

УДК 664.951.5.001.25

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ КАЧЕСТВА СОЛЕННОЙ СЕЛЬДИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОКАЗАТЕЛЯ АКТИВНОСТИ ВОДЫ

И.И. Титов, О.В. Казимирченко

ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
Россия, 236022, г. Калининград, Советский проспект, 1
E-mail: okazimirchenko@gmail.com

В процессе работы проводили органолептическую и микробиологическую оценку качества соленой атлантической сельди, определяли показатели активности воды при хранения в условиях умеренной положительной температуры. Выявлено, что качественный состав микрофлоры сельди составляют бактерии-порчи родов *Acinetobacter* и *Flavobacterium*, численность которых изменялась в зависимости от сроков хранения образцов, наступления органолептической порчи, концентрации соли и температуры культивирования посевов.

сельдь атлантическая, активность воды, микроорганизмы-порчи, санитарно-показательная микрофлора

ВВЕДЕНИЕ

Проблема качества и безопасности рыбных продуктов приобрела особую актуальность в условиях вступления России во всемирную торговую организацию (ВТО)[1].

К одному из главных факторов потери качества и безопасности рыбных продуктов относится микробиологическая опасность. Эффективность мероприятий, направленных на решение этой проблемы, зависит от соблюдения общих санитарно-гигиенических требований, выполнения технологических режимов хранения и переработки рыбного сырья и продукции. Методы микробиологического анализа должны быть нацелены не только на выявление патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, но и на определение микроорганизмов-порчи, активность которых зависит как от характера субстрата, так и от факторов внешней среды.

Цель работы состояла в оценке качественного состава микрофлоры соленой сельди (без использования консервантов и с добавлением консервантов) в процессе хранения в условиях умеренной положительной температуры в зависимости от показателя активности воды.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследований являлась атлантическая сельдь с массовой долей жира 16%. В качестве модельных образцов использовали пробы фарша из сельди, которые закладывались на холодильное хранение при температуре +5 °С. Приготовленный фарш расфасовывали в полиэтиленовые пакетики – по 15-16 шт. на закладку варианта (1 кг фарша).

Качественный состав микрофлоры изучали в сырье и в образцах фарша на момент порчи. Изучение состава микрофлоры также проводили в образцах фарша с различной соленостью – с добавлением 2, 4 и 6 % соли, с добавлением консерванта (10 %-ного раствора бензойнокислого натрия) и без него. В процессе хранения проб фарша определяли активность воды. Момент наступления порчи регистрировали по органолептическим показателям с учетом изменения цвета фарша и появления гнилостного запаха.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли по ГОСТУ [3]. Учет бактерий группы кишечных палочек (БГКП) вели на селективном агаре Эндо согласно ГОСТУ [4]. Бактерии *Staphylococcus aureus* определяли на желточно-солевом агаре [5]. Учет бактерий рода *Salmonella* вели по ГОСТУ [6]. Выявление в образцах галофильных вибрионов *Vibrio parahaemolyticus* проводили по дифференциально-диагностическому агару (ДДА) согласно Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных [7]. Чашки с посевами на рыбо-пептонном агаре инкубировали при температуре 37 °С и при температуре 5 °С. Состав микрофлоры фарша изучали по стандартным микробиологическим методикам [8]. Идентификацию выделенных культур бактерий проводили по определителю бактерий Берджи [9].

Полученные данные по санитарно-микробиологическому исследованию образцов фарша сравнивали с нормативными показателями по СанПин 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Мышечная ткань рыбы содержит от 50 до 93% воды, поэтому рыба является благоприятной средой для роста и развития микроорганизмов, ферментативная активность которых обуславливает её порчу. Наиболее часто в микрофлоре морской рыбы обнаруживаются грамотрицательные бактерии родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, некоторые из них относятся к микроорганизмам-порчи [11]. Изменение микрофлоры рыбы, главным образом за счет развития микроорганизмов-порчи, происходит во время её хранения и в процессе переработки. К одним из основополагающих абиотических факторов, определяющих развитие микробов, относится влажность среды. Однако для микроорганизмов имеет значение не абсолютная величина, а доступность содержащейся в субстрате воды, которую обозначают как «активность воды a_w ». Рост микроорганизмов наблюдается при значениях a_w от 0,998 до 0,65-0,61. Активность воды для скоропортящихся пищевых продуктов, к которым относится рыба-сырец, охлажденная и мороженая рыба, составляет 0,99-0,98 [12].

