

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Кафедра «ВСЭ и фармакологии»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б2.В.ДВ.4.2 Экологическая безопасность сырья и продуктов животноводства

Направление подготовки 111900.62 «Ветеринарно-санитарная экспертиза»

Профиль образовательной программы «Ветеринарно-санитарная экспертиза»

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	3
1.1 Лекция № 1 Понятие о биологической чрезвычайной ситуации.....	3
1.2 Лекция № 2 Эпидемия.....	4
1.3 Лекция № 3 Эпизоотия	5
1.4 Лекция № 4 Эпифитотия.....	6
1.5 Лекция № 5 Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса и других продуктов убоя животных при поражении радиоактивными веществами.....	8
1.6 Лекция № 6 Микробиологическое исследование мяса и мясопродуктов.....	16
1.7 Лекция № 7 Урбанизация и ее экологические факторы, снижающие качество продуктов.....	19
1.8 Лекция № 8 Биологическое заражение.....	23
1.9 Лекция № 9 Лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению.....	25
1.10 Лекция № 10 Химико-токсикологические исследования мяса, мясопродуктов, молока и меда.....	28
1.11 Лекция № 11 Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.....	35
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ	45
2.1 Лабораторная работа № ЛР-1 Понятие о биологической чрезвычайной ситуации.....	45
2.2 Лабораторная работа № ЛР-2 Эпидемия.....	46
2.3 Лабораторная работа № ЛР-3 Эпизоотия.....	47
2.4 Лабораторная работа № ЛР-4 Эпифитотия.....	48
2.5 Лабораторная работа № ЛР-5 Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса и других продуктов убоя животных при поражении радиоактивными веществами.....	51
2.6 Лабораторная работа № ЛР-6 Микробиологическое исследование мяса и мясопродуктов.....	58
2.7 Лабораторная работа № ЛР-7 Урбанизация и ее экологические факторы, снижающие качество продуктов.....	61
2.8 Лабораторная работа № ЛР-8 Биологическое заражение.....	65
2.9 Лабораторная работа № ЛР-9 Лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению.....	67
2.10 Лабораторная работа № ЛР-10 Химико-токсикологические исследования мяса, мясопродуктов, молока и меда.....	70
2.11 Лабораторная работа № ЛР-11 Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.....	77

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1. 1 Лекция № 1 (2 часа)

Тема: «Понятие о биологической чрезвычайной ситуации»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. Биологическая чрезвычайная ситуация
2. Источники биологической чрезвычайной ситуации

1.1.2 Краткое содержание вопросов:

1. Биологическая чрезвычайная ситуация

Биологическая ЧС – это ситуация, при которой в результате источника на определенной территории нарушаются нормальные условия жизнедеятельности людей, существования сельскохозяйственных животных и произрастание растений, возникает угроза жизни и здоровью людей, опасность широкого распространения инфекционных болезней, потерь сельскохозяйственных животных и растений.

Источником биологической ЧС может служить опасная или широко распространенная инфекционная болезнь людей (эпидемия, пандемия) животных (эпизоотия, панзоотия): инфекционная болезнь растений (эпифитотия, панфитотия) или их вредитель.

Биологические чрезвычайные ситуации могут быть вызваны:

- развитием микроорганизмов - прямыми последствиями их деятельности являются болезни людей, животных и растений;
- резким увеличением численности макроорганизмов, преимущественно насекомых - может привести к нарушению биологического равновесия в биоценозах, уничтожению значительных площадей сельскохозяйственных культур.

Насекомые и грызуны нередко являются переносчиками инфекционных заболеваний. В прошлом крупные хищники серьезно угрожали людям и составляли одну из самых серьезных опасностей.

Микроорганизмы - общее название бактерий, актиномицетов и др., за исключением микроскопических водорослей и простейших

Чрезвычайные ситуации, вызванные микроорганизмами, наступают при резком увеличении заболеваемости людей (*эпидемии*) в определенном регионе, что значительно превышает обычный уровень заболеваемости, который регистрируется на этой территории. Эпидемии сопровождают практически все чрезвычайные ситуации, в результате серьезного нарушения жизнедеятельности людей и соответствующего ухудшения санитарного состояния проживания.

2. Источники биологической чрезвычайной ситуации

Источником биологической чрезвычайной ситуации является опасная или широко распространенная инфекционная болезнь людей (эпидемия, пандемия), животных (эпизоотия, анзоотия), растений (эпифитотия, панфитотия) или их вредитель.

Одной из самой опасной и губительной для человека формой проявления биологических природных явлений является эпидемия.

