес ліполізу впливає наявність ліполітичних ферментів, характерних для м'язової тканини, а також екзогенні, відповідно, бактеріальні ферменти [42].

У ході дозрівання яловичини відбуваються процеси розкладання м'яса з наявними біохімічними процесами [10]. За температури зберігання від 0 до +5 °С з часом протікають небажані біохімічні, гідролітичні процеси, що призводять до погіршення якості м'яса. Білки розпадаються до аміаку та інших небажаних азотистих з'єднань, і підвищується загальне мікробне обсіменіння м'ясної сировини і т. д. [14,19]. Існують дані, що застосування електроактивованих водних розчинів дозволяє підвищити якість готової продукції і продовжити терміни зберігання [32]. Тому, нині не розв'язаною у м'ясній промисловості залишається проблема нормування вмісту психротрофної мікрофлори та методи визначення їхнього вмісту в свіжому, охолодженому м'ясі та готових м'ясних продуктах, які зберігаються в умовах холодильника. Адже, під час зберігання охолодженого м'яса і м'ясних продуктів кількісний і якісний склад мікрофлори поступово змінюється і така група мікроорганізмів як мезофільна (МАФАНМ) втрачає своє показове значення гігієнічної безпеки продукції. В той же час, психротрофна мікрофлора продовжує активно розвиватися і стає домінантною, а також, розмножується не тільки на поверхні, а й в середині м'ясного продукту.

1.4. Психротрофна мікрофлора м'яса в процесі холодильного зберігання

Холодильне зберігання м'яса, яке передбачає суха витримка яловичини у процесі її дозрівання, зумовлює зміну мікробіологічного процесу в продуктах, де основну роль відіграє холодолюбива мікрофлора. Ця група мікроорганізмів відрізняється від інших низькою біохімічною активністю. Аналізуючи наукові праці вчених у даній галузі науки упродовж останніх років та на значний накопичений матеріал, виявлено, що в науковій літературі гостро постала потреба зробити системний аналіз проблеми – біології кріомікрофлори опираючись на базові існуючі новітні фундаментальні знання про фізіологію і екологію мікроорганізмів у екстремальних умовах.

Глибина теоретичних даних предмету будь-якої науки, в тому числі санітарії, гігієни і експертизи харчових продуктів ґрунтується на тлумаченні термінів і понять. Тому, що саме в поняттях і категоріальних принципах концентруються результати історичного розвитку науки [9]. З метою обґрунтування існування мікрофлори особливої фізіологічної групи, яка має властивості розвиватися за умов низьких температур, вчені запропонували вживати декілька термінів і понять: «кріомікрофлора», «психрофіли», «психротрофи», які залишаються необґрунтованими і використовуються в гігієні харчових продуктів, доволіно виходячи від поглядів науковців. У той же час, без належного тлумачення даних термінів, подальше науковопрактичне вирішення визначеної проблеми в цілому губить сенс.

Враховуючи температурні діапазони росту і розвитку мікроорганізмів, які існують в навколишньому середовищі, вчені розділили мікрофлору на такі групи: психрофільну, психротрофну, мезофільну і термофільну (табл. 1.1) [7].

Таблиця 1.1
Характеристика мікрофлори за відношенням до температури °С

Групи мікрофлори	Температурні діапазони для розвитку груп мікрофлори		
	мінімальні	оптимальні	максимальні
Психрофільна	0 і нижче	+15	+20
Психротрофна	від +5 до 0	не визначається	не визначається

Мезофільна	від +8 до +10	від +30 до +35	від +40 до +45
Термофільна	від +25 до +30	від +45 до +50	+65

Психротрофи (від грецького *psychros* – холод) представлені бактеріями, які розвиваються при низьких температурах від (-5°) до $20-35^{\circ}\text{C}$. Серед них виділяють підгрупу психрофілів, не здатних до росту при температурі вище 20°C . Це бактерії, які постійно живуть в умовах низьких температур у воді глибоких озер, північних морів і океанів. Другу дуже велику підгрупу складають психротрофи – бактерії, що пристосувалися до дії змінних температур від (-5°) до $20-35^{\circ}\text{C}$. Вони населяють зону помірного клімату з різкими температурними коливаннями зими і літа, тобто харчові продукти [7, 33].

До мезофілів (від грецького *mesos* – середній) відносять переважну масу прокаріотів, для яких температурний діапазон лежить у межах $10-45^{\circ}\text{C}$ при оптимальних температурах $30-40^{\circ}\text{C}$. У цю групу входить більшість патогенних бактерій, які викликають захворювання теплокровних тварин і людини, що мають температурний оптимум близько 37°C [7, 33].

Термофіли (від грецького *thermos* – тепло, жар) складають досить велику і різноманітну групу бактерій, які ростуть у температурному діапазоні від 10 до $55-60^{\circ}\text{C}$. Їх виділяють із гною, торфу, ґрунту і води гарячих джерел. Серед них є факультативні термофіли, що однаково успішно розвиваються як при температурі $55-60^{\circ}\text{C}$, так і при $10-20^{\circ}\text{C}$, і облігатні термофіли, не здатні до росту при температурі нижче 40°C . Порівняно недавно виявлені екстремальні термофіли, температурний оптимум яких лежить вище 70°C [7, 33].

Таким чином, як видно з даних публікацій чіткої межі для розділення мікрофлори не існує, в тій чи іншій групі завжди будуть виділятися мікроорганізми, температурні межі росту яких не вкладаються в запропоновані рамки. Тому для більш глибокого розуміння об'єктивних умов існування крім мікрофлори м'ясних продуктів важливе значення має розгляд і вивчення їх з екологічних позицій біологічної науки, яка вивчає такі питання, як

співвідношення організму і середовища, від яких залежить їхній успішний розвиток, виживання і розмноження [16,25]

Більша частина нашої планети (світовий океан) має температурний діапазон нижче $+5^{\circ}\text{C}$. Вода світового океану становить близько 71 % поверхні планети, а біля 90 % його води мають температуру нижче $+5^{\circ}\text{C}$. Тому термостабільні середовища, температура, яких становить приблизно $+5^{\circ}\text{C}$, названі «психрофільними». Ці середовища заселені психрофільними мікроорганізмами, до яких, за твердженням R. Morita [76], відносять мікрофлору, яка може в температурному діапазоні від 0°C до мінусових температур та до $+20^{\circ}\text{C}$ але не вище. Оптимальна температурна межа розвитку цієї мікрофлори становить $+15^{\circ}\text{C}$.

На думку вчених [2], природні середовища, які мають широкий діапазон температурних від 0°C і нижче та до температури, яка притаманна для розвитку мезофільної мікрофлори (від $+20$ до $+39^{\circ}\text{C}$) прийнято називати «психротрофними». Психротрофами вважають ті мікроорганізми, які мають змогу розвиватися за $+5^{\circ}\text{C}$ або нижче, не враховуючи максимальні чи оптимальні температурні межі розвитку. Враховуючи такі характеристики, психрофілами необхідно називати такі мікроорганізми, які підлягають визначенню R. Morita [76], а психротрофами – всю іншу групу мікрофлори, яка розвивається за низьких температурних режимів. На даний час прийнято вважати, що мікроорганізми, які існують у навколишньому середовищі, де постійно низька температура ($+5^{\circ}\text{C}$), в процесі філогенезу виробили такі ензимні системи, які активно функціонують в доволі вузьких температурних режимах. Як наслідок психрофільні мікроорганізми здійснюють метаболізм безперервно, а для свого живлення використовують екзогенні джерела [3]. За відсутності цих джерел живлення існування психрофільних мікроорганізмів неможливе. Таким чином з літературних джерел видно, що наявність психрофільної мікрофлори, яка підлягає під визначення R. Morita [76] в навколишньому середовищі, забійних цехів, м'ясопереробних підприємств, в торговельній мережі помірно кліматичної зони не можливе.

У той же час, на відміну від психрофільної групи мікрофлори, психротрофна мікрофлора здійснює метаболізм не постійно. За наявності оптимальних умов існування мікроорганізмів проходить, так званий первинний метаболізм. При зниженні температури навколишнього середовища до $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ або нижче, мікроорганізми запускають процеси вторинного обміну речовин. Мікроорганізми перестають ділитися і продукують значну кількість ензимів, які перетворюють продукти первинного метаболізму у вторинні продукти [3,28].

