

УДК 663.12
МРНТИ 34.27.29

DOI: <https://doi.org/10.37788/2021-2/97-102>

А.А. Сапарбекова^{1*}, А.С. Латиф¹, А.Б. Алтекей¹

¹ Южно-Казахстанский университет им.М. Ауэзова, Республика Казахстан

*(e-mail: saparbekova-almira@mail.ru)

Риски микробиологического заражения фруктов и овощей, употребляемых в пищу

Аннотация

Основная проблема: Фрукты и овощи чаще всего потребляются без тщательной обработки. Некоторые продукты растительного происхождения помещаются в вакуумные упаковки для обеспечения его длительного хранения и безопасности. Фрукты и овощи содержат на своей поверхности природную непатогенную эпифитную микрофлору. Во время роста, сбора, транспортировки они могут неоднократно загрязняться патогенами человеческих или животных источников. Свежие плодово-ягодные культуры были причастны к ряду документально подтвержденных вспышек пищевых заболеваний. Вспышки заболеваний, вызванные бактериями, вирусами и паразитами, были эпидемиологически связаны с потреблением широкого спектра овощей и фруктов.

Цель: Целью нашего исследования является оценка опасности загрязненности плодово-ягодных культур и определение путей решения проблемы заражения плодов овощей и фруктов неестественной патогенной микрофлорой.

Методы: Для постановки эксперимента нами были выбраны распространенные на территории Туркестанской области плодово-ягодные культуры: яблоки сорта Суйслепское (столовка), персик сорта Нектарин и виноград сорта Кишмиш. Бактериологический посев проводился путем мембранной фильтрации используемой стерильной воды для получения смывов с поверхности плодово-ягодных культур. Все работы проводились в условиях полной асептики. Используемые в работе посуда, вода и иные приспособления были заранее стерилизованы.

Результаты и их значимость: Полученные данные в ходе эксперимента показывают, что есть потенциал для широкого заражения нехарактерной микрофлорой продуктов растительного происхождения. На основании полученных результатов можно сделать заключение о том, что на поверхности всех трех образцов плодово-ягодных культур имеются дрожжи и уксуснокислые бактерии, которыми продукты питания могут быть повсеместно заражены, они не являются естественной микрофлорой для выше указанных культур. Фрукты и овощи могут быть заражены различными бактериальными патогенами, в том числе *Salmonella*, *Shigella*, *E. Coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes* и *Campylobacter*.

Ключевые слова: плесень, дрожжи, общее микробиологическое число, система менеджмента, естественная микрофлора, патогенные микроорганизмы, НАССР.

Введение

Потребление свежих фруктов и овощей во всем мире растет по мере того, как люди стремятся питаться здоровой натуральной пищей, чтобы укреплять иммунную систему, а также извлекают выгоду из круглогодичной доступности этих продуктов, которые до недавнего времени считались сезонными. Глобальная торговля фруктами и овощами, изменение практики ведения садоводства и выращивания фруктов и овощей сделали возможным круглогодичное изобилие, а также появление на рынке новых сортов свежих продуктов растительного происхождения.

Научная практика доказывает наибольшую пользу от употребления фруктов и овощей в свежем виде, не подвергая их термической обработке. Однако не стоит забывать, что фрукты и овощи несут естественную непатогенную эпифитную микрофлору, которая образуется на поверхности во время созревания плодов, однако сбор, транспортировка являются причиной образования неестественной микрофлоры на поверхности фруктов и овощей [1, 2].

В данной статье мы решили описать методику и результаты работы, проведенной с целью определения микрофлоры поверхностей общедоступных фруктов, продаваемых на рынках нашего города. Триггером для проведения данной работы стал возвышенный запрос на свежие продукты растительного происхождения на фоне пандемии CoVid-19.

Фрукты и овощи за период сбора и транспортировки заражаются микроорганизмами, в том числе патогенами человека, которые вызывают вспышки желудочно-кишечных заболеваний. Тем не менее, доля зарегистрированных вспышек пищевые отравления, приписываемые фруктам и овощам, являются низкими [3].

