

Научно-исследовательская работа

Экология

**Изучение и сравнение микробиологических показателей продуктов с
рынка и из торговой сети**

Выполнил:

Окишев Алексей Дмитриевич

Учащийся 11 Б класса,

МБОУ Лицей №57, Россия, г. Прокопьевск

Руководитель:

Мясникова Римма Ибрагимовна

Учитель биологии,

МБОУ Лицей №57, Россия, г. Прокопьевск

Оглавление	
Введение	3
Материалы и методы исследования.....	4
Основная часть	6
Теоретическая часть.....	6
Общая характеристика колоний бактерий, размножение бактерий	6
Контроль КМАФАнМ и оценка качества продуктов	6
Практическая часть.....	7
Обработка лабораторной посуды	7
Микробиологические посеvy молока.....	7
Микробиологические посеvy мяса	8
Результаты и обсуждение	9
Заключение	10
Список литературы.....	12
Приложения.....	13

Введение

Одно из самых важных направлений работы у производителей продуктов питания — это обеспечение безопасности пищевых продуктов. Огромное количество заболеваний передается с пищей (брюшной тиф, сальмонеллез, дизентерия, ботулизм, холера, бруцеллез, полиомиелит и др.). (Красникова Л.В., Гунькова П.И., Савкина О.А., 2016).

Пища содержит множество веществ, благоприятно влияющих на рост и размножение бактерий. Заражение продуктов питания патогенными микроорганизмами может происходить на любом этапе производства, от изготовления и до транспортировки и продажи, если не обеспечено выполнение СанПиН. (Красникова Л.В., Гунькова П.И., Савкина О.А., 2016).

Однако, в настоящее время появилась тенденция на покупку натуральной или как ее ещё называют «домашней» продукции, предлагаемой на рынках, потребители считают ее полезной из-за отсутствия обработки.

У нас возник вопрос, насколько данные товары безопасны в сравнении с купленными в торговых организациях с точки зрения микробиологических показателей.

Актуальность: Используя информацию из исследовательской работы, мы можем уменьшить риск получить пищевое отравление, или заболевание, которые и сейчас являются актуальными проблемами.

Гипотеза: я предполагаю, что продукты рынка являются не настолько безопасными, с точки зрения КМАФАнМ.

Цель: исследование микробиологических показателей продуктов купленных на рынке и в магазине, для определения их безопасности по СанПиН и ГОСТ.

Задачи исследования:

1. Изучить литературу и интернет - источники по вопросам микробиологических показателей продуктов питания;

2. Определить КМАФАнМ, в молоке и мясе, приобретенном на рынке и торговой точке.

3. Изучить общую характеристику колоний бактерий.

4. Рассмотреть методы контроля микробиологических показателей.

5. Изучить нормативы ГОСТ и СанПиН по содержанию КМАФАнМ.

Объект исследования: Изучение КОЕ, микробиологический состав продуктов (КМАФАнМ).

Предмет исследования: продукты (мясо, молоко), купленные в магазине «Лента» и на рынке «Губернский».

Практическая значимость работы состоит в том, что она может использоваться во внеурочной деятельности, в курсе дополнительного

Материалы и методы исследования

Материалы: пастеризованное молоко «Фермерское Литвиновское» (Молочное производственное объединение «Скоморошка», Кемеровская область - Кузбасс, г. Кемерово), молоко натуральное коровье, купленное на рынке, мясо свиная котлета «Лента» (изг. ООО Лента, Кемеровская область - Кузбасс, г. Прокопьевск), мясо свиное натуральное, агар-агар, вода дистиллированная.

Методы исследования

Теоретические: анализ учебной и научно - популярной литературы по теме исследования.

Методы эмпирического уровня: наблюдение, фотографирование, счет, измерение, сравнение.

Методы экспериментально – теоретического уровня: эксперимент, лабораторный опыт, анализ, моделирование, логический, синтез, дедукция.

Микробиологические посеы молока были проведены в первый день покупки.

Количество молока, взятого для посева на одну чашку Петри, должно составлять 1 мл согласно ГОСТ 9225-84 для молока. Чашку Петри с внесенным в нее молоком заливают 20 мл расплавленной и охлажденной до температуры +40-45 °С питательной средой для определения КМАФАнМ. После заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешивали для равномерного распределения посевного материала. Сразу же после застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат при температуре (30 ± 1) °С на 72 ч. После окончания срока инкубации на чашках Петри подсчитывают число выросших колоний микроорганизмов. (Межгосударственный стандарт ГОСТ 9225-84 от 01.01.86)

Микробиологические посеы мяса производятся в первый день покупки.

