

НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МАЗУР ТЕТЯНА ГРИГОРІВНА

УДК 637.127:576

**МІКРОБІОЛОГІЧНІ РИЗИКИ НА ШЛЯХУ ОТРИМАННЯ ПИТНОГО МОЛОКА ТА
ПІДХОДИ ДО ЇХ УСУНЕННЯ**

16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ–2007

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Білоцерківському державному аграрному університеті Міністерства аграрної політики України

Науковий керівник– доктор сільськогосподарських наук, професор
ДИМАНЬ Тетяна Миколаївна,
Білоцерківський державний аграрний університет,
завідувач кафедри екотрофології

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
ЧОРНИЙ Микола Васильович,
Харківська державна зооветеринарна академія,
завідувач кафедри зоогігієни

кандидат ветеринарних наук,
старший науковий співробітник
КРИЖАНІВСЬКИЙ Ярослав Йосипович,
Тернопільська дослідна станція
Інституту ветеринарної медицини УААН,
завідувач лабораторії ветеринарної гігієни
та санітарії молока

Захист дисертації відбудеться “12” вересня 2007 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.12 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ – 41, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус 3, ауд. 65.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного аграрного університету за адресою: 03041, м. Київ – 41, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус 4, ауд. 28.

Автореферат розісланий “9” серпня 2007 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради

Шевченко Л.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Екологічна ситуація, стан харчування і здоров'я населення оцінюються провідними вченими як чинники, що являють собою реальну загрозу національній безпеці України. За таких умов підвищення безпечності та якості харчових продуктів є одним із найактуальніших і пріоритетних державних завдань. Численні дослідження вітчизняних науковців (Даниленко І.П. (1979–2005); Хоменко В.І. (1997–2001), Якубчак О.М. (1997–2005), Кравців Р.Й. (2002), Касянчук В.В. (2005); Крижанівський Я.Й. (1997–2005) та ін.) спрямовані на їх вирішення.

За характером і ступенем небезпечності для здоров'я людини перше місце посідають забруднення харчових продуктів, спричинені мікрофлорою. Відповідно до переліку харчових продуктів за ступенем забруднення мікроорганізмами і частотою випадків харчових отруєнь, розробленому Всесвітньою організацією охорони здоров'я, молоко і молочні продукти віднесені до І категорії як ті, що найчастіше служать прямим джерелом харчових отруєнь. Отже, молоко слід розглядати не лише з позиції задоволення потреби людини у харчових і біологічно активних речовинах, але й як джерело можливих потенційно небезпечних для здоров'я людини речовин.

Більшість літературних джерел стосовно проблеми бактеріальної санації молока належать до періоду, коли переважну частку заготівельного молока становило молоко державних сільськогосподарських підприємств, яке отримувалося за використання машинного доїння і охолоджувалося одразу після цієї операції. За останні 10 років ситуація з сировинною базою для молокопереробної промисловості в Україні кардинально змінилася. Молоко, зібране в особистих підсобних господарствах населення, яким притаманна різна культура виробництва, становить нині понад 80 % заготівельного молока. При цьому збільшилася кількість небезпечних чинників, які впливають на безпечність та якість продукції, що вимагає нових підходів і регламентацій щодо промислового оброблення та перероблення молока, а також впровадження новітніх методів бактеріологічного контролю, зокрема ДНК-технологій.

Прогресивним напрямом досягнення гарантованої безпечності продукції є аналіз ризиків під час їхнього виробництва і визначення контрольних точок у технологічному процесі. У цьому полягає головний принцип стратегії НАССР, впровадження якої є важливою умовою реалізації планів нашої держави щодо інтеграції в європейський економічний простір, вступу до СОТ. На жаль, на молокопереробних підприємствах України ще недостатньо досвіду з її впровадження. Крім того, під час її розроблення контроль критичних точок розпочинається з переробного підприємства,

а сировинна зона залишається поза увагою, хоча, як відомо, формування показників безпечності готового продукту прямо залежить від якості використовуваної сировини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано у відповідності з тематичним планом науково-дослідних робіт Інституту післядипломного навчання керівників та спеціалістів ветеринарної медицини Білоцерківського державного аграрного університету (номер державної реєстрації 0105U0005437) за темою “Розроблення ДСТУ на методи аналізу молока, молочних продуктів та м'яса”.

Мета і завдання досліджень. *Метою* дослідження було виявити мікробіологічні ризики на шляху молока від місця безпосереднього отримання до місця реалізації споживачам і запропонувати підходи до управління цими ризиками на молокопереробному підприємстві.

Реалізація мети дослідження передбачала необхідність виконання таких *завдань*:

1. Дослідити вплив технологічних процесів і режимів первинного оброблення молока на молочно-товарній фермі на його бактеріальне обсіменіння.
2. Порівняти санітарно-гігієнічні характеристики молока, що надходить на молокопереробне підприємство із сільськогосподарських підприємств та із особистих підсобних господарств населення.
3. Визначити частоту виявлення *Listeria monocytogenes* у заготівельному молоці.
4. Дослідити вплив пастеризації на бактеріальне обсіменіння молока.
5. Оцінити ефективність існуючих режимів пастеризації молока залежно від санітарно-гігієнічного стану сировини та умов виробництва.
6. Виявити точки повторного бактеріального обсіменіння пастеризованого молока, вивчити кількісний та якісний склад вторинної мікрофлори.
7. Дослідити склад мікрофлори пастеризованого молока під час його зберігання та реалізації.
8. Запропонувати підходи до управління мікробіологічними ризиками під час виробництва пастеризованого питного молока.

Об'єкт дослідження – процес зміни санітарно-гігієнічних показників молока під час його отримання, перероблення та зберігання.

Предмет дослідження – бактеріальне обсіменіння сирого та пастеризованого молока.