Спектр микроорганизмов, вызывающих вспышки заболеваний, связанных с употреблением свежих продуктов, охватывает бактерии, вирусы и паразиты [4]. Большинство зарегистрированных вспышек были связаны с бактериальным заражением, в частности, род *Enterobacteriaceae* – *Salmonella* и

Escherichia coli O157 на поверхности фруктов и овощей. Вирусы, вызывающие вспышки, попадают на продукты непосредственно от самих людей, при прикосновении (Norwalk-like и Hepatitis A). Вспышки, связанные с простейшими (*Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Giardia*), больше ассоциируются с фруктами, чем с овощами [5].

Материалы и методы

Для постановки эксперимента нами были выбраны распространенные на территории Туркестанской области плодово-ягодные культуры: яблоки сорта Суйслепское (столовка), персик сорта Нектарин и виноград сорта Кишмиш. В ходе работы были использованы:

- вода стерильная;
- питательная среда Сабуро для выведения плесени и дрожжей;
- питательный Агар;
- питательная среда Эндо;
- стерильные пакеты на 450 мл;
- установка для микробиологической фильтрации;
- мембранные фильтра 0,45 μ ;
- ламинарный шкаф;
- термостаты суховоздушные на 25° С, 30° С, 37° С;
- спиртовки по ГОСТ 25336;
- стаканы лабораторные по ГОСТ 25336;
- стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672;
- стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284;
- чашки бактериологические (Петри);
- насос водоструйный стеклянный лабораторный по ГОСТ 25336;
- автоклав электрический по ТУ 27-31-2939;
- аппараты фильтровальные с диаметром фильтрующей поверхности 32 мм;
- микроскоп биологический по нормативно-техническому документу;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962*;

Вся бактериологическая посуда была тщательно вымыта и высушена перед стерилизацией. Чашки Петри укладывались в металлические пеналы или заворачивались в бумагу. В конец пипетки вкладывался кусочек ваты. Пипетки помещались в металлические пеналы не более 6-10 шт. в каждый. Пеналы заворачивались в бумагу.

Подготовленную посуду стерилизовали сухим жаром в сушильном шкафу при (180 ± 5) °С в течение часа с момента достижения этой температуры.

Дистиллированную воду разлили в герметично закупориваемый бутыль объемом в один литр и стерилизовали в автоклаве 30 минут при (120 ± 2) °С ($1,078 \times 10^5$ Па).

Среду Эндо и питательный агар и Сабуро готовили из сухого препарата по прописи на этикетке. Необходимое количество сухой питательной среды всыпали в заранее отмеренный объем дистиллированной воды, доводили до кипения и кипятили на протяжении 2 минут. Фильтровали 15 минут через ватно-марлевый тампон и стерилизовали при (120 ± 2) °С ($1,078 \times 10^5$ Па).

В ходе работы были проведены следующие действия:

1) Определено количество бактерий, способных расти на питательном агаре данного состава при температуре $(30 \pm 0,5)$ °С в течение (72 ± 2) ч и образовывать колонии, видимые при увеличении в 2-5 раз.

2) Определено количество плесени и дрожжей, способных расти на питательной среде Сабуро данного состава при температуре $(25 \pm 0,5)$ °С в течение (120 ± 2) ч и образовывать колонии, видимые при увеличении в 2-5 раз.

3) Определено количество бактерий группы кишечных палочек с поверхности плодово-ягодных культур в 100 мл смыва, способных расти на питательной среде Эндо данного состава при температуре $(37 \pm 0,5)$ °С в течение (24 ± 2) ч и образовывать колонии, видимые при увеличении в 2-5 раз [6; 255].

4) Питательный агар Сабуро расплавили в водяной бане и охладили до температуры (45 ± 5) °С, затем разлили в стерильные чашки в ламинарном шкафу и инкубируют в термостатах до 72 ч., по истечению времени инкубации проверили на наличие роста микроорганизмов. В случае роста микроорганизмов, питательные среды в дальнейшем не используют.