Результаты исследования исходного фарша без добавления хлористого натрия на наличие санитарно-показательных микроорганизмов показали, что количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в пробе фарша не превышало нормативного значения. Отсутствие санитарно-показательной и патогенной микрофлоры в исследуемом фарше свидетельствует о чистоте эксперимента и отсутствии вторичного загрязнения.

При культивировании посевов при температуре 37 °С в составе микрофлоры фарша доминировали грамотрицательные бактерии рода *Flavobacterium*, численность которых достигала $1,4 \cdot 10^3$ КОЕ/г. В микрофлоре также присутствовали ферментирующие глюкозу бактерии рода *Pseudomonas* ($2,4 \cdot 10^2$ КОЕ/г) и споровые грамположительные бактерии рода *Bacillus* ($6,4 \cdot 10^2$ КОЕ/г). В единичных количествах из микрофлоры фарша выделяли кокковые бактерии рода *Micrococcus* (10 КОЕ/г), которые, вероятно, попали из воздуха при подготовке образца. Доминирующие в микрофлоре фарша флавобактерии (58% штаммов) и псевдомонады (27% штаммов) при хранении охлаждённой рыбной продукции могут определить скорость её гнилостной порчи.

При изучении микробного состава пробы фарша при культивировании посевов на рыбо-пептонном агаре (РПА) без добавления NaCl и с добавлением 2, 4 и 6 % NaCl при температуре 5 °С, характерной для хранения охлаждённой рыбы на стадии её обращения, было выявлено, что основу микробиоценоза образца составляют психрофильные грамотрицательные бактерии рода *Acinetobacter*. Отсутствие ацинетобактеров в микрофлоре фарша при культивировании посевов при температуре 37 °С может быть связано с неблагоприятной температурой развития для этой группы бактерий. Таким образом, при хранении продукции в условиях холодильного хранения бактерии рода *Acinetobacter* могут быть первичным звеном гнилостной порчи.

Количественное изменение бактерий рода *Acinetobacter* на рыбо-пептонном агаре за 7 сут культивирования при температуре 5 °С представлено в табл. 1.

Таблица 1. Рост бактерий рода *Acinetobacter* на рыбо-пептонном агаре за 7 сут культивирования при температуре 5 °С

Table 1. Growth of bacteria of the genus *Acinetobacter* on fish-peptone agar for 7 days of incubation at a temperature of 5 °С

Сутки культивирования	Количество бактерий, КОЕ/г			
	РПА с 0 % NaCl	РПА с 2 % NaCl	РПА с 4 % NaCl	РПА с 6 % NaCl
Третьи	Рост отсутствует			
Пятые	$1,6 \cdot 10^2$	$3,0 \cdot 10^2$	20	-
Седьмые	$5,0 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^2$

Накопление клеток бактерий рода *Acinetobacter* на рыбо-пептонном агаре происходило на седьмые сутки культивирования посевов при их максимальной численности роста на агаре с добавлением 2 и 4% NaCl. Данные концентрации хлористого натрия в среде, возможно, определяют оптимальные условия для развития ацинетобактеров.

Дальнейшие исследования состава микрофлоры фарша без добавления соли вели на третьи и десятые сутки хранения. Отчётливый гнилостный запах появился в исследованном образце на десятые сутки хранения. Сравнительная характеристика микробного состава пробы фарша в различные сутки хранения представлена в табл. 2.