Отже, виживання мікробних клітин психротрофних мікроорганізмів пов'язане з активним вторинним обміном речовин. Однак і для вторинного обміну необхідні оптимальні температурні умови середовища. Оптимальна температура для вторинного метаболізму повинна бути на $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ нижче від оптимальної для розвитку цього мікроорганізму і бути в діапазоні вузьких величин біля $5\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Таким чином, враховуючи вище оглянуті літературні джерела, психротрофна мікроорганізми мають два чітких температурних оптимуми: перший для росту, а другий для проходження активного вторинного обміну речовин. За мінусових температур під час замерзання клітини мікроорганізмів переходять у стан анабіозу. Збалансоване здійснення вторинного обміну речовин та перехід у стан анабіозу забезпечує психротрофній мікрофлорі тривале виживання в екстремальних умовах навколишнього середовища [79].

Частина вчених [43] вважають, що в процесі еволюції психрофільні мікроорганізми сформувалися значно раніше, порівняно з психротрофними.

Важливою перевагою, які мають психротрофні мікроорганізми – це здатність у природних умовах, за субоптимальних для них температур, сповільнювати процеси первинного метаболізму [2,69]. Дана властивість цієї мікрофлори значно підвищує ефективність використання живильних субстратів.

Можливість до росту і розвитку за дії низьких температур навколишнього середовища у мікроорганізмів пов'язують з особливістю функціонування клітинних мембран і активністю ензимів при охолодженні. Так, у психрофільних та психротрофних мікроорганізмів у ліпідах клітинної оболонки є наявність

значної кількості ненасичених жирних кислот, внаслідок чого мембрані структури постійно знаходиться в активному рідкокристалінному стані. Це зумовлює продукування значної кількості екзоекзимів за допомогою, яких проходить розчеплення субстрату [27].

Унаслідок такого регулювання жирнокислотного складу цитоплазматичної мембрани, яке здійснюється різними механізмами, визначається здатність мікробних клітин до розвитку в навколишньому середовищі за низьких температур.

Отже, підсумовуючи вищенаведені літературні джерела, можна відмітити, що донині в науковій літературі з гігієни харчових продуктів немає єдиного тлумачення терміну, який характеризує розвиток мікроорганізмів за низьких температур охолодження, приморозження чи замороження м'яса. Як наслідок вчені не приділяли уваги до правильного вживання термінів «психротрофні» чи «психрофільні» мікроорганізми. Ми вважаємо, що потрібно притримуватися твердження даного В. Р. Eddy [52] і вважати психротрофною мікрофлорою, ту яка може розвиватися з температури $+5^{\circ}\text{C}$ або нижче, незалежно від їх максимальних чи мінімальних температурних меж.

Родовий та видовий склад, кількісні характеристики, а також ветеринарно-санітарне значення психротрофної мікрофлори м'яса та м'ясопродуктів в технології їх виробництва на сьогодні достатньо ще не вивчено. Ряд авторів [50, 77, 84] повідомляють, що основною холодолюбивою мікрофлорою охолодженого м'яса є бактерії родів *Pseudomonas*, *Achromobacter*, а замороженого – хододостійкі плісеневі гриби *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Alternaria* та ін.

Також сьогодні дослідження науковців направлені на виявлення контамінації охолоджених м'яса і м'ясних продуктів патогенними мікроорганізмами, які проявляють психротрофні властивості, зокрема, збудники лістеріозу, іерсиніозу, псевдомонозу, ботулізму, сальмонельозу, правцю, бешихи та сибірки. Саме ці мікроорганізми, завдяки своїй здатності до психротрофності, становлять небезпеку при забої тварин, зберіганні та переробці м'яса на м'ясні

продукти [13,62]. Адже така технологічна операція процесу виробництва м'ясних харчових продуктів як охолодження, не зупиняє життєдіяльність даних мікроорганізмів. Вважається, що дані мікроорганізми не є «епідемічні та епізоотичні» в тривіальному розумінні епідемічного процесу, так як для них характерна спорадичність і природна вогнищевість, а резервуаром, ампліфікатором і джерелом цих мікробів служать певні абіотичні фактори навколишнього середовища [8,50].

Сьогодні через значне збільшення термінів придатності м'ясних харчових продуктів до споживання сприяє набуттю психротрофними мікроорганізмами здатності накопичувати патогенний потенціал і зберігати фактори агресії в умовах адаптації до охолодження під час тривалого зберігання контамінованої продукції в умовах холодильних камер. При цьому обмежене надходження кисню внаслідок герметизації споживчої тари сприяє пристосуванню мікрофлори до розвитку у незвичних умовах існування та ще більшому посиленню чинників агресивності [11]. Так, наприклад, в основному, мікрофлора охолоджених харчових продуктів з подовженим терміном зберігання може містити сапрофітні психротрофи, значення яких досі оцінювалося лише з позиції збитковості такої продукції через спричинення вад даних продуктів. В той же час, несприятливі наслідки відносно шкідливості для здоров'я не здавалися актуальними для науковців через доволі не довгі термини реалізації продукції і не вимагали спеціальної регламентації даної мікрофлори.

Узагальнюючи результати огляду щодо проблеми холодолюбивої мікрофлори м'яса і м'ясопродуктів, бачимо, що для визначення нормативів якості та безпеки щодо контамінації психротрофною мікрофлорою охолодженого м'яса і м'ясних продуктів необхідно комплексно вирішити ряд завдань, які перед нами ставить ця група мікрофлори. А саме, детальне вивчення біологічної сутності, основні властивості, гігієнічне і технологічне значення, природний резервуар, шляхи циркуляції, фактори передачі та стійкості, видовий склад, ветеринарно-санітарне значення психротрофної мікрофлори в технологічному ланцюгу виробництва м'яса і м'ясопродуктів (ферма – забійний

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

НУБІ! ПІДКРАЇНИ

нех – першок – першак (першак)

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали дослідження

Дослідження проведені у мікробіологічній лабораторії кафедри біології тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України та Hochschule Anhalt Neue Labor (Strenzfelder Alle 28, Deutschland)

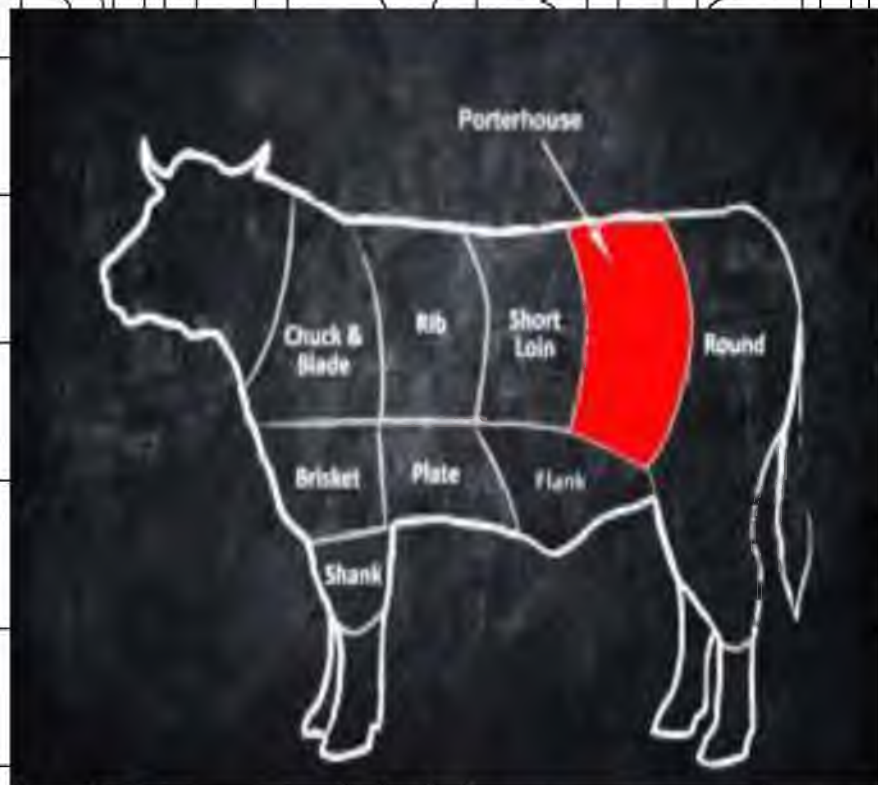
Об'єктом досліджень були яловичі відруси та преміальні яловичі стейки сухої витримки, а саме стейки «Портерхауз» (Steak Porterhouse) сухої витримки 21+ день (рис. 1).