5) Среду Эндо заранее разлили в чашки Петри и дали застыть при н.у.

6) Отобранные для эксперимента фрукты расклали в отдельные стерильные пакетики с металлическими зажимами, приблизительно 200 гр, и залили стерильной водой в объеме 400 мл в ламинарном шкафу.

7) Стерильные чашки Петри с застывшими средами расложили в ламинарном шкафу и подписали на крышках номер пробы, дату посева.

8) Обработав фильтрационную установку фламбированием, установили на фильтрационную поверхность мембранные фильтры и закрепили воронками.

9) В стерильные воронки налили по 100 мл пробы, на каждый анализ.

10) После фильтрации мембранные фильтры перенесли обработанным пинцетом в чашки Петри с соответствующей средой.

11) Готовые образцы поместили в термостаты для инкубирования.

12) Колонии, выросшие на поверхности мембранных фильтров, подсчитали с помощью лупы с увеличением в 2-5 раз или прибора для счета колоний.

Чашки с выполненным микробиологическим посевом представлены на рисунке 1.

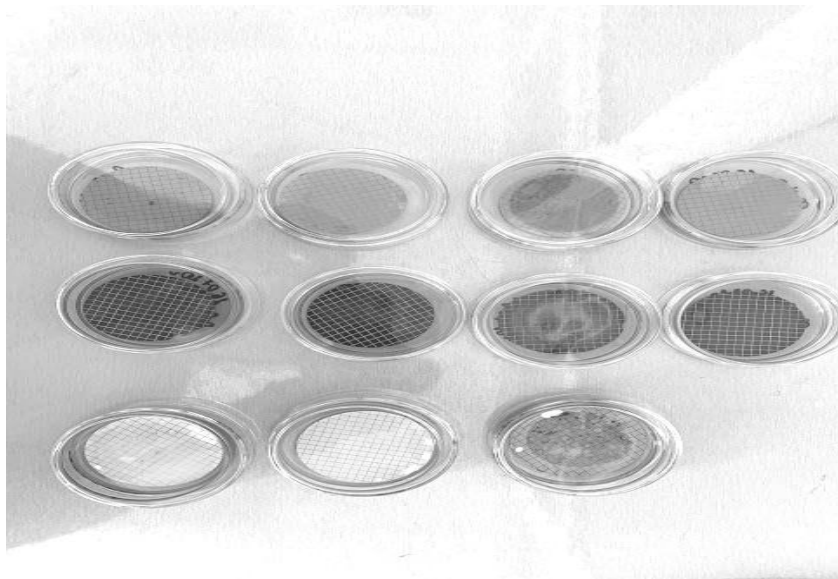


Рисунок 1 – Микробиологический посев методом мембранной фильтрации

Результаты

По истечении времени культивирования были сняты результаты и подсчитаны колонии. Результаты приведены в таблице 1. Иллюстрация представлена на рисунке 2.

Таблица 1 – Результаты микробиологического посева

Образцы	ОМЧ 72 ч. при 30 °С	Плесень и дрожжи 120 ч. при 25 °С	Бактерии группы кишечной палочки 24 ч. при 37 °С
Персик Нектарин	Сплошной рост, явные колонии желтого цвета/100мл	Белая плесень + вязкие колонии желтоватого оттенка/100мл	66 КОЕ/100мл
Яблоко Суйслепское	Сплошной рост, явные колонии желтоватого оттенка/100мл	Сплошной рост + вязкие колонии желтоватого оттенка/100мл	Отсутствие
Виноград Кишмиш	Белая плесень + колонии белого цвета/100мл	Сплошной рост колонии белого цвета/100мл	Отсутствие
Контроль	0 КОЕ/100мл	0 КОЕ/100мл	Отсутствие