Методи дослідження. Використано наступні методи аналізу біологічного матеріалу: мікробіологічні – для аналізу кількісного та якісного складу мікрофлори сирого та пастеризованого молока; молекулярно-генетичні (метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР)) – для визначення частоти виявлення *Listeria monocytogenes*. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Statistica 99 Edition.

Наукова новизна одержаних результатів. Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено необхідність інтегрального мікробіологічного контролю як системного підходу до

усунення мікробіологічних ризиків під час виробництва, оброблення, перероблення та реалізації молока, відповідно до концепції системи НАССР. Одержано нові дані щодо зміни кількісного та якісного складу мікрофлори молока на різних етапах технологічного циклу його оброблення та перероблення, залежно від пори року. Вперше в Україні за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції визначено частоту виявлення *Listeria monocytogenes* у заготівельному молоці.

Практичне значення одержаних результатів. Завдяки комплексним дослідженням виявлено підвищені рівні бактеріального обсіменіння як сирого незбираного, так і пастеризованого молока. Це вказує на необхідність проведення постійного санітарно-гігієнічного контролю за кількістю мікроорганізмів на всіх етапах технологічного циклу виробництва молока коров'ячого питного, запровадження цілеспрямованих профілактичних заходів щодо запобігання бактеріальній контамінації сировини і готового продукту. Розроблені в дисертаційній роботі підходи до усунення мікробіологічних ризиків під час виробництва питного молока сприятимуть підвищенню безпечності та якості вітчизняної молочної продукції.

Дослідження частоти виявлення *Listeria monocytogenes* у заготівельному молоці, яке виробляється сільськогосподарськими підприємствами та в особистих підсобних господарствах населення, і впровадження при цьому методів ДНК-технологій сприятиме створенню ефективних програм моніторингу та елімінації збудників харчових отруєнь.

На основі проведених досліджень виробництву запропоновано “Методичні рекомендації щодо впровадження системи НАССР на молокопереробних підприємствах”, затверджені науково-технічною радою Держдепартаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України від 18.11.2005 р.

Матеріали дисертації використовуються у навчальному процесі на екологічному факультеті та факультеті ветеринарної медицини Білоцерківського державного аграрного університету.

Особистий внесок здобувача. Відповідно до поставленої мети та завдань, дисертантом проведено аналіз літературних даних за темою дисертації, експериментальні дослідження, їхня статистична обробка, написання та оформлення дисертації. Формулювання завдань роботи, планування напрямку досліджень, розробка методів і схеми досліду, інтерпретацію отриманих результатів здійснено з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на засіданнях вченої ради екологічного факультету та науково-практичних конференціях Білоцерківського державного аграрного університету (2002–2006 рр.), були оприлюднені на міжнародних науково-практичних конференціях „Наука і освіта – 2004” (Дніпропетровськ, 2004), „Екологія. Людина. Суспільство” (Київ, 2004), „День молока – 2004” (Прага, 2004), „Динаміка наукових досліджень” (Дніпропетровськ, 2004), 70-й науковій конференції „Наукові здобутки

молоді – вирішенню проблем харчування у XXI столітті” (Київ, 2004), “Екотрофологія. Сучасні проблеми” (Біла Церква, 2005).

Публікації результатів досліджень. Результати досліджень за темою дисертації опубліковано в 14 наукових працях, з них 1 монографія, 4 статті, з яких 3 надруковані у фахових виданнях, що входять до переліку ВАК, 1 методичні рекомендації, 8 матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних літературних джерел, що містить 217 найменувань, з них – 83 зарубіжних авторів, додатків. Робота викладена на 136 сторінках комп’ютерного тексту, ілюстрована 35 таблицями, 7 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для вирішення поставлених у дисертаційній роботі завдань у період з 2002 по 2006 роки нами було проведено шість дослідів: 1) досліджено бактеріальне обсіменіння молока, отриманого за використання різного доїльно-молочного обладнання; 2) порівняно бактеріальне обсіменіння сирого збірного молока, що виробляється на сільськогосподарських підприємствах та в особистих підсобних господарствах населення; 3) досліджено ефективність пастеризації на молокопереробному підприємстві залежно від бактеріального обсіменіння сирого молока; 4) вивчено кількісний і якісний склад вторинної мікрофлори молока; 5) досліджено стійкість пастеризованого молока під час зберігання; 6) досліджено мікробіальні характеристики молока в торговельній мережі.

Загальна схема експериментальних досліджень представлена на рис.1.

Експериментальна частина досліджень виконувалася на базі науково-дослідних лабораторій кафедри екотрофології, кафедри лабораторної діагностики інфекційних хвороб сільськогосподарських тварин Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини, міжкафедральної лабораторії новітніх методів дослідження Білоцерківського державного аграрного університету, Білоцерківської міської державної лабораторії ветеринарної медицини, а також у виробничих умовах СТОВ „Агросвіт” (с. Карапиші Миронівського району), СВК „Колосок” (с. Коженики Білоцерківського району) та молокопереробного підприємства ВАТ “Віта” (м. Біла Церква) Київської області.

Для дослідження мікрофлори і динаміки зміни її кількісного та якісного складу в процесі отримання молока на фермі та технологічного оброблення на молокопереробному підприємстві було використано мікробіологічні методи.

Ідентифікацію *Listeria monocytogenes* у молоці проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Для ампліфікації ділянки ДНК рибо-сомального гена *L. monocytogenes* використовували тест-систему „АмпліСенс-100-R” (ЦНИИЭпидемиологии МЗ РФ). Продукти ампліфікації розділяли методом електрофорезу в 2% агарозному гелі. Візуалізацію результатів електрофорезу проводили під ультрафіолетовими променями на транслюмі-наторі після фарбування гелів бромистим етидієм. Позитивною контрольною пробою служив препарат тотальної ДНК, виділеної із штаму *L. monocytogenes* 2797/5М методом фенольної екстракції і преципітації етанолом.