Рис. 1. Досліджуваний зразок стейку «Портерхауз» (Steak Porterhouse) сухої витримки 21+ день.

Стейк «Портерхауз» – це найбільший стейк з поперекової частини спини великої рогатої худоби (рис. 2). Даний стейк унікальний тим, що до його складу входить відразу два стейки – «Нью-Йорк» і «Філе Міньйон». Звична назва прижилася і в Новому Світі та з часом так стали називати ресторани, де готували м'ясо і наливали пиво. Кращий нью-йоркський Портерхауз Мартіна Моррісона у XIX столітті прославився дорогим фірмовим блюдом – великим стейком з добірної яловичини, який згодом стали називати «Портерхауз». Це найближчий

родич «Т-бона», бо в ньому також є Т-подібна кістка, але ця вирізка набагато більша, на якій майже відсутній тонкий край філе.



Вис. 2. Анатомічна ділянка тіла великої рогатої худоби з якої готують стейк «Портерхау».

2.2. Методи дослідження

Основна робота охоплювала комплекс досліджень з вивчення кількісного і якісного складу мікрофлори яловичих відрубів та стейків з яловичини у процесі їх сухої витримки.

Відбір проб з відрубів яловичини і стейків для мікробіологічних досліджень проводили згідно з ГОСТ 7269 [23]. Проби з відрубів яловичини відбирали недеструктивним (неруйнівним) методом із застосуванням вологого тампона або набору Kit Muestreo Carales – Esponia (Іспанія). Проби зберігали і транспортували до 2 годин в умовах, що забезпечували температуру, не вище 6 °C і не допускали підморожування.

Кількість мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів визначали за температури 30 °C інкубації посівів упродовж 72

год. на середовищі МПА, кількість психротрофних мікроорганізмів – за температури 6,5 °С інкубації посівів протягом 10 днів на середовищі МПА.

Виділення бактерій родини *Enterobacteriaceae* проводили на середовищі Ендо, їх ідентифікацію – на агарі Клігlera, грибів та дріжджів – на середовищі Сабуро, лактобактерій – на лактобакагарі, ентерококів – ентерококагар, сальмонел – на 3М Petrifilm Salmonella Express System (3M Petrifilm SALX), а лістерій – на 3М Petrifilm Environmental Listeria (EL) Plate. Також використовували пластини для біохімічної ідентифікації неферментуючих мікроорганізмів «Неферм тест-24» (Pliva-lachema, Чехія).

М'ясо-пептонний агар (МПА) використовували для культивування та вивчення культуральних властивостей мікроорганізмів стейків. Поживний агар – це базове щільне поживне середовище, яке комплексно забезпечує ріст більшості бактерій. Воно використовується для діагностики зразків на присутні бактерії, для виділення окремих штамів та для різноманітних лабораторних досліджень. В складі відсутні інгібітори, а пептон та екстракт забезпечують мікроорганізми поживними речовинами для нарощування біомаси, виділення пігментів та інших характерних продуктів. Можливе використання препарату як поживної основи для приготування різних поживних середовищ цільового призначення.

МПА розчиняли у 60 г середовища в 1 літрі дистильованої води. Прокіп'ятили протягом 2-3 хвилин, до повного розчинення компонентів, розлили в стерилізовані чашки Петрі. Автоклавували упродовж 20 хв за температури 112 °С.

Агар Сабуро використовували з метою виявлення і виділення дріжджів, цвілі, плісняви та інших патогенних грибів, що можуть існувати в людському організмі. Складається агар Сабуро з пептону ферментативного, глюкози і агар-агару.

Для приготування агару Сабуро розмішували 65 г сухого середовища в 1 л дистильованої води. Обережно нагріли з помішуванням, щоб повністю

розчинити середовище розлили в стерилізовані чашки Петрі шаром 4–5 мм. Стерилізували автоклавуванням при 121 °С протягом 15 хв.

Агар Ендо – це слабоселективне диференційно-діагностичне середовище для виділення ентеробактерій. Середовище Ендо відноситься до щільних середовищ для виділення чистих культур. Готове середовище прозоре і має блідо-рожевий колір.

Середовище Ендо використовували для виділення і диференціації ентеробактерій за здатністю ферментувати лактозу. Механізм впливу середовища базується на здатності фуксину утворювати безбарвний комплекс з сульфитом. Бактерії, які ростуть на середовищі, поділяють на дві групи. Ті бактерії, що не ферментують лактозу, ростуть у вигляді безбарвних колоній. Лактозоферментуючі бактерії утворюють альдегіди. У свою чергу, альдегіди пов'язують сульфит і звільняють фуксин, що надає колоніям червоний колір, іноді з металевим блиском.

Поживні середовища готували шляхом розчинення 1,5 г сухого середовища в одному літрі дистильованої води. Обережно повільно підігріли до кипіння з помішуванням до повного розчинення часток середовища.

Стерилізували автоклавуванням при 121° С протягом 15 хвилин. Ретельно перемішати. Охолодити до 45-50° С перед тим, як розливати у стерильні чашки Петрі.

Лактобактар – диференційне поживне середовище, яке стимулює ріст лактобактерій та інгібує сторонню мікрофлору. Поживна частина середовища включає складні органічні компоненти (пептон, екстракт дріжджів), вуглевод (глюкоза) та мінеральні добавки (магній, марганець). Точно вивірений склад оптимально постачає «вибагливим» лактобактеріям поживні речовини в необхідних концентраціях. При цьому солі органічних кислот (ацетат, цитрат) та низький рівень рН пригнічують розвиток сторонніх мікроорганізмів. Завдяки цьому можна визначити наявність лактобактерій у таких об'єктах зразках, як молочні та харчові продукти або випорожнення. Культивують зразки при 37°С протягом 48 годин.

Середовище готували розчинивши 50 г сухого середовища в 1 л дистильованої води. Кип'ятили 2–3 хв до повного розчинення компонентів. Автоклавували упродовж 15 хв за температури 121°C . Охолодили до $50\text{--}45^{\circ}\text{C}$ і розлили в стерильні чашки Петрі.

Агар Клігlera використовували для вивчення у грамнегативних бактерій кишкового походження здатність ферментувати глюкозу і лактозу, а також виробляти сірководень. На агарі Клігlera можна відрізнити бактерії, які ферментують і не ферментують лактозу.

Середовище готували у вигляді скошеного агару у пробірках. Під час ферментації вуглеводів, індикатор у складі середовища змінює забарвлення. В залежності від частини пробірки, в якій відбулась зміна кольору середовища, можна диференціювати мікроорганізми. При утворенні сірководню з'являється чорний колір сульфиду заліза. Розриви агару свідчать про виділення бактеріями газу.

Готове середовище завдяки феноловому червоному має червоне забарвлення. Для аналізу середовище розливають по пробіркам та охолоджують під кутом для формування скосу та зони повного стовпчика. Посів на середовище здійснюють поверхневим штриховим методом та проколюванням. Після інкубації при 37°C протягом 24 годин культури які зброджують глюкозу спричиняють поживні стовпчика, а ті що ферментують лактозу – поживні скосу. При цьому синтез сірководню виявляється почорнінням у стовпчику.

Для приготування поживного середовища розчинили 50 г сухого середовища в 1 літрі дистильованої води. Прокип'ятили упродовж 2–3 хвилин, до повного розчинення компонентів, розлили в стерилізовані чашки Петрі. Автоклавували упродовж 20 хв за температури 112°C . Після приготування середовища розлили в чашки Петрі, поставили в автоклав для стерилізації за температури 112°C упродовж 20 хв.

Ентерококагар дозволяє селективно виділити ентерококи та ідентифікувати редукцію ТТХ (трифенілтетразолій хлористий). Селекційний ефект досягається завдяки присутності в складі середовища азиду натрію, який

інгібує ріст грамнегативних та деяких грампозитивних бактерій. Бактерії здатні до редукції ТТХ накопичують всередині клітин формазан який надає колоніям червоного забарвлення. Культивування проводили за температури 37°C упродовж 48 годин.

Отримані результати досліджень обробляли статистично використовували загально визнані методами варіаційної статистики із залученням програми Statistica 10. Визначали середнє арифметичне \bar{M} , стандартну похибку середньої величини $\bar{M} \pm m$. Різницю між порівнюваними величинами вважали вірогідною при $p < 0,05$ за критерієм Стьюдента.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Оцінка обсіювання охолодженої яловичини під час заготівлі на м'ясопереробних підприємствах

Правильно підібраний режим дозрівання яловичини має забезпечити ідеальні смакові властивості прем'яльних стейків без порушення органолептичних, фізико-хімічних і мікробіологічних показників харчового продукту чи сировини. З урахуванням цього, актуальним є проведення досліджень з визначення кількісного вмісту мікрофлори яловичини під час її постановки на дозрівання.