Таблица 2. Состав микрофлоры фарша без добавления соли на третьи и десятые сутки хранения при значении активности воды $a_w = 0,998$

Table 2. Microflora composition of minced meat without adding salt to the freerd and tenth day of storage at the value of water activity $A_w = 0.998$

Сутки хранения	КМАФАнМ, КОЕ/г	Доминирующий микробный фон	
		Рост бактерий при 37 °С	5 °С
Третьи	$4,3 \cdot 10^4$	<i>Flavobacterium</i>	<i>Acinetobacter</i>
Десятые	$1,1 \cdot 10^6$	<i>Flavobacterium</i>	<i>Flavobacterium</i>

Доминирующий микробный фон фарша на третьи сутки хранения составляли грамотрицательные бактерии родов *Flavobacterium* и *Acinetobacter*. Следует отметить, что в составе микрофлоры фарша в зависимости от температуры культивирования посевов были выявлены те же закономерности, что и при исследовании микрофлоры фарша на 0-е сутки хранения. Однако на десятые сутки микробный фон образца фарша составили только бактерии рода *Flavobacterium*. Это может свидетельствовать об особенностях конкурентных взаимоотношений между бактериями двух родов. Показатель a_w образца фарша был оптимален для развития доминирующих групп бактерий-порчи.

Исследование состава микрофлоры проводили для образцов фарша с добавлением 2, 4 и 6% хлористого натрия, одновременно измеряли в образцах активность воды. Сроки наступления порчи образцов фарша с соответствующей концентрацией соли были различными. Патогенную и санитарно-показательную микрофлору во всех образцах на момент органолептической порчи не обнаруживали.

Данные по составу микрофлоры фарша с добавлением 2% NaCl в различные сроки хранения представлены в табл. 3.

Таблица 3. Состав микрофлоры фарша с добавлением 2 % NaCl в различные сроки хранения при активности воды $a_w = 0,988$

Table 3. Microflora composition of minced meat supplemented with 2 % NaCl at different periods of storage at the water activity $A_w = 0,988$

Сутки хранения	КМАФАнМ, КОЕ/г	Доминирующий микробный фон	
		Рост бактерий при 37 °С	5 °С
Третьи	$3,7 \cdot 10^3$	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>
Двенадцатые	$6,8 \cdot 10^4$	<i>Flavobacterium</i>	<i>Flavobacterium</i>
Четырнадцатые	$2,9 \cdot 10^5$	<i>Flavobacterium</i>	<i>Flavobacterium</i>

Увеличение показателей общей бактериальной обсеменённости регистрировали к моменту порчи исследуемых образцов фарша.

Состав микрофлоры фарша с добавлением 2 % NaCl не отличался разнообразием бактериальных форм по сравнению с микрофлорой фарша без добавления хлористого натрия. Доминирующими оставались грамотрицательные бактерии группы *Acinetobacter-Flavobacterium*. На поздних сроках хранения образцов флавобактерии отличались более интенсивным ростом, подавляя развитие ацинетобактеров в субстрате.

При добавлении в образцы фарша 4 % хлористого натрия отмечали уменьшение показателя активности воды a_w до 0,975. При этом состав микрофлоры фарша заметно отличался от микрофлоры без добавления соли и фарша с содержанием 2 % хлористого натрия. Соответственно различным был и срок наступления порчи образца.

Данные по составу микрофлоры фарша с добавлением 4 % NaCl в различные сроки хранения представлены в табл. 4.

Таблица 4. Состав микрофлоры фарша с добавлением 4% NaCl в различные сроки хранения при активности воды $a_w = 0,975$

Table 4. Microflora composition of minced meat with the addition of 4% NaCl at different periods of storage at the water activity $A_w = 0,975$

Сутки хранения	КМАФАнМ, КОЕ/г	Доминирующий микробный фон	
		Рост бактерий при 37 °С	5 °С
Седьмые	$1,0 \cdot 10^6$	<i>Flavobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
Восемнадцатые	$3,3 \cdot 10^3$	<i>Pseudomonas</i> <i>Micrococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>
Сорок девятые	$1,7 \cdot 10^4$	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>

Показатель КМАФАнМ в исследуемом образце фарша наиболее высоким был на седьмые сутки хранения. По мере дальнейшего хранения образцов общая бактериальная обсемененность фарша резко снижалась при минимальном показателе на восемнадцатые и некоторым увеличением на сорок девятые сутки, что может быть связано с наступлением плазмолиза микробных клеток под воздействием хлористого натрия, при котором активность микробной клетки снижена и возможна её гибель.