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за загальноприйнятими методиками з використанням методів дисперсійного аналізу за допомогою комп'ютерної програми Statistica 99 Edition.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Мікробіологічні ризики на шляху отримання сирого збірного молока

Вплив первинного оброблення на бактеріальне обсіменіння сирого незбираного молока.

Досліджували санітарно-гігієнічні показники молока, яке отримували в умовах СТОВ „Агросвіт” та СВК „Колосок”. У першому господарстві експлуатувалась система доїльно-молочного обладнання ”Де Лаваль”. Від останньої корови до збірної ємності молоко долало відстань 12 м, а від доїльної установки до резервуара-охолоджувача ємністю 7000 л – 25 м. У СВК „Колосок” доїння корів здійснювалось у молокопровід АДМ-8 (довжина молокопроводу 53 м), відстань від доїльної установки до пункту первинного оброблення становила 64 м, для охолодження молока використовувався резервуар-охолоджувач ємністю 2000 л. Мікробіологічні показники молока наведено в таблиці 1.

Аналізуючи дані таблиці 1, можна дійти висновку, що довжина транспортного молокопроводу здійснює істотний вплив на показники санітарно-гігієнічного стану молока на фермі. На прикладі СВК „Колосок” показано, що частка транспортного молокопроводу в загальному бактеріальному обсіменінні молока, отриманого на фермі, може становити 74,7%. Водночас досвід господарства „Агросвіт” показує, що цю частку можна зменшити до 38,2 % за рахунок використання доїльної установки з вкороченим молокопроводом і раціональної евакуації молока від місця доїння до місця

оброблення і зберігання. Безперечно, велика довжина молокопроводу ускладнює його обслуговування і підтримання належного санітарного стану внутрішньої поверхні.

Таблиця 1

**Загальне бактеріальне обсіменіння молока в процесі доїння
і первинного оброблення ($M_{\pm m}$, n=12)**

Місце відбирання проб молока	Система доїльно-молочного обладнання “Де Лаваль”		Доїльна установка АДМ-8, резервуар-охолоджувач МКА-2000	
	МАФАНМ, КУО·10 ³ /см ³	Колі-титр, см ³	МАФАНМ, КУО·10 ³ /см ³	Колі-титр, см ³
Молочна залоза корови	50,5±5,47	>1–1	63,8±6,67	>1–1
Молокозбірник доїльної установки	83,3±10,05*	1	112,2±8,55*	1–10 ⁻¹
Резервуар-охолоджувач до охолодження	134,8±13,67*	1–10 ⁻¹	443,0±23,46*	10 ⁻¹ –10 ⁻⁴
Резервуар-охолоджувач через 1 год після охолодження	106,3±12,46*	10 ⁻¹ –10 ⁻²	402,5±28,14*	10 ⁻¹ –10 ⁻⁴

* – P<0,001 порівняно з показниками свіжовидоєного молока

Бактеріальне обсіменіння сирого збірного молока за різних форм господарювання. Було проведено дослідження бактеріального обсіменіння молочної сировини, яка надходила на перероблення на ВАТ „Віта” м. Біла Церква (майже 90 % – з особистих підсобних господарств населення (ОПГН)). Загальна кількість бактерій у сирому молоці, яка визначалася на агарі з гідролізованим молоком, становила в 1 см³ – від 1,1·10⁷ до 1,5·10⁸ впродовж усього періоду досліджень. Основна маса мікрофлори була представлена молочнокислими бактеріями, кількість яких сягала десятків мільйонів в 1 см³. Кількість протеолітичних бактерій становила не більше 1–3 %, а термостійких – 10 % від загального бактеріального обсіменіння.

Таблиця 2

**Бактеріальне обсіменіння сирого збірного молока з господарств
різних форм власності, $M_{\pm m}$, n=18**

Показник	Сільськогосподарські підприємства	Особисті підсобні господарства населення
МАФАнМ, КУО·10 ⁷ /мл	2,7±0,40	4,8±0,80*
Термостійкі бактерії, КУО·10 ⁷ /см ³	0,1±0,02	0,2±0,04
Молочнокислі бактерії, КУО·10 ⁷ /см ³	1,6±0,08	2,1±0,04*
Протеолітичні бактерії, КУО·10 ⁷ /см ³	0,03±0,006	0,04±0,003
Колі-титр, см ³	10 ⁻⁴ –10 ⁻⁶	10 ⁻⁶
Титр ентерококів, см ³	10 ⁻¹ –10 ⁻³	10 ⁻³
<i>Bac. cereus</i> , КУО/см ³	32,3±8,70	44,6±10,30

* – P<0,05 порівняно з показниками для СП

Як видно з табл. 2, загальне бактеріальне обсіменіння, а також кількість кислототвірних, термостійких, протеолітичних мікроорганізмів, кишкової палички та ентерококів в 1 см³ у молоці, отриманому з сільськогосподарських підприємств (СП), в середньому в 1,5 раза нижчі від аналогічних показників молока, зібраного в особистих підсобних господарствах населення (P<0,05).

Низька культура господарювання, відсутність належного післядоїльного оброблення унеможливорює перетворення ОПГН в гідну альтернативу тваринницьким комплексам. Високе бактеріальне обсіменіння, яким характеризується молоко приватних здавачів, робить його непридатним для виробництва більшості молочних продуктів. Світовий досвід уже довів недоцільність промислового використання молока, виробленого в господарствах з невеликим поголів'ям худоби.