Тому метою даного дослідження було вивчення початкової кількості мікроорганізмів, яка контамінує поверхні півтуш. Результати дослідження кількості мікроорганізмів у яловичині під час її заготівлі у м'ясопереробних підприємств наведено в табл. 3.1. Змиви з півтуш яловичини були розділені на чотири групи по три проби у кожній, залежно від початкового вмісту МАФАНМ.

Результати досліджень показали, що на м'ясопереробних підприємствах яловичина контамінована різною мікрофлорою. Кількість мікроорганізмів на поверхні яловичих туш була незначною і відповідала встановленим нормативам Регламенту ЄС №2073/2005 [30] (допустимий вміст МАФАНМ до 10⁵ КУО/см² поверхні або до 10⁶ КУО/см³ змиву). За цього, кількість бактерій *Enterobacteriaceae* на поверхні туш при заготівлі, приблизно в 50 % перевищувала допустимий рівень (норма – до 3,2×10² КУО/см² поверхні або до 3,2×10³/КУО/см³ змиву).

Також виявлено, що початкова кількість психротрофних мікроорганізмів на поверхнях яловичих півтуш з незначним бактеріальним обсіюванням у групах №1 та №2 була на порядок меншою, порівняно з кількістю МАФАНМ, а у групах №3 і №4, тобто з високим мікробним забрудненням, практично однаковою.

Таблиця 3.1

Обстеження охолодженої яловичини під час заготівлі на м'ясопереробних підприємствах, КУО/см³ змиву з поверхні, M±m, n=12 (n=3/група)

Показники	Вміст бактерій у змивах з поверхні туш			
	група 1	група 2	група 3	група 4
КМАФАнМ	$3,8 \pm 0,2 \times 10^3$	$6,5 \pm 0,5 \times 10^3$	$5,9 \pm 0,4 \times 10^4$	$2,1 \pm 1,2 \times 10^5$
Вміст <i>Enterobacteriaceae</i>	$3,1 \pm 0,2 \times 10^1$	$5,3 \pm 0,3 \times 10^2$	$8,8 \pm 0,6 \times 10^3$	$5,4 \pm 0,3 \times 10^3$
<i>E. coli</i>	0	$1,7 \pm 0,1 \times 10^1$	$8,4 \pm 0,2 \times 10^1$	$3,9 \pm 0,2 \times 10^2$
Вміст психротрофних мікроорганізмів	$7,3 \pm 0,4 \times 10^2$	$4,2 \pm 0,2 \times 10^3$	$3,7 \pm 0,2 \times 10^4$	$1,7 \pm 1,5 \times 10^5$
Вміст сальмонел	0	0	0	0
Вміст лістерій	0	0	0	0
Вміст грибів, дріжджів	$1,1 \pm 0,1 \times 10^2$	$6,3 \pm 0,4 \times 10^2$	$6,5 \pm 0,3 \times 10^3$	$9,6 \pm 0,3 \times 10^3$
Вміст ентерококів, в т.ч. <i>E. faecalis</i>	$1,6 \pm 0,1 \times 10^1$	$2,1 \pm 0,2 \times 10^2$	$1,3 \pm 0,3 \times 10^3$	$5,1 \pm 0,1 \times 10^3$
	$1,1 \pm 0,1 \times 10^1$	$8,2 \pm 0,5 \times 10^1$	$4,8 \pm 0,2 \times 10^2$	$6,9 \pm 0,3 \times 10^2$

Забруднення м'яса мікрофлорою має важливе значення для збереження безпеки та якості сировини під час холодильного зберігання. Адже, упродовж терміну зберігання за низьких температур деякі мікроорганізми перебувають у анабіотичному стані, а деякі продовжують розмножуватися.

Нами було вивчено зміни мікрофлори на поверхні яловичих пів туш протягом холодильного зберігання за різних санітарно-гігієнічних умов заготівлі яловичини на м'ясопереробних підприємствах.

3.2. Характеристика кількісних змін мікрофлори яловичих стейків за технології сухої витримки

Під час зберігання м'яса і м'ясопродуктів вони піддаються впливу факторів навколишнього середовища, і як наслідок в хімічному складі продукту проходять небажані для споживача зміни. Частіше всього зміни відбуваються під дією ферментів мікроорганізмів [1]. Застосовувачи ту чи іншу температуру для зберігання м'яса і м'ясопродуктів можна загальмувати або сповільнити діяльність мікрофлори. У Регламенті комісії ЄС №2073/2005 та ДСТУ 6030:2008 «М'ясо яловичини та телятина в тушах, півтушах і четвертинах» наведено параметри і строки холодильного зберігання яловичини та телятини, мікробіологічні нормативи безпечності м'яса перевищення яких вказує на необхідність удосконалення гігієни забою худоби та перегляду заходів з контролю технологічного процесу. Проте, навіть у межах стандартних температур холодильного зберігання м'яса відбувається різна інтенсивність розмноження певних груп мікрофлори.

Низька температура охолодженого м'яса впливає на мікроорганізми різних температурних груп неоднаково. На термофільні і мезофільні мікроорганізми низькі температури мають значний вплив. Термофіли і частина мезофільних мікроорганізмів гинуть, проте велика кількість мезофілів уповільнюють свій розвиток і залишаються в м'ясі в стані анабіозу. Такими є багато видів бактерій із сімейства *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*.

Психрофільні мікроорганізми розвиваються і проявляють ферментативну активність в охолодженому м'ясі при температурі 0 °C і нижче. Крім них виявляються психротрофні мікроорганізми, здатні розвиватися при низькій температурі, хоча оптимальна температура їх росту 20–30 °C.

Розвиток психрофільних та психротрофних мікроорганізмів при низьких температурах відбувається за тими закономірностями, що і при помірній температурі, але всі фази розвитку значно подовжуються. У початковому періоді зберігання мікрофлора охолодженого м'яса залишається незмінною протягом деякого часу. Цей період називається лаг-фазою (фазою затримки розмноження),

і характеризується адаптацією мікроорганізмів до умов середовища. Тривалість цієї фази залежить від якості м'яса, початкового мікробного обсіменіння, температури м'яса і повітря, швидкості охолодження м'яса.

Чим нижче рівень мікробного обсіменіння м'яса, тим довшою буде лаг-фаза. В охолодженому м'ясі, отриманому при забої здорових, вгодованих тварин з дотриманням санітарно-гігієнічних правил, що містять незначну кількість мікроорганізмів, лаг-фаза триває 3–5 діб. При недотриманні цих умов і високому мікробному обсіменінні м'яса лаг-фаза скоротиться, і мікроорганізми почнуть розмножуватись вже в першу добу. Подовження фази затримки розмноження спостерігається також при швидкому охолодженні м'яса, при наявності скоринки підсихання.

Після закінчення лаг-фази мікроорганізми, здатні до розвитку при низькій температурі, починають розмножуватись. Кількість психрофільних і психротрофних мікроорганізмів збільшується. Мікроорганізми, які не здатні до розвитку і розмноження, відмирають.

У встановленому температурно-вологісному режимі зберігання в охолодженому м'ясі активно розмножуються і становлять переважну більшість неспорутворюючі грамнегативні палички роду *Pseudomonas* і *Achromobacter*, а також цвілеві гриби і дріжджі. Найбільш активно розмножуються бактерії роду *Pseudomonas*, які володіють антагоністичними властивостями щодо інших мікроорганізмів. Через кілька тижнів бактерії роду *Pseudomonas* складають 90% мікрофлори охолодженого м'яса. Ці бактерії виділяють активні ферменти, що розщеплюють білки і жири, а також виробляють слиз. Вони є збудниками гниття охолодженого м'яса, якщо воно зберігається більше допустимого терміну зберігання.

Слід зазначити, що багато патогенних мікроорганізмів: золотистий стафілокок, сальмонели, збудник ботулізму зберігають життєздатність в охолодженому м'ясі.