При исследовании свежего мяса в питательную среду засевают разведения 10–1. Для посева 0,1 г продукта (разведение 10–1) готовят десятикратное разведение взвеси: стерильной пипеткой набирают 1 см³ взвеси, переносят её в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора. По 1 см³ разведения засевают в чашки Петри с заранее маркированной крышкой и заливают 10–15 см³ расплавленного и остуженного до температуры 40–45 °С мясопептонного агара (МПА). После заливки агара в чашечку петри перемешиваем содержимое покачивая чашечку. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде на 72 ч в термостат с температурой 37 ± 2 °С. По окончании культивирования подсчитывают количество выросших на чашках с МПА колоний. (Рабинович Г.Ю., Сульман Э.М., 2005).

Основная часть

Теоретическая часть

Общая характеристика колоний бактерий, размножение бактерий

Бактерии – это одноклеточные прокариотические микроорганизмы.

У бактерий размножение происходит путём прямого бинарного деления.

Содержимое клетки разделяется перетяжкой пополам и образуются две дочерние клетки. Они растут и опять делятся. Если условия благоприятны, то процесс деления происходит каждые 20 – 30 мин. В неблагоприятных условиях бактерии погибают.

Бактериальная колония — это изолированное скопление бактериальных клеток одного вида формирующиеся на поверхности или внутри плотных полужидких питательных сред в результате размножения одной или нескольких бактериальных клеток. (М.С. Гиляров, А.А. Бабаев, Г.Г. Винберг, Г.А. Заварзин и др., 1986)

Контроль КМАФАнМ и оценка качества продуктов

КМАФАнМ - количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов выражает общую бактериальную обсемененность продукта.

Данный показатель характеризует общее содержание микроорганизмов в продукте. Увеличение КМАФАнМ говорит нам о размножении микроорганизмов, среди которых могут быть и вызывающие порчу пищи и более опасные патогенные. Высокое содержание КМАФАнМ в продуктах питания может вызвать пищевое отравление с признаками диареи, гастроэнтерита. Общую бактериальную обсемененность (КМАФАнМ) выражают в колониеобразующих единицах в 1г (см³) продукта (КОЕ/г, см³). За показатель КОЕ принимают количество колоний микроорганизмов, которые вырастают на питательном агаре

после культивирования посевов. Подсчет КОЕ ведут визуально, подсчитывая все колонии (если их около 100), или находя среднее арифметическое с 1/3 площади засева (если они распределены равномерно и количество колоний не меньше 300) (Валеева Э.Р., Н.В. Степанов, С.Ф. Фомина 2016).

Практическая часть

Обработка лабораторной посуды

1) Новую посуду кипятят в подкисленной воде в течение 15 мин. Воду предварительно подкисляют 1 — 2 %-ным раствором соляной кислоты.

2) Вымытую посуду стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 160°C в течение 2ч или в автоклаве при 0,1 МПа (1 кг/см²) в течение 20 мин, затем подсушивают. Чашки Петри, пипетки, пробирки заворачивают в бумагу и стерилизуют.

Микробиологические посевы молока

1) Микробиологические посевы образцов молока (пастеризованное молоко "Фермерское Литвиновское" (Молочное производственное объединение "Скоморошка", Кемеровская область - Кузбасс, г. Кемерово), молоко натуральное коровье, купленное на рынке) производим в день приобретения.

Используя Межгосударственный стандарт ГОСТ 9225-84, провели микробиологические анализы вышеуказанных образцов молока на определение количества мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) (Межгосударственный стандарт ГОСТ 9225-84 от 01.01.86).

2) Количество молока, взятого для посева на одну чашку Петри, составляет 1 мл согласно ГОСТ 9225-84 для пастеризованного молока. Чашку Петри с внесенной в нее пробой молока заливаем 20 мл расплавленной и охлажденной до температуры +40-45 °С питательной средой для определения КМАФАнМ. После

заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешиваем для равномерного распределения посевного материала. Сразу же после застывания среды чашки Петри переворачиваем крышками вниз и ставим в термостат при температуре $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ на 72 ч. После окончания срока инкубации на чашках Петри подсчитываем число выросших колоний микроорганизмов. При этом используем лупу с увеличением в 4–10 раз. Ежедневно фиксируем результаты (Приложение 2, Таблица 2).