Виявлення *Listeria monocytogenes* у молоці. За використання методу ПЛР було проаналізовано 110 проб молока на присутність генетичного матеріалу *Listeria monocytogenes*. За наявності лістерії в пробі молока в результаті ПЛР ампліфікувався фрагмент ДНК розміром 280 п.н., за її відсутності продукт ампліфікації не утворювався (рис.2).

Виробники молока	Кількість проб молока		
	досліджено	контаміновано	%
ОПГН	74	6	8,1
СП	36	1	2,8
Разом	110	7	6,4

За даними таблиці 3, частота виявлення лістерії в молоці з ОПГН вища, ніж у молоці з ферм СП. Причини цього очевидні – відсутність можливості контролювати санітарно-гігієнічні умови виробництва та зберігання молока, відсутність регулярного ветеринарного обстеження тварин, низька культура господарювання окремих громадян. Передбачається, що впровадження молекулярних методів контролю наявності *L. monocytogenes* у молоці та молочних продуктах дасть змогу створити сучасну схему ефективного моніторингу за безпечністю молока та молочних продуктів на етапах виробництва і зберігання.

Вплив технологічних операцій на переробному підприємстві на бактеріальне обміненія молока

Вплив бактеріального обміненія сирого молока в різні пори року на кількісний та якісний склад залишкової мікрофлори пастеризованого молока. Загальна кількість мікроорганізмів у пробах молока, які асептично відбиралися із пастеризатора, характеризувалася досить великими величинами – десятками, а у літні місяці – сотнями тисяч клітин у 1 см³. За даними таблиці 4, що вищим було бактеріальне обміненія сирого молока, то більша кількість залишкової мікрофлори виявлялася у пастеризованому молоці.

Ефективність пастеризації молока у літній період становила в середньому 99,65%, у весняний – 99,82%, що було нижчим від рівня, який вимагається (99,90%). В інші періоди року забезпечувався достатній рівень ефективності теплового оброблення молока.

Залишкова мікрофлора пастеризованого молока була представлена в основному молочнокислими бактеріями. Найбільше їх виявляли влітку. Саме в цей період на внутрішній поверхні нагрівних апаратів найінтенсивніше відкладався молочний камінь. Істотному впливу пастеризації піддавалася група протеолітичних бактерій. У зимово-весняний період залишкова мікрофлора пастеризованого молока містила більше протеолітичних бактерій, ніж у літньо-осінній період. Дослідження бактеріоскопічних препаратів і встановлені культуральні властивості показали, що взимку та навесні в молоці серед протеолітичних бактерій переважали споротвірні мікроорганізми, зокрема *Bac. cereus*, а влітку та восени – неспоротвірні форми (бактерії кишкової палички та ентерококи). Кількість ентерококів у пастеризованому молоці зменшувалася на 1–2 порядки порівняно з сирим і їх титр становив 1→1, а у окремих випадках 10⁻¹ см³. Найбільшому впливу пастеризації піддавалися бактерії кишкової палички. Їх титр у молоці після термічного оброблення становив більше 3 см³.

Ефективність пастеризації за різних температурних режимів. Встановлено, що температурний режим пастеризації 76 °С з експозицією 15–20 с забезпечував ефективне знищення мікрофлори лише в молоці 1-го та 2-го класів за пробою на редуктазу – залишкової мікрофлори не

більше 20 тисяч мікроорганізмів у 1 см^3 (рис. 3). Цей же режим пастеризації для молока 3-го та 4-го класів виявився малоефективним – залишкова мікрофлора в ряді випадків перевищувала нормативи для пастеризованого молока. Необхідного ефекту пастеризації такого молока було досягнуто лише за підвищення температури до $80 \text{ }^\circ\text{C}$ для 3-го класу і до $85 \text{ }^\circ\text{C}$ – для 4-го класу впродовж 15–20 с.

Кількісний та якісний склад вторинної мікрофлори пастеризованого молока. Висока ефективність пастеризації, яка досягалася на підприємстві, іноді повністю втрачалася через істотне повторне обсіменіння пастеризованого молока. Так, наприклад, за ефективності пастеризації 99,99% і мінімальної залишкової мікрофлори (близько 2 тис. бактерій в 1 см^3), кількість мікро-організмів у молоці перед реалізацією збільшувалася в 55 разів, у тому числі в проміжній ємності – в 23 рази, і в готовому продукті містилося 120 тис./ см^3 .

Якщо кількість мікроорганізмів у поліетиленовому пакеті прийняти за 100%, то їхня кількість у молоці після пастеризації становила 5–10%, решта 90–95% – потрапляють у нього під час контакту з технологічним обладнанням.

Повторне бактеріальне обсіменіння пастеризованого молока залежить не тільки від санітарного стану молочного обладнання, але й від пори року. Санітарний стан на підприємстві за весь період дослідження підтримувався приблизно на однаковому рівні, а збільшення мікрофлори в пастеризованому молоці за період його проходження заводськими лініями було в зимовий та осінній періоди не більше, ніж у 2–3 рази, в весняний – воно зростало у 7 разів, а в літній – майже у 20 разів порівняно з кількістю залишкової мікрофлори (рис. 4). На особливу увагу заслуговує збільшення кількості бактерій кишкової палички, титр котрих в окремі місяці становив 10^{-3} , що є недопустимим для питного пастеризованого молока. Наявність у молоці таких мікроорганізмів, як споротвірна паличка *Bac. cereus* та ентерококів, залишалась постійною упродовж всього виробничого процесу. Кількість мікроорганізмів *Bac. cereus* становила у молоці в середньому 50 КУО/ см^3 , незначно підвищувалася навесні та влітку. Водночас для пастеризованого молока відзначали підвищені значення титру ентерококів (10^{-1} – 10^{-2} см^3).