Тому нами було досліджено динаміку мікробіологічних змін у яловичих відрубках для стейку «Портерхауз» в процесі їх сухого дозрівання (табл. 3.2.) в умовах холодильного зберігання за температури 5,0 °С

Виявлено, що за дотримання усіх ветеринарно-санітарних вимог під час заготівлі яловичини в м'ясопереробних підприємствах мікробіологічні показники яловичих відрубків відповідають встановленим нормативам Регламенту ЄС №2073/2005 [30] (допустимий вміст МАФАнМ до 100 тис. КУО/см² поверхні або до 1 млн. КУО/см³ змиву з поверхні).

Таблиця 3.2

Мікробіологічні показники яловичих стейків у процесі сухої витримки за температури 5,0±0,5 °С, КУО/см³ змиву з поверхні, М±m, n=3

Показники	Вміст бактерій у змивах з поверхні відрубків		
	1 доба	11 доба	21 доба
КМАФАнМ	$7,7 \pm 0,3 \times 10^4$	$1,3 \pm 0,1 \times 10^6$ *	$2,6 \pm 0,1 \times 10^8$ *
Вміст <i>Enterobacteriaceae</i>	$3,0 \pm 0,2 \times 10^1$	$2,6 \pm 0,2 \times 10^3$ *	$4,1 \pm 0,2 \times 10^5$ *
Вміст психротрофних мікроорганізмів	$6,2 \pm 0,3 \times 10^3$	$2,2 \pm 0,1 \times 10^6$ *	$3,2 \pm 0,2 \times 10^8$ *
Вміст сальмонел	0	0	0
Вміст лістерій	0	0	0
Вміст грибів, дріжджів	$1,1 \pm 0,1 \times 10^3$	$3,9 \pm 0,2 \times 10^3$ *	$1,1 \pm 0,1 \times 10^4$ *
Вміст ентерококів, в т.ч. <i>E. faecalis</i>	$1,6 \pm 0,1 \times 10^2$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^2$ *	$8,0 \pm 0,5 \times 10^1$ *
	$5,3 \pm 0,2 \times 10^2$	$4,0 \pm 0,2 \times 10^1$ *	0

Примітка: *p<0,05 – порівняно з першою добою.

Через 11 днів сухої витримки за температури 5,0 °С загальна кількість мезофільних мікроорганізмів на поверхні відрубків зростала у 16,6 рази (p<0,05),

а через 21 добу – у 3 350 разів ($p < 0,05$) і перевищувала допустимий рівень згідно з нормативами у 1,3 рази та 258 разів відповідно.

Через 11 діб сухого дозрівання яловичих відрубів для стейків «Портерхауз» кількість *Enterobacteriaceae* на поверхні відрубів зростала у 87 разів ($p < 0,05$) і відповідала встановленим нормативам до 316,22 КУО/см² поверхні або до 3162,2 КУО/см³ змиву.

Витримка відрубів до 21 діби за температури 5,0 °С призвела до збільшення кількості *Enterobacteriaceae* у тисячі разів, що перевищувало допустимий рівень бактерій згідно з регламентом ЄС.

Також можна відмітити зростання вмісту психротрофних мікроорганізмів у 350 разів ($p < 0,05$) через 11 діб сухого дозрівання відрубів та у 52 тисячі разів ($p < 0,05$) через 21 добу.

Якщо порівняти уміст психротрофних мікроорганізмів із кількістю МАФАНМ у процесі дозрівання яловичини, то можна виявити наступне. Психротрофних мікроорганізмів на поверхні остиглих відрубів (1 доба) в 12,4 раза менше, порівняно з КМАФАНМ, але завдяки швидшим темпам розмноження за цієї температури їх кількість на 11 добу дозрівання була вже в 1,7 рази ($p < 0,05$) більшою.

Психротрофні мікроорганізми охолодженого м'яса в процесі сухої витримки становили основну домінуючу мікрофлору і це вказує на головну її роль у виникненні мікробіологічних вад яловичини загалом та стейків зокрема.

Розмноження грибів та дріжджів на поверхнях яловичих відрубів під час сухого дозрівання за температури 5,0 °С відбувалося значно повільніше, ніж психротрофних бактерій. Так, через 11 діб зберігання їх кількість зростала у 3,5 рази ($p < 0,05$), а через 21 добу – у 10 разів ($p < 0,05$).

Загалом уміст грибів і дріжджів на закінчення терміну сухої витримки (21 доба), в середньому, становив 104 КУО/см³ змиву. Такий вміст цих мікроорганізмів не відіграє важливої ролі у псуванні стейків.

Зовсім протилежну ситуацію виявляли з умістом ентерококів на поверхні яловичих відрубів для стейків «Портерхауз». Загальна кількість ентерококів

через 11 діб дозрівання яловичини зменшувалася у 7,8 рази ($p < 0,05$), а через 21 добу – у 20,4 рази ($p < 0,05$) і становила лише 80 ± 11 КУО/см³ змиву.

Вміст *E. faecalis* через 11 діб сухої витримки відрубів зменшувався у 13,3 рази ($p < 0,05$), а через 21 добу дані мікроорганізми взагалі не виділялися з поверхні яловичих відрубів. Це свідчить про те, що температурний режим сухої витримки яловичих відрубів непридатний для розвитку даних бактерій і вони поступово гинуть.

Сальмонели і лістерії не виділяли з проб яловичини упродовж всього терміну її сухої витримки.

Загалом, результати досліджень наведених в табл. 3.2 вказують на те, що суха витримка яловичих відрубів з початковим умістом МАФАМІ в межах $7,0 - 8,0 \times 10^4$ КУО/см³ змиву з поверхні та психротрофних бактерій $5,0 - 7,0 \times 10^3$ КУО/см³ за температури $5,0 \pm 0,5$ °C можлива лише упродовж 11 діб, надалі мікробіологічні показники перевищують допустимі нормативи і відруби яловичини є непридатними для використання.

Загальновідомо, що дозрівання яловичих відрубів за температури $5,0$ °C дозволяє зберегти первинні властивості свіжого продукту, порівняно із замороженим. Тому під час сухого дозрівання яловичих відрубів за температури $5,0$ °C необхідно досягати зниження початкового обсіменіння туш мікроорганізмами за рахунок покращення ветеринарно-санітарних умов заготівлі м'яса в м'ясопереробних підприємствах.

3.3. Якісна характеристика мікрофлори яловичих стейків сухої витримки на 21 добу дозрівання

Результати культивування зразків стейків «Портерхауз» на м'ясо-пептонному агарі показали активний ріст аеробної мікрофлори (рис. 3), що характерно для їх сухої витримки.



Рис. 3. Ріст колоній мікроорганізмів на м'ясо-пептонні агарі.

Також було виявлено велику кількість колоній грибів та плісняви у зразках стейків «Портерхауз» (рис. 4).



Рис. 4. Ріст колоній грибів та плісняви на агарі Сабуро.

Виявлено, що до складу мікробіоти досліджуваних стейків «Портерхауз» після 21-добової сухої витримки входили і бактерії родини *Enterobacteriaceae* (рис. 5а, 5б).



Рис. 5 а. Ріст колоній ентеробактерій на агарі Ендо.



Рис. 5 б. Ріст колоній *E. Coli* та *Coli*-форм на діагностичних дисках.

НУБІП УКРАЇНИ

Також у зразках досліджуваних сусійків «Портерхауз» після 21-добової сухої витримки виявлені лактобактерії (рис. 6).

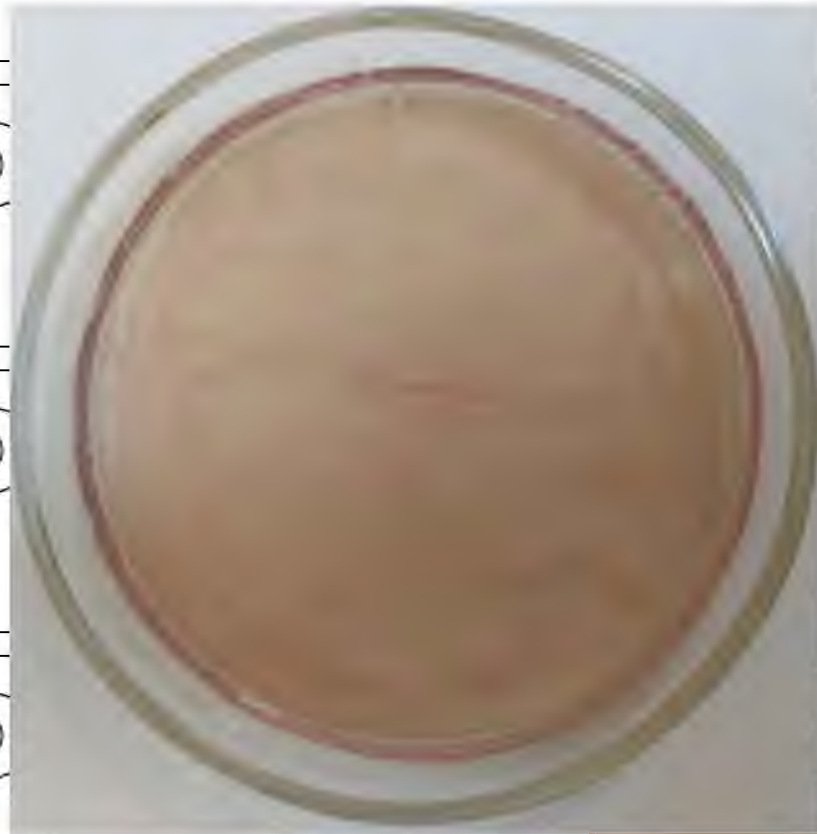


Рис. 6. Ріст колоній лактобактерій на лактобакагарі.