Микробиологические посевы мяса

Микробиологические посевы мяса произвели в день приобретения (мясо свиная котлета «Лента» (изг. ООО Лента, Кемеровская область - Кузбасс, г. Прокопьевск), мясо свиное натуральное). При исследовании свежего мяса в питательную среду засеваем разведения 10–1. Для посева 0,1 г продукта (разведение 10–1) готовим десятикратное разведение взвеси: стерильной пипеткой набираем 1 см³ взвеси, переносим ее в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора. По 1 см³ разведения засеваем в чашки Петри с заранее маркированной крышкой и заливаем 10–15 см³ расплавленного и остуженного до температуры 40–45 °С мясопептонного агара (МПА). Сразу после заливки агара содержимое чашек Петри тщательно перемешиваем путем легкого покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде на 72 ч в термостат с температурой 37 °С. По окончании культивирования подсчитываем количество выросших на чашках с МПА колоний. При этом используем лупу с увеличением в 4–10 раз. Ежедневно фиксируем результаты (Приложение 1, Таблица 1)

Результаты и обсуждение

Результаты исследования продуктов по микробиологическим показателям представлены в (Приложение 1, Таблица 1) и (Приложение 2, Таблица 2). Образцы молока исследовались нами на определение КМАФАнМ и КОЕ.

В первые сутки ни в одной из чашечек петри не было видимых признаков появления колоний бактерий. Во вторые сутки начали появляться первые колонии бактерий, которые плохо видны невооруженным глазом. На третьи сутки количество колоний возросло, но они все так же плохо видимы, стало видно, что молоко с рынка больше обсеменено микроорганизмам, чем молоко из магазина (Приложение 2, Таблица 2). Можно предположить, что наличие большего числа бактерий связано с отсутствием обработки и несоблюдением условий хранения. Содержание КОЕ в молоке с рынка составило $1,56 \cdot 10^4$, а КОЕ молока из магазина составило $1,12 \cdot 10^4$, оба этих показателя соответствуют СанПин и ГОСТ.

Образцы мяса исследовались на определение КМАФАнМ и КОЕ.

В первые сутки никаких изменений в чашечках петри не было заметно. Во вторые сутки произошло появление большого количества колоний бактерий. Невооруженным глазом видно, что количество колоний в мясе с рынка, больше, чем из магазина. На третьи сутки количество колоний возросло еще больше. Разница между мясом с рынка и мясом из магазина сохранилась (Приложение 1, Таблица 1). Можно предположить, что количество бактерий в мясе из магазина меньше количества бактерий в мясе из рынка из - за правильной обработки и хранения мяса. КОЕ мяса с рынка составило более $2 \cdot 10^5$, что не соответствует СанПиН и ГОСТ. А КОЕ мяса из магазина составило $1,2 \cdot 10^5$ и это соответствует СанПиН и ГОСТ (СанПиН 2.3.2.560-96)

Заключение

Бактерии это одноклеточные прокариотические микроорганизмы, размножающиеся путём прямого бинарного деления. На питательной среде они образуют колонии. Бактерии могут вызывать различные заболевания. КМАФАнМ - количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов выражает общую бактериальную обсемененность продукта. КМАФАнМ используют для определения «чистоты» продукта. Чем меньше этот показатель, тем менее продукт обсеменен бактериально. Если же этот показатель высок, то с большой вероятностью для продукта не выполняются СанПиН.

Общую бактериальную обсемененность (КМАФАнМ) выражают в колониеобразующих единицах в 1г (см³) продукта (КОЕ/г, см³). За показатель КОЕ принимают количество колоний микроорганизмов, которые вырастают на питательном агаре после культивирования посевов.

Подсчет КОЕ ведут визуально, подсчитывая все колонии (если их около 100), или находя среднее арифметическое с 1/3 площади засева (если они распределены равномерно и количество колоний не меньше 300).

В этой работе мы находили КОЕ мяса и молока с рынка и из магазина. По итогам засевов получилось, что на мясе с рынка большее количество бактерий, чем на мясе из магазина. А также КОЕ мяса с рынка составило более $2 \cdot 10^5$, что не соответствует СанПиН. КОЕ мяса из магазина составило $1,2 \cdot 10^5$.

Предположительно большая бактериальная обсемененность мяса с рынка связана с несоблюдением СанПиН.

КОЕ молока и с рынка, и из магазина соответствует СанПиН, но в образцах молока с рынка КОЕ выше (КОЕ молока с рынка: $1,56 \cdot 10^4$, КОЕ молока из магазина: $1,12 \cdot 10^4$). Можно предположить, что это из - за нарушения условий хранения, транспортировки и обработки.