Одним із найістотніших джерел бактеріального обсіменіння молока на різних етапах технологічного циклу, що знижує його стійкість та гігієнічну якість, виступають молочні комунікації та ємності для зберігання молока. Під час кожного повторного заповнення невимитих ємностей молоком загальна кількість бактерій підвищувалася в ньому в 3–4 рази, кишкової палички – в 10 разів (рис. 5).

Отже, чистота молочних комунікацій, технологічного обладнання, а також регулярність заповнення проміжних ємностей мають особливо велике значення для забезпечення виробництва безпечного та якісного готового продукту. Розробляючи заходи, спрямовані на поліпшення

гігієнічної якості і стійкості питного молока, основну увагу слід звертати не на зміну режимів пастеризації, а на організацію стабільної, контрольованої роботи пастеризаційно-охолоджувальних установок, ефективність і регулярність миття та дезінфекції обладнання, дотримання регламентованих технологічною інструкцією умов зберігання готового продукту на підприємстві та в торговельній мережі.

Мікробіологічні ризики на шляху питного молока від переробного підприємства до споживача

Динаміка кількості бактерій у пастеризованому молоці в процесі зберігання. Досліди з вивчення стійкості питного пастеризованого молока під час зберігання за різних температурних умов показали, що за кімнатної температури (20 °С) молоко, особливо в літній період, не витримувало 12-годинного зберігання, зідалося. В умовах холодильника (4–6 °С) молоко може зберігатися до однієї доби без істотного збільшення кількості мікробних клітин і без зміни органолептичних показників. Значних сезонних відмінностей у динаміці накопичення мікроорганізмів під час зберігання пастеризованого молока в холодильнику не спостерігали (табл. 5).

Таблиця 5

Зміна загальної кількості бактерій у пастеризованому молоці в процесі його зберігання за температури 4–6 °С, КУО·10⁶/см³, M_{±m}, n=12

Пора року	МАФАНМ				
	до зберігання	у процесі зберігання, через діб			
		1	2	5	7
Зима	0,1±0,01	0,2±0,03*	0,3±0,04*	0,5±0,07*	1,5±0,20*
Весна	0,5±0,06	1,9±0,07**	3,3±0,31*	13,7±1,30*	14,3±2,20*
Літо	3,0±0,61	3,1±0,41	3,4±0,06	4,4±0,70	5,6±0,80***
Осінь	1,7±0,2	1,9±0,06	2,2±0,05	4,3±0,63**	10,7±2,20*
Середнє	1,3±0,22	1,8±0,14	2,3±0,12	5,7±0,67**	8,0±1,35**

*–P<0,001, **–P<0,01, ***–P<0,05 порівняно з показниками до зберігання

Зміна мікрофлори питного молока в процесі реалізації. Молоко, яке надходило на реалізацію, зберігалось в магазинах за кімнатної температури впродовж 3–12 годин. Такі умови зберігання є характерними для більшості дрібних торговельних закладів в Україні.

Встановлено, що загальна кількість мікроорганізмів в пастеризованому молоці до кінця реалізації збільшувалася в середньому в 20 разів, молочно-кислих – в 10–20 разів, титр кишкової палички змінювався на один порядок.

Молоко в магазині до початку реалізації мало температуру 16–19 °С, кислотність 18–19 °Т. Під кінець реалізації температура підвищувалася до 24–25 °С, кислотність зростала до 64 °Т, під час кип'ятіння молоко зсідалося. Кількість бактерій становила десятки мільйонів клітин в 1 см³ і в деяких випадках перевищувала середню кількість бактерій сирого молока в 3–6 разів.

Таким чином, від місця безпосереднього отримання до споживача молоко проходить довгий шлях, на якому великою мірою втрачає свої первинні властивості. Пастеризоване молоко в окремих випадках за вмістом мікрофлори є порівнянним з сирим молоком, і за біологічною та харчовою цінністю значно поступається перед ним. Із продукту, який характеризується дієтичними властивостями, молоко в результаті промислового перероблення може перетворитися в продукт, небезпечний для здоров'я людини.

Системний підхід до управління мікробіологічними ризиками під час виробництва питного молока

На основі проведених в дисертаційній роботі досліджень нами запропоновано схему інтегрального бактеріологічного контролю, який являє собою систему постійного і комплексного спостереження, вимірювань, аналізування та оцінення якісного складу, кількості та активності мікроорганізмів на всіх етапах виробництва питного молока від отримання сировини до реалізації готової продукції (табл. 6).

Таблиця 6

Схема інтегрального бактеріологічного контролю

Етап техноло-гічного циклу	Мікробіологічний ризик	Засоби зменшення чи усунення ризику	Показник контролю
1	2	3	4
Доїння	інфекційні хвороби тварин; контамінація мікроорганізмами з доїльного обладнання	застосування доїльних установок з вкороченим молокопроводом; дезінфекція і миття доїльного обладнання	КМАФАНМ колі-титр
Внутрішньо-фермське	контамінація мікроорганізмами	раціональне розміщення молочного блоку; зменшення	змиви з трубопро-водів

транспортування	з транспортних молоко-проводів	довжини транспортних молокопроводів; дезінфекція і миття молочного обладнання і комунікацій	
Первинне оброблення молока (охолодження)	контамінація мікроорганізмами з холодильного обладнання	дотримання температурних режимів охолодження, дезінфекція і миття молочного обладнання	КМАФАнМ
Доставка на переробне підприємство	контамінація мікроорганізмами з автомолцистерни	скорочення тривалості перевезення; температура транспортування не вище 10°C; дезінфекція і миття автомолцистерни	змиви з автомол-цистерни
Приймання молока	контамінація мікроорганізмами з обладнання для обліку ваги, іншої сировини	дезінфекція і миття молочного обладнання, дотримання санітарних правил	КМАФАнМ колі-титр; <i>L. monocytogenes</i> ; <i>St. aureus</i> ; <i>Salmonella</i> ; <i>Shigella</i>
Резервування сирого молока	контамінація мікроорганізмами з ємності для резервування, молочних комунікацій	роздільне резервування молока 1–2-го та 3–4-го класів за пробою на редуктазу, дезінфекція і миття молочного обладнання	змиви з обладнання