Диференціацію бактерій родини *Enterobacteriaceae* проводили за використання диференційно-діагностичного середовища Кліглера (рис. 7). Цей агар використовують для ідентифікації ентеробактерій. Його принцип ідентифікації базується на здатності грамнегативних ентеробактерій

ферментувати глюкозу і лактозу, а також виробляти сірководень. Після інкубації за температури 37°C упродовж 24 годин культури, які зброджують глюкозу спричиняють пожовтіння стовпчика, а ті що ферментують лактозу – пожовтіння скосу. За цього синтез сірководню виявляється почорнінням у стовпчику.



Рис. 7. Ріст колоній ентеробактерій на агарі Кліглера.

Ростові характеристики референс-штамів досліджуваних зразків стейку

«Портерхауз» наведені в таблиці 3.3.

НУБІП України

Таблиця 3.3

Ростові характеристики референс-штамів через 24 год за температури 37°C

Штами мікроорганізмів (ATCC)	Діагностичні характеристики				Зразок
	скіс	стовпчик	газ	сірководень	
<i>Citrobacter freundii</i> (8090)	К	К	+	+	
<i>Escherichia coli</i> (25922)	К	К	+	-	
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	К	К	+	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13883)	К	К	+	-	
<i>Proteus vulgaris</i> (6380)	Л	К	-	+	
<i>Salmonella enteritidis</i> (13076)	Л	К	+	+	
<i>Salmonella paratyphi A</i> (5006)	Л	К	+	-	
<i>Salmonella schottmuelleri</i>	Л	К	+	+	
<i>Salmonella typhi</i> (6539)	Л	К	-	+	
<i>Shigella flexneri</i> (12022)	Л	К	-	-	+

Примітка: К – утворення кислоти (жовтий колір); Л – утворення луку (червоний колір); «+» – позитивна реакція (почорніння); «-» – негативна реакція (середовище без змін).

Отже, результати ідентифікації ентеробактерій засвідчили наявність у стейку «Портерхауз» *Shigella flexneri* (12022).

НУБІП України

ВИСНОВКИ

1. Загальна кількість мезофільних мікроорганізмів на поверхні яловичих відрубів через 11 діб сухої витримки за температури 5,0 °С зростала у 16,6 рази, а через 21 добу – у 3 350 разів і перевищувала допустимий рівень згідно з нормативами у 1,3 рази та 258 разів відповідно.

2. Кількість *Enterobacteriaceae* через 11 діб сухого дозрівання яловичих відрубів для стейків «Портерхауз» на поверхні відрубів зростала у 87 разів і відповідала встановленим нормативам до 316,22 КУО/см² поверхні або до 3162,2 КУО/см³ змиву, через до 21 доби збільшилась у тисячі разів, що перевищувало допустимий рівень бактерій згідно з регламентом ЄС.

3. Виявлено зростання вмісту психротрофних мікроорганізмів у 350 разів через 11 діб сухого дозрівання відрубів та у 52 тисячі разів через 21 добу.

4. Психротрофних мікроорганізмів на поверхні остиглих відрубів (1 доба) в 12,4 рази менше, порівняно з КМАФАнМ, але завдяки швидшим темпам розмноження за температури 5,0 °С їх кількість на 11 добу дозрівання була вже в 1,7 рази більшою.

5. Психротрофні мікроорганізми охолодженого м'яса в процесі сухої витримки становили основну домінуючу мікрофлору і це вказує на головну її роль у виникненні мікробіологічних вад яловичини загалом та стейків зокрема.

6. Розмноження грибів та дріжджів на поверхнях яловичих відрубів під час сухого дозрівання за температури 5,0 °С відбувалося значно повільніше, ніж психротрофних бактерій. Так, через 11 діб зберігання їх кількість зростала у 3,5 рази, а через 21 добу – у 10 разів. Загалом вміст грибів і дріжджів на закінчення терміну сухої витримки (21 доба), в середньому, становив 104 КУО/см³ змиву, що не відіграє важливої ролі у псуванні стейків.

7. Загальна кількість ентерококів через 11 діб дозрівання яловичини зменшувалася у 7,8 рази, а через 21 добу – у 20,4 рази і становила лише 80±11 КУО/см³ змиву. Вміст *E. faecalis* через 11 діб сухої витримки відрубів зменшувався у 13,3 рази, а через 21 добу дані мікроорганізми взагалі не виділялися з поверхні яловичих відрубів. Це свідчить про те, що температурний

режим сухої витримки яловичих відрубів непридатний для розвитку даних бактерій і вони поступово гинуть.

8. Суха витримка яловичих відрубів з початковим умістом МАФАНМ в межах $7,0 - 8,0 \times 10^4$ КУО/см³ змиву з поверхні та психотрофних бактерій $5,0 - 7,0 \times 10^3$ КУО/см³ за температури $5,0 \pm 0,5$ °С можлива лише упродовж 11 діб, надалі, до 21 доби, мікробіологічні показники перевищують допустимі нормативи і відруби яловичини є непридатними для використання.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ПРОПОЗИЦІЯ ВИРОБНИЦТВУ

Дозрівання яловичих відрубів за температури $5,0^{\circ}\text{C}$ дозволяє зберегти первинні властивості свіжого продукту, порівняно із замороженим, а також покращити смакові властивості стейків. Тому за використання сухого дозрівання яловичих відрубів необхідно досягати зниження початкового обсіменіння туш мікроорганізмами за рахунок покращення ветеринарно-санітарних умов заготівлі м'яса в м'ясопереробних підприємствах.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Баранова Е. В. Повышение устойчивости стартовых культур к замораживанию и термической обработке. *Мясная индустрия*, 2009. № 9. С. 70–72.
2. Баррос Д., Морита Р. Жизнь микроорганизмов при низких температурах: экологические аспекты / под. ред. Д. Кашнера. Москва. Мир, 1981. С. 19–88.
3. Баснакьян И. А. Холодовой шок у бактерий. *Вестник Российской академии медицинских наук*, 2001. № 3. С. 18–21.
4. Билетова Н. В. Санитарная микробиология. Москва. *Пищевая промышленность*, 1980. С. 159–170.
5. Богатко Н. М. Ветеринарно-санітарна оцінка якості яловичини NOR, PSE, DFD та удосконалення методів визначення її свіжості: автореф. дис. . . канд. вет. наук: спец. 16.00.09. Львів, 2006. 20 с.
6. Бутко М. П., Костенко Ю. Г. Руководство по ветеринарносанитарной экспертизе и гигиене производства мяса и мясных продуктов. Москва. РИФ «Атлантика», 1994. 607 с.
7. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва / О. М. Якубчак, В. І. Хоменко, С. Д. Мельничук [та ін.]. Київ, 2005. 800 с.
8. Вплив способів заключної обробки туш на якість яловичини: автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.09 – ветеринарно-санітарна експертиза / В. О. Загребельний; Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2012. 22 с.
9. Георгиевский А. С. Методология и методика научноисследовательской работы в медицине. Л.: Медицина, 1981. 252 с.
10. Горлов И. Ф., Осадченко И. М., Николаев Д. В., Злобина Е. Ю. Влияние обработки мяса омагниченным и электроактивированным растворами на последующее его хранение в охлажденном состоянии. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса*, 2013. № 2(30). С. 94–97.
11. Деякі особливості розвитку епідеміологічного процесу за сучасних

умов виробництва харчових продуктів / В. І. Слободкін, Н. Г. Шелкова, В. М. Левицька. *Проблема харчування*, 2006. № 3. С. 9–15.