В составе микрофлоры фарша с содержанием 4 % NaCl вновь присутствовали психрофильные бактерии родов *Acinetobacter* и *Flavobacterium*. К концу органолептической порчи фарша доминировали ацинетобактеры, сохранению которых могли благоприятствовать температура хранения, активность воды образца и концентрация соли. При культивировании посевов фарша в условиях холодильного хранения в микрофлоре были выявлены психрофильные грамотрицательные бактерии рода *Pseudomonas*, которые также относятся к активным микроорганизмам порчи рыбы и рыбной продукции. На восемнадцатые сутки хранения в микрофлоре образца, наряду с псевдомонадами, были выявлены солеустойчивые кокковые бактерии рода *Micrococcus*. Возможно, обсеменение фарша микрококками носило случайный характер, так как эту группу бактерий при дальнейшем исследовании образцов не выявляли. Временное присутствие микрококков в фарше могло определяться попаданием бактерий из воздуха или соли.

Исследование состава образцов фарша с добавлением 6 % NaCl проводили на десятые и двадцать восьмые сутки хранения. Активность воды в образце составляла 0,963. Данные по составу микрофлоры фарша с добавлением 6 % NaCl в различные сроки хранения представлены в табл. 5. Показатели общей бактериальной обсеменённости фарша с добавлением 6 % хлористого натрия

были более низкими по сравнению с другими исследованными образцами. Такую же закономерность выявили и при сравнении значений активности воды в образцах.

Таблица 5. Состав микрофлоры фарша с добавлением 6 % NaCl в различные сроки хранения при активности воды $a_w = 0,963$

Table 5. Microflora composition of minced meat with the addition of 6 % NaCl at different periods of storage at the water activity $A_w = 0,963$

Сутки хранения	КМАФАнМ, КОЕ/г	Доминирующий микробный фон	
		Рост бактерий при 37 °С	Рост бактерий при 5 °С
Десять	$1,7 \cdot 10^2$	<i>Flavobacterium</i>	<i>Acinetobacter</i>
Двадцать восемь	$1,2 \cdot 10^3$	<i>Pseudomonas</i>	<i>Acinetobacter</i>

Одним из определяющих факторов снижения вышеуказанных показателей и развития микрофлоры является концентрация хлористого натрия. Снижение активности воды существенно не повлияло на формирование доминирующего микробного фона фарша. В изученных образцах преобладали грамотрицательные бактерии-порчи группы *Acinetobacter-Flavobacterium-Pseudomonas*.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в пробе фарша не превышало нормативного значения. Санитарно-показательные группы микроорганизмов обнаружены не были.

Микробный фон образца фарша был представлен грамположительными споровыми бактериями рода *Bacillus*. Известно, что бактерии рода *Bacillus* также относятся к микроорганизмам-порчи, но, главным образом, слабокислых пищевых продуктов, подвергаемых низкотемпературной пастеризации и затем охлаждаемых. Для охлажденных пищевых продуктов спорообразующие бациллы менее важны, чем психрофильные бактерии-порчи, так как при низких температурах размножение бактерии замедленно. Обсеменение фарша споровыми бациллами, возможно, могло произойти из воздуха или оборудования во время приготовления навески фарша. Не исключено прижизненное обсеменение рыбы бактериями данного рода, так как бациллы обычно входят в состав естественного микробиоценоза многих видов рыб.

Исследования проводили для образцов фарша с добавлением 3 и 4 % хлористого натрия. При этом активность воды исследуемых образцов составила соответственно 0,970 и 0,954. По результатам органолептической оценки срок наступления порчи образца фарша с добавлением 3 % соли был определен на тридцать шестые сутки хранения, с добавлением 4 % соли – на сорок пятые сутки в условиях холодильного хранения.

Патогенную и санитарно-показательную микрофлору во всех образцах фарша на момент органолептической порчи не обнаруживали.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в пробе фарша с добавлением 2 % хлористого натрия составило $8,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г, а с добавлением 4 % соли – $1,1 \cdot 10^3$ КОЕ/г, что не превышало нормативного значения по СанПин. Однако показатели

КМАФАНМ были выше аналогичного показателя для свежеприготовленного фарша, что объясняется наличием гнилостных процессов в данных пробах фарша независимо от сдерживающего воздействия добавленных консервантов на развитие микробов-порчи.

Состав микрофлоры фарша с добавлением 2 и 4 % соли не отличался разнообразием микробных форм. Отмечено доминирование только грамотрицательных бактерий рода *Acinetobacter*, которые, как и в предыдущих исследованиях, были первичной группой, определяющих порчу. Активность воды образцов фарша была в пределах оптимальных значений для развития ацинетобактеров.