Продовження табл. 6

1	2	3	4
Нормалізація	контамінація мікроорганізмами з сепаратора-нормалізатора, молочних комунікацій, іншої сировини	дотримання режимів роботи обладнання, підтримання його належного технічного стану; дезінфекція і миття	змиви з обладнання
Гомогенізація	контамінація	дезінфекція і миття	змиви

	мікроорга-нізмами з обладнання, молочних комунікацій		з обладнання
Пастеризація	залишкова мікрофлора	диференційовані температурні режими пастеризації для молока 1–2-го та 3–4-го класів за пробою на редуктазу, дезінфекція і миття	КМАФАнМ; колі-титр; кількість терmostійких, споротвірних мікроорганізмів
Накопичення пастеризованого молока	вторинна мікрофлора – контамінація мікроорганізмами з проміжної ємності	дотримання температури зберігання ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$); недопущення багатократного заповнення проміжної ємності без дезінфекції і миття	змиви з обладнання; кількість психротрофних бактерій
Розлив пастеризованого охолодженого молока	контамінація мікроорганізмами з розливного апарату	дезінфекція і миття	змиви з обладнання
Зберігання розлитого запакованого молока	вторинна мікрофлора	дотримання температурних режимів зберігання продукції	КМАФАнМ; колі-титр; <i>S. aureus</i> , патогенна мікрофлора

Впровадження інтегрального бактеріологічного контролю, удосконалення методів мікробіологічного аналізу дасть змогу точніше і об'єктивніше оцінювати гігієнічну якість і стійкість молочних продуктів і виявляти групи мікроорганізмів, що здійснюють на них найбільший вплив. Виявлення мікробіологічних ризиків на різних етапах технологічного циклу виробництва питного молока є важливою складовою процесу впровадження методології НАССР на українських підприємствах молочної галузі і продиктовано необхідністю гарантії безпечності молочної продукції.

ВИСНОВКИ

Теоретично обґрунтовано та експериментально доведено необхідність інтегрального бактеріологічного контролю під час виробництва питного молока. Підходи до управління мікробіологічними ризиками мають розроблятися молокопереробними підприємствами з урахуванням санітарно-гігієнічних умов і технічного оснащення сировинної бази.

1. Довжина транспортних молокопроводів на фермі суттєво впливає на санітарну якість молока. Так, транспортування на відстань 37 м призвело до підвищення бактеріального обсіменіння молока в 2,7 раза, 117 м – у 7 разів порівняно зі свіжовидосеним молоком ($P < 0,001$). Поліпшення якості заготівельного молока можна досягти завдяки використанню доїльних установок з вкороченим молокопроводом і забезпеченню раціональної евакуації молока від місця доїння до місця оброблення і зберігання.

2. Через відсутність належного первинного оброблення і тривалу доставку на молокопереробне підприємство молоко піддається пастеризації в стадії активного розмноження мікрофлори. Його загальне бактеріальне обсіменіння в літньо-осінній період року становило в середньому $3,8 \cdot 10^7$ КУО/см³, кількість молочнокислих бактерій – $1,9 \cdot 10^7$ КУО/см³, протеолітичних – $3,5 \cdot 10^5$ КУО/см³, *Bacillus cereus* – 38,5 КУО/см³, коли-титр – 10^{-4} – 10^{-6} см³, титр ентерококів – 10^{-1} – 10^{-3} см³.

3. Загальне бактеріальне обсіменіння, а також кількість молочнокислих, протеолітичних мікроорганізмів, *Bacillus cereus*, кишкової палички та ентерококів в 1 см³ молока, заготовлюваного сільськогосподарськими підприємствами, в середньому в 1,5 раза менші аналогічних показників молока з особистих підсобних господарств населення.

4. Частота виявлення *L. monocytogenes* у сирому збірному молоці становить 6,4 %, в тому числі 8,1 % для молока з особистих підсобних господарств населення та 2,8 % – із сільськогосподарських підприємств.

5. Температурний режим пастеризації 76 °С з експозицією 15–20 с забезпечує ефективне знищення мікрофлори лише в молоці 1-го та 2-го класів за пробою на редуктазу – залишкової мікрофлори не більше $2,1 \cdot 10^4$ КУО/см³. Для молока 3-го та 4-го класів необхідної ефективності пастеризації може бути досягнуто лише за температури 80–85 °С з експозицією 15–20 с.

6. Залишкова мікрофлора молока, пастеризованого за різних температур (76, 80, 85 °С), становить у середньому 0,3 % від бактеріального обсіменіння сирого молока, складається із термостійких молочнокислих стрептококів та споротвірних бактерій і характеризується високою біохімічною активністю.

7. Серед залишкової споротвірної мікрофлори постійно виявляється *Bacillus cereus*, що є потенційним збудником харчових токсикоінфекцій. Кількість цього мікроорганізму в пастеризованому молоці становить у середньому 32,1 КУО/см³.

8. Стійкість пастеризованого молока під час зберігання залежить від повторного бактеріального обсіменіння, яке становить 84,5 % від загальної кількості бактерій пастеризованого молока, та істотно збільшується, коли проміжні ємності перед розливом заповнюються кілька разів поспіль без миття. Під час кожного повторного заповнення невмитих ємностей молоком загальна кількість бактерій підвищується в ньому в середньому в 2,7 раза, кишкової палички – в 10 разів.