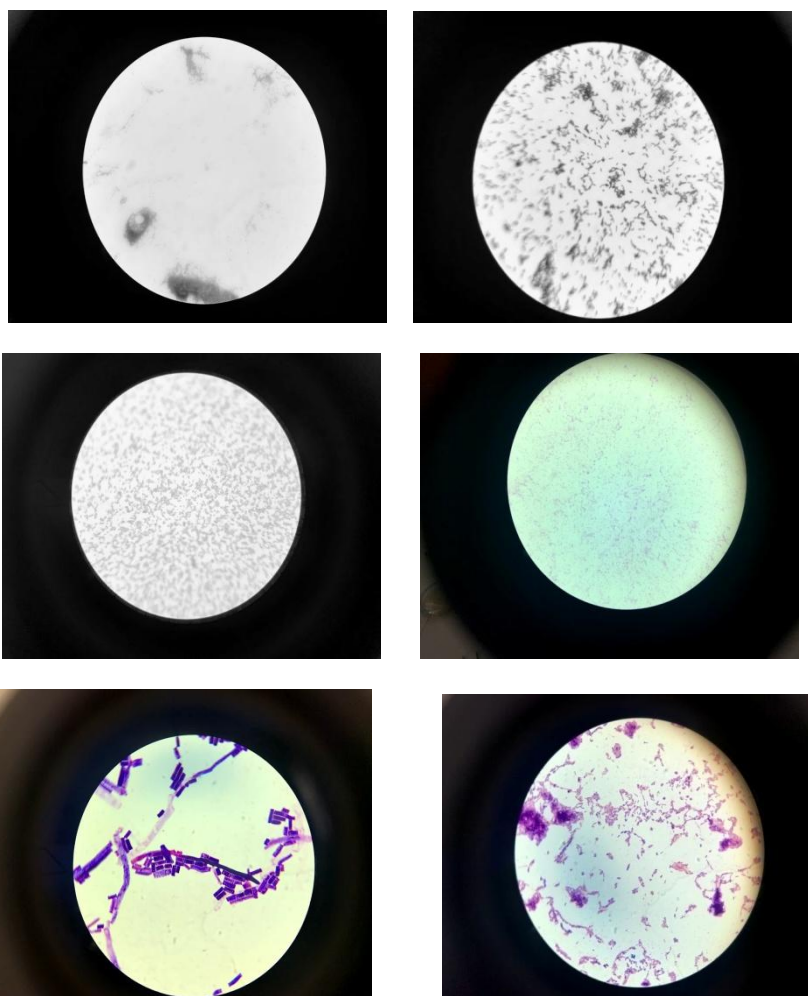


Рисунок 2 – Колонии на мембранных фильтрах

Выросшие колонии были пересеяны с помощью микробиологической петли методом «зиг-заг» на соответствующие агаризованные питательные среды и инкубированы в течение 48 ч при 30° С и 25° С соответственно. Из полученных образцов были приготовлены препараты для микроскопирования по методу «Окрашивание по Граму». В таблице 2 и на рисунках 3-8 приведены результаты микроскопирования.

Таблица 2 – Результаты микроскопирования

Образцы	ОМЧ	Плесень и дрожжи
Персик Нектарин	Клетки круглой формы/граммотрицательные	Мелкие палочкообразные клетки / граммположительные
Яблоко Суйслепское	Мелкие клетки овальной формы/ граммположительные	Клетки овальной формы/ граммположительные
Виноград Кишмиш	Спорообразующие палочкообразные клетки / граммположительные	Плесень



Рисунки 3-8 – Микроскопирование. Последовательность сохранена как в таблице 2

Обсуждение

Согласно морфологии микроорганизмов дрожжи, молочнокислые бактерии красятся по Граму (т.е. граммположительны), имеют сине-фиолетовый цвет, а уксуснокислые бактерии не красятся по Граму и имеют красный цвет. Из этого следует, что на поверхности всех трех образцов плодово-ягодных культур имеются дрожжи и уксуснокислые бактерии, которыми продукты питания могут быть повсеместно заражены и не являются естественной микрофлорой для выше указанных культур.