В незначительных количествах в исследованных образцах регистрировали споровые бактерии рода *Bacillus*, которые формировали микробный фон свежеприготовленного фарша без добавления консервантов. Сохранению бацилл в фарше способствовала способность бактерий переходить в стадию спорообразования.

Таким образом, полученные нами данные пока не позволяют выявить определенную группу бактерий, которая стала бы критерием, определяющим гнилостную порчу рыбы. При поиске индикаторной группы микробов-порчи, возможно, следует учитывать воздействие нескольких факторов среды.

Исследования по выявлению показательных групп бактерий, позволяющих судить о степени доброкачественности соленой рыбы в процессе хранения в условиях положительных температур и под воздействием некоторых внешних и внутренних параметров, будут продолжены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В составе микрофлоры фарша, приготовленного из атлантической сельди, были выявлены группы бактерий, которые определяют микробиологическую порчу. Основу микробиоценоза образцов фарша как без добавления хлористого натрия, так и с добавлением различных концентраций соли составляли грамотрицательные аэробные бактерии родов *Acinetobacter* и *Flavobacterium*, численность которых изменялась в зависимости от сроков хранения образцов, наступления органолептической порчи, концентрации соли и температуры культивирования посевов. В образцах фарша с 4 и 6% хлористого натрия в микрофлоре обнаруживали бактерии рода *Pseudomonas*, которые также относятся к бактериям-порчи рыбы благодаря наличию активных протеолитических и липолитических ферментов.

Основной микробный фон фарша с добавлением соли и бензойнокислого натрия составили бактерии рода *Acinetobacter*, которые и определили микробную порчу образцов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Маслова, Г.В. Качество и безопасность рыбной продукции – понятия неотделимые друг от друга / Г.В. Маслова // Рыбпром. – 2007. – № 4. – С. 13 –14.
2. ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. –

Минск: Межгосударственный Совет по стандартизации, метрологии и сертификации. – 8 с.

3. ГОСТ Р 52816-2007 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – М.: Стандартинформ, 2008. – 20 с.

4. ГОСТ Р 52818-2007 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. – М.: Стандартинформ, 2009. – 29 с.

5. ГОСТ Р 52814-2007 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий рода *Salmonella*. – М.: Стандартинформ, 2008. – 23 с.

6. Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных. – Л.: Гипрорыбфлот, 1991. – 94 с.

7. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / под ред. А.С. Лабинской. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.

8. Определитель бактерий Берджи / под ред. Д. Хоулта. – М.: Мир, 1997. – Т.1. – 432 с.

9. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПин 2.3.2.1078-01. – М.: ФГУП ИнтерСЭН, 2002. – 168 с.

10. Мудрецова-Висс, К.А. Микробиология рыбы, рыбопродуктов и промысловых беспозвоночных / К.А. Мудрецова-Висс, В.П. Дедюхина // Микробиология, санитария и гигиена. – М.: ИНФРА-М, 2008. – С. 268 – 287.

11. Джей, Д.М. Порча рыбы и моллюсков / Д.М. Джей, М. Дж. Лёсснер, Д.А. Гольден // Современная пищевая микробиология. – М.: БИНОМ (лаборатория знаний), 2011. – С. 137 – 141.

12. Блэкберн, К. де В. Прочие бактерии, вызывающие порчу пищевых продуктов / К. де В. Блэкберн // Микробиологическая порча пищевых продуктов. – СПб.: Профессия, 2011. – С. 741–764.

EVALUATION OF QUALITY STABILITY OF SALTED HERRING DEPENDING ON A WATER ACTIVITY

I.I. Titov, O.V. Kazimirchenko

In operation conducted organoleptic and microbiological quality assessment of salted herring was determined, a water activity during storage in a moderate positive temperature was determined. Revealed that the qualitative composition of microflora of herring are spoilage bacteria genera *Acinetobacter* and *Flavobacterium*, whose number varied depending on the time of storage of samples obtained, time of organoleptic spoilage, salt concentration and temperature of cultivation of crops.

atlantic herring, water activity, spoilage microorganisms, sanitary-indicative microflora