9. За дотримання санітарно-гігієнічних та технологічних режимів, установлених відповідними інструкціями, пастеризоване молоко без суттєвих змін якості може зберігатися у проміжній ємності до розливу не більше 6 год за температури 4–6 °С і після розливу в камері готової продукції за 6–8 °С – впродовж 12 год.

10. Бактеріальне обсіменіння питного молока під час реалізації в торговельних закладах, де не створено належних умов зберігання продукту (4 ± 2 °С), порівнянне з мікробним числом сирого молока і становить мільйони-десятки мільйонів бактерій в см³.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для максимального збереження біологічної та поживної цінності продукту виробництво питного пастеризованого молока доцільно зосередити на великих тваринницьких комплексах.

2. В умовах існуючої системи виробництва питного пастеризованого молока, коли на молокопереробне підприємство більша частина молока-сировини надходить не раніше, ніж на другу добу після його отримання в господарстві, і з високим бактеріальним обсіменінням, необхідно:

– забезпечити на підприємстві роздільне приймання і перероблення молока 1–2-го класів за пробою на редуктазу від молока 3–4-го класів;

– пастеризацію молока 3-го і 4-го класів за пробою на редуктазу проводити за температури не нижче 85°C;

– скоротити до мінімуму рівень повторного бактеріального обсіменіння пастеризованого молока, для чого суворо дотримуватися режимів миття та дезінфекції технологічного обладнання, виключити із технологічного циклу операції багатократного заповнення ємностей без їх санітарного оброблення.

3. З метою підвищення безпечності та якості молока коров'ячого питного запровадити на виробництві інтегральний бактеріологічний контроль як необхідну складову стратегії НАССР згідно з „Методичними рекомендаціями щодо впровадження системи НАССР на молокопереробних підприємствах”, затвердженими науково-методичною радою Держдепартаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України від 18.11.2005 р.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Димань Т.М., Барановський М.М., Ківа М.С., **Мазур Т.Г.**, Загоруй Л.П., Домбровська Ю.О., Букалова Н.В. Харчування людини / Під ред. Т.М. Димань. – Біла Церква, 2005. – 300 с. (здобувачем підготовлено матеріали до окремих підрозділів книги).
2. Методичні рекомендації щодо впровадження системи НАССР на молокопереробних підприємствах / О.М. Якубчак, Т.М. Димань, Л.В. Олійник, **Т.Г. Мазур** – Київ „Біопром”, 2005. – 40 с (здобувачем зроблено підбір наукової літератури з проблеми, переклад літературних джерел іноземних авторів).
3. **Мазур Т.Г.**, Димань Т.М. Екологія сирого молока у господарствах різних форм власності // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Ветеринарні науки. – Видавництво ЛНАУ, 2005.– №50/73. – С.124–128 (здобувач провела дослідження, обробила та проаналізувала результати, написала статтю).
4. **Мазур Т.Г.**, Димань Т.М. Вплив санітарно-гігієнічного стану сирого молока на якісний та кількісний склад залишкової мікрофлори пастеризованого молока / Наук. вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького.–2005.–Т.7.–№4(27).–Ч.1.–С.102–108 (здобувачем проведено дослідження, обробку та аналіз результатів, написання статті).
5. **Мазур Т.**, Димань Т. Виявлення *Listeria monocytogenes* в сирому молоці за допомогою полімеразної ланцюгової реакції // Ветеринарна медицина України. – 2005.–№ 10.–С.34–36 (здобувачем проведено дослідження, обробку та аналіз результатів, написано статтю).
6. **Мазур Т.Г.** Якісний та кількісний склад вторинної мікрофлори пастеризованого молока // Аграрні вісті. – 2005. – №3. – С.16–18.
7. **Мазур Т.**, Очеретяна Л., Димань Т. Екологія сирого молока // Тваринництво України. – 2006. – №4. – С.7–8 (здобувачем проведено дослідження, обробку та аналіз результатів, написано статтю).
8. **Мазур Т.Г.**, Димань Т.М. Видовий склад мікрофлори сирого збірного молока // Мат. VII Міжнарод. наук.-практ. конф. „Наука і освіта – 2004” 10–25.02.2004. – Дніпропетровськ, 2004.–Т.69.–С.10–11.
9. **Мазур Т.Г.**, Очеретяна Л.В., Димань Т.М. Змінення жирової фази молока під час пастеризації // Мат. 70-ї наук. конф. „Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування у XXI столітті” 20–21.04.2004.–Київ: НУХТ, 2004.–Ч.2.–С.23.
10. **Мазур Т.Г.**, Очеретяна Л.В. Екологія сирого молока / Зб. тез VII Міжнарод. наук.-практ. конф. „Екологія. Людина. Суспільство” 13–15.05.2004. – Київ, 2004. – С.40.

11. **Мазур Т.Г.**, Димань Т.М. Критичні точки на шляху отримання екологічно чистого молока // Мат. III Міжнарод. наук.-практ. конф. „Динаміка наукових досліджень 2004” 21–30.06.2004.–Дніпропетровськ, 2004. – Т.33.–С.12–13.

12. **Mazur T.**, Dyman T., Lanin E., Ponedelnikova L. Seasonal changes of microorganism species composition of raw gathering milk / Sb. referatu z Mezin. konf. “Den mleka 2004”. – Praha, Ceske zemedelske university, 2004. – S.69–71.

13. **Mazur T.**, Dyman T. Pasterization influence on milk fat phase / Sb. referatu z Mezin. konf. “Den mleka 2004”.–Praha, Ceske zemedelske university, 2004.–S.67–69.

14. Димань Т.М., **Мазур Т.Г.**, Нагорнюк О.М. Структура харчування студентської молоді / Мат. I Міжнарод. наук.-практ. конф. “Екотрофологія. Сучасні проблеми” (30 травня – 1 червня 2005 р.).– Біла Церква, 2005. – С.153–156.