12. Егоров Н. С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. М.: Высшая школа, 2009. С. 28–49.

13. Ефимочкина Н. Р., Кармиканова С. Н. Выделение *L. monocytogenes* из молока, мяса. *Молочная промышленность*, 2004. № 5. С. 36–38.

14. Журавская Н. К. и др. Технохимический контроль производства мяса и мясопродуктов. М., 2001. С. 43.

15. Журавская Н. К., Алехин Л. Т., Отрященко Л. М. Исследования и контроль качества мяса и мясопродуктов. Москва: Агропромиздат, 1985. 296 с.

16. Карпинская Р. С. Биология и мировоззрение. М. Мысль, 1980. 207 с.

17. Ковбасенко В. М., Горбей О. М. Вплив передзабійної підготовки тварин на санітарну якість м'яса. *Аграрний вісник Причорномор'я: Зб. наук. праць ОДАУ*. Одеса, 2002. Вип. 4.(15). С. 184–189.

18. Кухтин М. Д. Вплив температури на процес формування мікробних біоплівки психротрофними мікроорганізмами молока сирого. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гіжицького*. Львів, 2013. Т. 15, № 2 (55). С. 277–282.

19. Лисицын А. Б., Барабанщикова В. С. Непрерывность холодильной цепи – залог качества и безопасности мясо-продуктов. *Всё о мясе*, 2012. № 3. С. 24–26.

20. М'ясо яловичина у відрубках. Технічні умови. ДСТУ 4426:2005. [Чинний від 2007-01-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2006. 16 с. (Національний стандарт України).

21. М'ясо. Яловичина та телятина в тушах, півтушах і чвертинах. Технічні умови. ДСТУ 6030:2008. [Чинний від 200-04-01]. К.: Держспоживстандарт.

22. Микробиология продуктов животного происхождения. Ф.-Д. Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер и др. Пер. с нем. М.: Агропромиздат, 1985. 592 с.

23. Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести (М'ясо. Методи відбирання зразків та органолептичні методи визначання свіжості) ГОСТ 7269-79 [Дата введення 1980-01-01].
Изменение 18.10.2016. М.: Стандартинформ, 2006. 7 с. (Межгосударственный стандарт).

24. Настанови щодо здійснення офіційних заходів контролю відповідно до Регламенту (ЄС) № 882/2004 в контексті відбору проб та їх мікробіологічному дослідженню (13 листопада 2006 р.).

25. Околітенко Н. І., Гроздінський Д. М. Основи системної біології. К.: Либіль, 2005. 358 с.

26. Основы микробиологии, гигиены и санитарии на предприятиях мясной и птицеперерабатывающей промышленности. Ю. Г. Костенко, С. В. Нещепляев, Л. А. Гончарова. 3-е изд., перераб. и доп. Москва: Агропромиздат, 1991. 176 с.

27. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М.: Мир, 1978. 331 с.

28. Работнова И. Л., Позмогова И. Н., Баснякьян И. А. Хемостатное и периодическое культивирование при изучении физиологии микроорганизмов. *Итоги науки и техники. Серия «Микробиология»: Культивирование микроорганизмов*. М.: ВИНТИ, 1981. Т. 11. С. 3-54.

29. РЕГЛАМЕНТ (ЄС) № 178/2002 ЄВРОПЕЙСЬКОГО ПАРЛАМЕНТУ ТА РАДИ від 28 січня 2002 року про встановлення загальних принципів і вимог законодавства про харчові продукти, створення Європейського Агентства з питань безпеки харчових продуктів і встановлення процедур у питаннях, пов'язаних із безпекою харчових продуктів (Загальний харчовий закон (GFL)).

30. Регламент №2073/2005 Комісії (ЄС) про мікробіологічні критерії, які застосовуються до харчових продуктів. Брюссель, 15 листопада 2005 р. 26 с.

31. Семанюк В. І., М. Д. Кухтин, Шах Л. В., Салата В. З., Турко І. Б. Необхідність проведення санітарно-мікробіологічного контролю м'яса і м'ясних продуктів в умовах холодильного зберігання. *М'ясна індустрія*, 2014. С. 22-25.

32. Способ хранения мяса животных в охлажденном состоянии: патент РФ № 2341962. №2007124453 / Горлов И. Ф., Осадченко И. М., Ранделина В. В. и др.; заявл. 13.06.2007; опубл. от 27.12.2008.

33. Технічна мікробіологія / Л. В. Капрельянц, Л. М. Пилипенко, А. В. Єгорова, О. М. Кананихіна, С. М. Кобелева, Т. О. Величко; За ред. Л. В. Капрельянца. Одеса: Друк, 2006. 308 с.

34. Шевелева С. А. Анализ микробиологического риска как основа для совершенствования системы оценки безопасности и контроля пищевых продуктов: автореф. дис. док. ... мед. наук: спец. 17.00.07 «Гигиена». М., 2007. 46 с.

35. Экспериментальное исследование бактериальных биопленок, содержащих микрофлору, выделенных с поверхностей мяса птицы, и оценка эффективности препарата Мегадез по отношению к выявленным культурам бактерий / Е. В. Павлова, Д. И. Удавлиев, А. Д. Букина та ін. *Проблеми вет. санітарії, гігієни та екології*, 2015. № 4 (16). С. 44–54

36. Якубчак О. М., Кравчук В. В. Порівняльна оцінка методів дослідження якості м'яса: *Наукові доповіді НУБіП*, 2008. № 10. С. 1–8. (Режим доступу до журн.: 2/08yomgrm.pdf)

37. Якубчак О. М., Ткачук С. А., Плоттон А. І. Вплив режимів та термінів заморожування яловичини на ступінь бактеріального обсіменіння м'яса. *Наукові доповіді НУБіП*. 2012. № 4(33). С. 1–7. (Режим доступу до журн.: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012_4/12yom.pdf)

38. Якубчак О. М., Загребельний В. О., В. М. Муковоз, Карпуленко М. С. Мікробіологічні показники яловичини залежно від заключної обробки туш. *Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій*, 2014. Вип. 46(2). С. 182–185.

39. Якубчак О. М., Кравчук В. В., Таран Т. В. Критерії оцінки якості м'яса: монографія. Національний університет біоресурсів і природокористування України. К.: КОМПРИНТ, 2013. 120 с.

40. Якубчак О. М., Тютюн А. І., Муковоз В. М., Карпуленко М. С. Мікробіологічні показники яловичини залежно від режимів і термінів заморожування. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*, 2016. 33 (2). 179–183.

41. Afford J. A., Elliott L. E. Lipolytic activity of microorganisms at low and intermediate temperatures, action of *Pseudomonas fluorescens* on lard. *Food Res.*, 1960. 25. P. 296–303.

42. Afford J. A., Pierce D. A. Lipolytic activity of microorganisms at low and intermediate temperatures, activity of microbial lipases at temperatures below 0°C. *J Food Science*, 1961. 26. P. 518–524.

43. Brock T. D., Passman F., Yoder I. Absence of obligately psychrotrophic bacteria in constantly cold springs associated with caves in southern Indiana. *Am. Midland Nat.*, 1973. № 90. P. 240–246.

44. Cagri A., Ustunol Z. Osburn Inhibition of *Listeria monocytogenes* on hot dogs using antimicrobial whey protein-based edible coatings. *Journal of Food Protection*, 2003. Vol. 68. №2. P. 291–299.

45. Cervený J., Meyer J. D. and Hall P. A. Microbiological Spoilage of Meat and Poultry Products In: Compendium Of The Microbiological Spoilage, Of Foods And Beverages. *Food Microbiology and Food Safety*, W.H. Sperber and M.D. Doyle (Eds.). *Springer Science and Business Media*, NY, 2009. P. 69–868.

46. Chan K. M., Decker E. A. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1994. Vol. 34. P. 403–426.

47. Comaposada J., Gou P., Arnau J. The effect of sodium chloride content and temperature on pork meat isotherms. *Meat Sci.*, 2000. Vol. 55. P. 291–295.

48. Commission Regulation No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs.

49. Cousin M. A., Robinson R.K., Batt C.A., Patel P.D. (eds.). *Pseudomonas*. In *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, San Diego, California, 2000. Vol. III. P. 1864–1867.