Из полученных данных следует сделать вывод, что после созревания плоды овощей и фруктов подвергаются повсеместному контакту как при сборе, так и при транспортировке и при сбыта на рынки и продовольственные точки.

Заключение.

Полученные данные в ходе эксперимента показывают, что есть потенциал для широкого заражения нехарактерной микрофлорой продуктов растительного происхождения. Почти все готовые к употреблению фрукты или овощи загрязнены патогенными микроорганизмами либо из окружающей среды, из фекалий человека или животных, либо из мест хранения. Частота вспышек желудочно-кишечных заболеваний, связанных с фруктами и овощами, по-видимому, является низкой по сравнению с продуктами животного происхождения.

Фрукты и овощи могут быть загрязнены патогенами из водоемов животных и человека, окружающей среды в результате производственной практики. Основным источником загрязнения кишечными палочками, как показывает практика, является использование органических удобрений (например, навоз, муниципальный шлам) и вода, загрязненная фекалиями. В связи с этим следует признать наличие риска, связанного с применением навоза и осадками сточных вод для органического производства.

Использование дополнительных послеуборочных процедур может снизить уровень загрязнения продуктов и использование химических обеззараживающих веществ, которые широко не используются, за исключением хлора. Его негативное влияние на микробную безопасность пищевых продуктов общеизвестно.

Фрукты и овощи могут быть заражены патогенами во время сбора урожая и процессе торговли, так как присутствует прямой контакт продавца и потребителя.

Применение системы менеджмента качества HACCP как неотъемлемой части данной практики должно быть оценено на должном уровне и взято во внимание для безопасности и качества потребляемых продуктов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 MacLean R.C, Gudelj I. Resource competition and social conflict in experimental populations of yeast. Nature. - 2006. DOI:10.1038/nature04624
- 2 Izgu F., Altinbay D., Sertkaya A. Bioscience. Biotechnology. Biochemistry. [kindle version] – 2005. DOI:10.1271/bbb.69.2200
- 3 Slavikova E., Vadkertiova R., Vranova D. J. Basic Microbiology. – 2007. – Vol. 47, 1 pp. 344–350 .
- 4 Егорова Т. А. Основы биотехнологии: учеб.пос. / Т.А. Егорова. – М.: Академия, 2003. – 208 с.
- 5 Вербина Н.М. Микробиология пищевых производств: учеб.пос. / Н.М. Вербина, Ю.В. Каптерева. – М.: Агропромиздат, 2008. – 255 с.
- 6 Зюзина О.В. Теоретические основы пищевой биотехнологии : лабораторные работы: мет.пос. / О.В. Зюзина, О.Б. Шуняева, Е.И. Муратова, О.О. Иванов. – Тамбов: Тамбовский гос. тех. ун., 2006.- 48 с.

REFERENCES

- 1 MacLean, R.C., & Gudelj, I. (2006). Konkurenciya za resursy` i social`ny`j konflikt v e`ksperimental`ny`x populyaciyax drozhzhez [Resource competition and social conflict in experimental populations of yeast]. Nature DOI:10.1038. [in English].
- 2 Izgu, F., Altinbay, D., & Sertkaya A. (2005). Biologiya. Biotexnologiya. Bioximiya. [Bioscience. Biotechnology. Biochemistry] DOI:10.1271 [in English].
- 3 Slavikova ,E., Vadkertiova, R., & Vranova, D. J. (2007). Osnovy` mikrobiologii [Basic Microbiology], 47, 344–350 [in English]
- 4.Egorova, T.A. (2003). Osnovy biotekhnologii [Fundamentals of biotechnology]. Moskva: Academia [in Russian].
- 5 Verbina, N.M., & Kapтерева, Y.V. (2008). Mikrobiologiya pishevykh proizvodstv [Microbiology of food production]. Moskva: Agropromizdat [in Russian].
- 6 Zyuzina, O.V., Shunyaeva, O.B., & Muratova, E.I., Ivanov, O.O. (2006). Teoriticheskie osnovy biotekhnologii laboratornye raboty [Theoretical foundations of food biotechnology: laboratory work]. Tambov: Tambovskii gosudarstvennyi tekhnicheskii universitet [in Russian].