Мазур Т.Г. Мікробіологічні ризики на шляху отримання питного молока та підходи до їх усунення. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія. – Національний аграрний університет, Київ, 2007.

Теоретично обґрунтовано та експериментально доведено необхідність інтегрального бактеріологічного контролю під час виробництва питного молока.

Досліджено вплив технологічних процесів і режимів первинного оброблення молока на фермі на його бактеріальне обсіменіння. Проведено порівняння санітарно-гігієнічних характеристик молока, що надходить на молокопереробне підприємство із сільськогосподарських підприємств та із особистих підсобних господарств населення. За допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції у заготівельному молоці визначено частоту виявлення *Listeria monocytogenes*.

Досліджено вплив пастеризації на кількісний та якісний склад мікрофлори молока, оцінено ефективність існуючих режимів пастеризації молока залежно від санітарно-гігієнічного стану сировини, пори року та умов виробництва. Для пастеризованого молока виявлено точки повторного бактеріального обсіменіння, вивчено кількісний та якісний склад вторинної мікрофлори.

На основі проведених досліджень запропоновано схему інтегрального бактеріологічного контролю, який має розпочинатися з сировинної зони і виконуватися спеціалістами молокопереробного підприємства.

Ключові слова: молоко, мікробіологічні ризики, загальне бактеріальне обсіменіння, молочнокислі бактерії, протеолітичні бактерії, колі-титр, титр ентерококів, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, полімеразна ланцюгова реакція, НАССР, інтегральний бактеріологічний контроль.

Мазур Т.Г. Микробиологические риски на пути получения питьевого молока и подходы к их устранению. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.06 – гигиена животных и ветеринарная санитария. – Национальный аграрный университет, Киев, 2007.

Теоретически обоснована и экспериментально доказана необходимость интегрального бактериологического контроля при производстве питьевого молока.

Исследовано влияние технологических процессов и режимов первичной обработки молока на его бактериальное обсеменение. Показано, что длина транспортных молокопроводов на ферме существенно влияет на санитарное качество молока. Так, транспортирование молока на расстояние 37 м привело к повышению бактериального обсеменения в 2,7 раза, 117 м – в 7 раз по сравнению со свежавыдоенным молоком ($P < 0,001$).

Сравнение санитарно-гигиенических характеристик молока, которое поступает на молокоперерабатывающее предприятие из хозяйств различных видов собственности, показали, что общее бактериальное обсеменение, а также количество молочнокислых, протеолитических микроорганизмов, *Bacillus cereus*, кишечной палочки и энтерококков в 1 см³ молока, заготавливаемого сельскохозяйственными предприятиями, в среднем в 1,5 раза меньше аналогичных показателей молока из личных подсобных хозяйств населения. Частота выявления *L. monocytogenes* в сыром сборном молоке составила 6,4 %.

Изучено влияние пастеризации на количественный и качественный составы микрофлоры молока, оценена эффективность существующих режимов пастеризации молока в зависимости от санитарно-гигиенического состояния сырья, сезона и условий производства. Температурный режим пастеризации 76°C с экспозицией 15–20 с обеспечивает эффективное уничтожение микрофлоры лишь в молоке 1-го и 2-го классов по пробе на редуктазу – остаточной микрофлоры не больше $2,1 \cdot 10^4$ КОЕ/см³. Для молока 3-го и 4-го классов необходимая эффективность пастеризации может быть достигнута лишь при температуре 80–85°C с экспозицией 15–20 с.

Для пастеризованного молока определены точки повторного бактериального обсеменения, изучен количественный и качественный состав вторичной микрофлоры. Доказано, что бактериальное обсеменение молока при реализации в мелких торговых заведениях, где не созданы надлежащие условия хранения продукта (4 ± 2 °C), сравнимо с микробным числом сырого молока.

На основе проведенных исследований предложена схема интегрального бактериологического контроля, который должен начинаться с сырьевой зоны и осуществляться специалистами молокоперерабатывающего предприятия.

Ключевые слова: молоко, микробиологические риски, общее бактериальное обсеменение, молочнокислые бактерии, протеолитические бактерии, коли-титр, титр энтерококков, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, полимеразная цепная реакция, HACCP, интегральный бактериологический контроль.

Mazur T.G. Microbiological risks on the way of drink milk manufacture and approaches to their elimination. – Manuskript.

Thesis for a scientific degree of candidate of veterinary sciences on speciality 16.00.06 – hygienics of animals and veterinary sanitation. – National Agriculture University, Kyiv, 2007.

The necessity of integral bacteriological control during drink milk manufacture was theoretically substantiated and experimentally proved.

The impact of technological processes and regimes of primary treatment of milk on the bacterial count was investigated. The comparative analysis of sanitary-hygienic characteristics of collected milk from agriculture enterprises and individual farms was made. The frequency of determination of *Listeria monocytogenes* in raw milk was detected by means of polymerase chain reaction.

The influence of heat treatment on quantitative and qualitative content of milk microflora was investigated. The effectiveness of milk pasteurization regimes in dependence of raw milk quality, season and manufacture condition was estimated. The points of the postpasteurization contamination of milk were determined and the quantitative and qualitative content of the postpasteurization microflora was studied.

On the basis of conducted investigation it was proposed the scheme of bacteriological control, which has to be begun from farm and has to be conducted by specialists of dairy plant.

Key words: milk, microbiological risks, bacterial count, milk-acid bacteria, psychrotrophic bacteria, coliforms, enterococcus, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, polymerase chain reaction, HACCP, integral bacteriological control.

Підписано до друку 05.07.2007.

Формат 60 x 90 1/16. Ум. друк. арк. 0,9. Зам.3106. Тираж 100 прим.

Сектор оперативної поліграфії РВІКВ БДАУ.

09117, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1; тел. 3-11-01