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Образцы молока, приобретенные в торговой сети менее бактериально обсеменены, чем образцы молока с рынка, соответственно они безопаснее с микробиологической точки зрения.

2. Образцы молока, приобретенные на рынке более бактериально обсеменены, чем образцы из магазина, соответственно с микробиологической точки зрения они опаснее, чем образцы молока из торговой сети.

3. Образцы мяса, приобретенные в торговой сети менее бактериально обсеменены, чем мясо с рынка, соответственно они безопаснее в микробиологическом плане.

4. Образцы мяса, приобретенные на рынке более обсеменены бактериально, чем мясо из торговой сети, соответственно мясо на рынке с точки зрения микробиологии опаснее.

Таким образом, мы подтвердили гипотезу о большей обсемененности продуктов с рынка по сравнению с продуктами из магазина. Большая обсемененность обусловлена несоблюдением условий хранения и транспортировки продуктов, отсутствием обработки. Продукты, купленные на рынке, необходимо употреблять в пищу с осторожностью и не стоит их долго хранить. Если покупать продукты на рынке, то желательно употреблять их в пищу быстрее, т.к. из-за большего количества бактерий продукты с рынка будут портиться быстрее.

Список литературы

- 1 Валеева Э.Р., Степанов Н.В., Фомина С.Ф., Учебное пособие: оценка безопасности пищевых продуктов. Казань, 2015. – 80 с.
- 2 Гиляров М.С., Бабаев А.А., Винберг Г.Г., Заварзин Г.А. и др., «Биологический энциклопедический словарь.» – 2-е изд., исправл. – М.: Сов. Энциклопедия, 1986. - 892 с.
- 3 Красникова Л.В., Гунькова П.И., Савкина О.А., Общая пищевая микробиология, Санкт-Петербург 2016. – 134 с.
- 4 Красникова Л.В., Гунькова П.И., Савкина О.А., Микробиологическая безопасность пищевого сырья и готовой продукции, 2016. – 89 с.
- 5 Межгосударственный стандарт ГОСТ 9225-84 от 01.01.1986.
- 6 Рабинович Г.Ю., Сульман Э.М.; Санитарно - микробиологический контроль объектов окружающей среды и пищевых продуктов с основами микробиологии. Тверь, 2005. – 217 с.=
- 7 Федоренко Е.В., Коломиец Н.Д., Сычик С.И., Актуальные проблемы микробиологической безопасности пищевой продукции, 2016. – 877 с.

Приложения

Приложение 1

Таблица 1

Результаты эксперимента с мясом (КМАФАнМ)

Дата	Мясо из торговой сети	Мясо с рынка	Фото образцов посева мяса из магазина	Фото образцов посева мяса с рынка
05.01. 2022	Видимых результатов нет.	Видимых результатов нет.		
06.01. 2022	Появление большого количества колоний сильно выделяющихся визуально. Колоний меньше, чем в мясе с рынка.	Появление большого количества колоний, сильно выделяющихся визуально. Невооруженным глазом видно, что колоний больше, чем в мясе из торговой сети.		
07.01. 2022	Количество колоний еще больше	Количество колоний еще больше возросло.		



	возросло.	Разница осталась той же.		
--	-----------	--------------------------	--	---

Приложение 2

Таблица 2

Результаты эксперимента с молоком (КМАФАнМ).

Дата	Молоко из торговой сети	Молоко с рынка	Фото образцов посева молока из магазина	Фото образцов посева молока с рынка
05.01. 2022	Видимых результатов нет.	Видимых результатов нет.		
06.01. 2022	Появление небольшого количества колоний. Колонии плохо видны.	Появление небольшого количества колоний. Колонии плохо видны.		
07.01.	Количество	Количество		

2022	<p>колоний стало больше, визуально колонии плохо видно. В чашечке петри с молоком из магазина колоний визуально немного меньше.</p>	<p>колоний стало больше, визуально колонии плохо видно. В чашечке петри с молоком с рынка колоний визуально немного больше.</p>	 <p>A photograph of a glass petri dish containing a white, opaque liquid (milk) with a thin layer of white bacterial colonies growing on the surface. The dish is placed on a brown, textured surface.</p>	 <p>A photograph of a glass petri dish containing a white, opaque liquid (milk) with a thin layer of white bacterial colonies growing on the surface. The dish is placed on a brown, textured surface.</p>
------	---	---	--	---