50. Dan S. D., Rotaru O., Răpunțean Gh., Mihaiu M., Zegrean G. The dynamic of psychrotrophic microflora in beef during slaughtering process. *Bul USAMV-CN*, 2003. 60. P. 67–71.

51. Daniyan S. Y. Microbiological Quality of Pork Meat from Local Mammy Market in Niger State, Nigeria, 2011. *AU JT* 14(3). P. 229–231.

52. Eddi B. P. Ther use of Term «psychrotrophilic». *J. Appl. Bacteriol.*, 1960. № 23. P. 189–190.

53. Ercolini D., Ferrocino I., La Storia A., Mauriello G., Gighi S., Masi P., Villani F. Development of spoilage microbiota in beef stored in nisin activated packaging. *Food Microbiology*, 2010. Vol. 27. P. 137–143.

54. Ercolini D. PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. *J. Microbiol. Meth.*, 2004. Vol. 56. P. 297–314.

55. Eriksson E., Nerbrine E., Borch E., Aspap N. Vero-cytotoxin - producing *E. coli* 0157: H7 in the Swedish pig population. *Veterinary Records*, 2003. Vol. 153. P. 712–717.

56. Fasanmi O. G., Sansi J. A. A. Essentials of Meat and Milk Inspection and Hygiene, 1st Ed., published by Tunmid Printronic, Ibadan, 2008. P. 247–271.

57. Gagri A., Ustunol Z. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 2004. Vol. 67. № 4. P. 833–848.

58. Galgano F., Favati F., Bonadio M., Lorusso V., Romano P. Role of biogenic amines as index of freshness in beef meat packed with different biopolymeric materials. *Food Research International*, 2009. Vol. 42. Iss. 8. P. 1147–1152.

59. Hayes J. R., English L. L., Carter P. J., Proescholdt T. Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococcus species isolated from retail meats. *Applied Environmental Microbiology*, 2003. Vol. 69. P. 7153–7160.

60. Hogue A. T., Dreesen D. W., Green S. S. [et al.]. Bacteria on beef briskets and ground beef – correlation with slaughter volume and antemortem condemnation. *J. Food Prot.*, 1993. № 56. P. 110.

61. Jay J. M., Loessner M. J., Golden D. A. Modern Food Microbiology, 7th Edn., Springer Science and Business Media. NY, 2005. P. 63–104.

62. Jay J. M. Modern Food Microbiology. 6th Ed. Aspen publishers, Inc., Gaithersburg, 2000. P. 75–91.

63. Jay S. L., Comar D., Govenlock L. D. A national Australian food safety telephone survey. *J. Food Prot.*, 1999. V. 62. P. 921–928.

64. Jeremiah L. E. Extension of Chilled Pork Storage Life, Agri-Food Canada Research Center. National Pork Producers Council, 2015. № 4/97 P. 1–8

65. Jouki M., Tabatabaei Yazdi F. The effect of gamma irradiation and vacuum packaging upon selected quality traits of refrigerated ostrich meat. Part 1. Microbial assessment. *Animal Science Papers and Reports*, 2014. V. 32. № 1. P. 81–89.

66. Kaferstein F. K., Motarjemi Y., Bettcher D. W. Foodborne disease control: a transnational challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 1997. V. 36. P. 503–510.

67. Kennedy J., Jackson V., Blair I. S., McDowell D. A., Cowan C., Bolton D. J. Food Safety Knowledge of Consumers and the Microbiological and Temperature Status of Their Refrigerators. *Journal of Food Protection*, 2005. V. 68. № 7. P. 1421–1430.

68. Kuwahara K., Osako K. Effect of sodium Gluconate On Gel Formation Of Japanese Common Squid Muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 2003. V. 69. P. 637–42.

69. Leenanon B., Drake M. A. Acid stress, Starvation, and cold stress effect poststress behavior of *Escherichia coli*. *S. Food Protect.* 2001. № 64 (7) P. 970–974.

70. Lin M., Al-Holy M., Mousavi-Hesary M., AlQadiri H. and Cavinato A. G. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage in chicken meat by diffuse reflectance spectroscopy (600-1100 nm). *Letters in Applied Microbiology*, 2004. V. 39. P. 148–155.

71. Linares, M. B., Berruga M. I., Bornezy R. and Vergara H. Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. *Meat Sci.*, 2007. V. 76. P. 715–720.

72. Mackey B. M., Roberts T. A. Improving slaughter hygiene using HACCP and monitoring. *Fleis-chwirtschaft*, 1993. Vol. 73. S. 58–61.

73. Mauriello G., Ercolini D., La Stora A., Casaburi A., Villani F. Development of polyethylene films for food packaging activated with an antilisterial bacteriocin from *Lactobacillus curvatus* 32Y. *J. Appl. Microbiol.*, 2004. V. 97. P. 314–322.

74. McEvoy J., Sheridan J. Microbial contamination on beef in relation to hygiene assessment based on criteria used in EU decision 2001/471/EC. *Intern. J. of Food Microbiology*, 2004. V. 92. P. 217–225.

75. McMahon W., Aleo V. 3M Petrifilm Staph Express Count Plate Method for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Types of Meat, Seafood and Poultry. *Journal of AOAC International*, 2003. V. 86. № 5. P. 341–345.

76. Morita R. Y. Psychrotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 1975. № 39. P. 189–190.

77. Miller R. K. Factors affecting the quality of raw meat. In: Meat processing Improving quality. Joseph, K., K. John and D. Ledward (Eds.), CRC Press, FL, 2002. USA. P. 26–63.

78. Navratilova P., Schlecelova J., Sustackova A., Napravnikova E., Lukasova J., Klimova E. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in milk, meat and foodstuff of animal origin and phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. *Vet. Med.*, 2004. № 7. P. 243–252.

79. Phan – Than Luu., Mahouin F., Alige S. Acid responses of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Microbiol.*, 2000. № 55 (1-3). P. 121–126.

80. Pikul J., Leszczynski D. E., Kummerow F. A. Evaluation of three modified tba methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J Agric Food Chem.*, 1989. V. 37. P. 1309–1313.

81. Portnoy J. M., Barnes C. S., Kennedy K. Sampling for indoor fungi. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004. V. 113. P. 189–198.

82. Ravishankar S., Zhu L., Jaroni D. Assessing the cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different foodhandling scenarios. *Food Microbiology*, 2010. V. 27. P. 791–794.

83. Scates P., Moran L., Madden R. H. Effects of incubation temperature on isolation of *Campylobacter jejuni* genotypes from food enriched in Preston broth. *J. Environ. Microbiol.*, 2003. V. 69. P. 4658–4661.

84. Simitzis P. E., Deligeorgis S. G., Bizels J. A., Dardamani A., Theodosiou I., Fegeros K. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Sci.*, 2008. V. 79. P. 217–223.

85. Struijk C. B., Mossel D. A. Letter to the Editor of International Journal of Food Microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 2005. Vol. 99. P. 113–114.

86. Lin C. -M., Takeuchi K., Zhang L., Dohm C. B., Meyer J. D., Hall P. A., et al. Cross-contamination between processing equipment and deli meats by *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 2006. V. 69. P. 71–79.

87. Simitzis P. E., Deligeorgis S. G., Bizels J. A., Dardamani A., Theodosiou I., Fegeros K. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Sci.*, 2008. V. 79. P. 217–223.

88. Vanderline P., Shay B., Murray J. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. *J. Food Prot.*, 1998. № 61. P. 437–443.

89. Vida S., Tăbăran A., Reget O. L., Făt A. I., Mihaie M., Dan S. D. Microbiological Hazards Assessment of Psychrotrophic Microflora in Bovine Carcasses. *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*, 2016. V. 73 (2). P. 369–375.

90. Vlahova-Vangelova D., Dragoev S. Marination. effect on meat safety and human health. A review. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 2014. V. 20. P. 503–509.

91. Vogel R. F. et al. The competitive advantage of *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in sausage fermentation is caused by formation of curvacin. *A. Syst. Appl. Microbiol.*, 1993. V. 16. N. 3. P. 457–462.

92. Vorst K. L., Todd E. C. D., Ryser E. T. Transfer of *Listeria monocytogenes* during mechanical slicing of turkey breast, bologna, and salami. *Journal of Food Protection*, 2000. V. 69. P. 619–626.

93. WHO (1982): World Health Organisation, Geneva, Guidelines for organization and management of surveillance of food-borne disease. WHO monograph No. VPH/82.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України