А.А. Сапарбекова¹, А.С. Латиф¹, А.Б. Алтекей¹

¹ М.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, Шымкент, Қазақстан Республикасы

Тамақтануда пайдаланылатын жемістер мен көкөністердің микробиологиялық ластатқыштарды жұқтыру қаупі

Жемістер мен көкөністер көбінесе тамақтанар алдында мұқият өңдеусіз тұтынылады. Кейбір өсімдік өнімдері ұзақ сақтау мерзімін қамтамасыз ету үшін вакуумдық пакеттерге салынған, сонымен қатар өнімнің сапасы мен қауіпсіздігін сақтайды.

Жемістер мен көкөністерде табиғи патогенді емес эпифитті микрофлора бар. Өсіру, жинау, тасымалдау және одан әрі әрекет ету кезінде оларды адам немесе жануарлардың патогендерімен бірнеше рет ластануы мүмкін. Жаңа піскен жеміс-жидек дақылдары бірқатар құжатталған тамақ ауруларының өршуіне қатысты болды. Бактериялар, вирустар және паразиттер тудыратын аурулардың өршуі эпидемиологиялық тұрғыдан көкөністер мен жемістердің кең спектрін тұтынумен байланысты болды.

Біздің зерттеуіміздің мақсаты жеміс-жидек дақылдарының ластану қаупін және осы пісіп-жетілген мәселені шешу жолдарын, атап айтқанда көкөністер мен жемістердің табиғи емес патогендік микрофлорамен ластануын бағалау болып табылады.

Түйін сөздер: зең, ашытқы, жалпы микробиологиялық саң, менеджмент жүйесі, табиғи микрофлора, патогенді микроорганизмдер, НАССР.

A.A. Saparbekova¹, A.S. Latif¹, A.B. Altekey¹

¹ M.Auezov South-Kazakhstan University, Shymkent, Republic of Kazakhstan

Risks of microbiological contamination of fruits and vegetables used for food

Fruits and vegetables are most often consumed without being thoroughly processed before consumption. Some plant foods are vacuum-packed to ensure long shelf life as well as preserving the quality and safety of the product.

Fruits and vegetables carry naturally occurring non-pathogenic epiphytic microflora on their surfaces. During growth, harvesting, transport and further handling they can be repeatedly contaminated by pathogens from human or animal sources. Fresh fruit crops have been implicated in a number of documented foodborne disease outbreaks. Outbreaks of diseases caused by bacteria, viruses and parasites have been epidemiologically linked to the consumption of a wide range of fruits and vegetables.

The aim of our study is to assess the risk of contamination in fruit and berry crops and how to address this long-standing problem, namely, contamination of fruit and vegetables with unnatural pathogenic microflora.

The following fruit and berry crops common in Turkestan region were chosen for the experiment: Apple variety Suislepskoe (stolovka) , peach variety Nectarine and grape variety Kishmish. Bacteriological inoculation was carried out by membrane filtration of used sterile water to obtain flushes from the surface of fruit crops. All work was carried out under full aseptic conditions. The utensils, water and other equipment used in the work were sterilised in advance.

The data obtained during the experiment shows that there is a potential for widespread contamination of uncharacteristic microflora of plant products. Based on the results of the study it can be concluded that there are yeasts and acetic acid bacteria on the surface of all three samples of fruit and berry crops, which can be universally contaminated food and are not the natural microflora for the above mentioned crops. Specifically, fruits and vegetables can be contaminated with various bacterial pathogens, including Salmonella, Shigella, E. Coli O157:H7, Listeria monocytogenes and Campylobacter.

Keywords: mold, yeast, total microbiological number, management system, natural microflora, pathogenic microorganisms, НАССР.

Дата поступления рукописи в редакцию: 12.05.2021 г.