Статистика свидетельствует о том, что инфекционные заболевания в общей сложности унесли больше человеческих жизней, чем все войны. Исторические хроники и летописи донесли до наших времен описания чудовищных пандемий, опустошивших огромные территории и уничтоживших миллионы людей. Число инфекционных заболеваний растет из года в год, появляются все новые, ранее не известные возбудители, источники болезней. Если одни возбудители инфекций стали относительной редкостью в современном мире (оспа, полиомиелит, корь, чума), то другие все больше и больше проявляют себя. Среди последних такие страшные заболевания, как СПИД, боррелиоз (болезнь Лайма), легионеллез и др.

Актуальность изучения массовых заболеваний заключается и в том, что в последние годы непрерывно расширяются экономические, культурные и другие межгосударственные связи. Основными причинами быстрого распространения массовых заболеваний являются: мировая торговля и туристические поездки; высокая урбанизация населения; рост численности населения и активные миграционные движения.

В связи с этим, очень важно знать генезис наиболее распространенных инфекционных заболеваний, соблюдать меры профилактики и выполнять способы противодействия им. Население должно быть в достаточной степени подготовлено к действиям в соответствующей обстановке, знать способы и средства, которые обеспечили бы предупреждение и ликвидацию массовых заболеваний людей, животных и растений.

1. 2 Лекция № 2 (2 часа)

Тема: «Эпидемия»

1.2.1 Вопросы лекции:

1. Понятие о эпидемии
2. Виды эпидемии

1.2.2 Краткое содержание вопросов:

1. Понятие о эпидемии

Эпидемия - массовое, прогрессирующее во времени и пространстве в пределах определенного региона распространение инфекционной болезни людей, значительно превышающее обычно регистрируемый на этой территории уровень заболеваемости.

Эпидемия (греч. *epidemia*, от *epi* -- на, среди и *demos* -- народ), распространение какой-либо инфекционной болезни человека, значительно превышающее уровень обычной (спорадической) заболеваемости на данной территории. Обусловлена социальными и биологическими факторами. В основе эпидемии лежит *эпидемический процесс*, т. е. непрерывный процесс передачи возбудителя инфекции и непрерывная цепь последовательно развивающихся и взаимосвязанных инфекционных состояний (заболевание, бактерионосительство) в коллективе. Иногда распространение заболевания имеет характер пандемии; при определенных природных или социально-гигиенических условиях сравнительно высокий уровень заболеваемости может регистрироваться в данной местности длительный период.

На возникновение и течение эпизоотии влияют как процессы, протекающие в природных условиях (природная очаговость, эпизоотии и т. п.), так и главным образом социальные факторы (коммунальное благоустройство, бытовые условия, состояние здравоохранения и др.).

В зависимости от характера заболевания основными путями распространения инфекции во время эпизоотии могут быть:

- водный и пищевой, например при дизентерии и брюшном тифе;
- воздушно-капельный, например при гриппе;
- трансмиссивный -- при малярии и сыпном тифе;
- зачастую играют роль несколько путей передачи возбудителя инфекции.

Изучением эпидемии и мер борьбы с ними занимается эпидемиология.

Эпидемия возможна при наличии и взаимодействии трех элементов: возбудителя инфекционной болезни, путей его передачи и восприимчивых к этому возбудителю людей, животных и растений. При массовых инфекционных заболеваниях обязательно существует эпидемический очаг. В этом очаге осуществляется комплекс мероприятий, направленных на локализацию и ликвидацию болезни.

Основными из этих мероприятий в эпидемическом и эпизоотическом очагах являются:

- выявление больных и подозрительных по заболеванию; усиленное медицинское и ветеринарное наблюдение за зараженными, их изоляция, госпитализация и лечение;
- санитарная обработка людей (животных);
- дезинфекция одежды, обуви, предметов ухода;
- дезинфекция территории, сооружений, транспорта, жилых и общественных помещений;
- установление противоэпидемического режима работы лечебно-профилактических и других медицинских учреждений;
- обеззараживание пищевых отходов, сточных вод и продуктов жизнедеятельности больных и здоровых людей;
- санитарный надзор за режимом работы предприятий жизнеобеспечения, промышленности и транспорта;
- строгое соблюдение санитарно-гигиенических норм и правил, в том числе тщательное мытье рук с мылом и дезинфицирующими средствами, употребление только кипяченой воды, прием пищи в определенных местах, использование защитной одежды (средств индивидуальной защиты);
- проведение санитарно-просветительной работы. Режимные мероприятия проводятся в форме обсервации или карантина в зависимости от вида возбудителя болезни.

2. Виды эпидемии

В зависимости от числа зараженных выделяется:

- Эндемия — локальное распространение заболевания в рамках небольшого региона.
- Эпидемия — имеет более крупные очаги, выходящие порой за рамки одной страны.
- Пандемия — масштабное заражение, охватывающее страны, материки, а то и весь земной шар.

При борьбе с любого рода инфекциями вне зависимости от метода передачи важно вести профилактику заболеваемости.

1. 3 Лекция № 3 (2 часа)

Тема: «Эпизоотия»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Понятие о эпизоотии.
2. Виды эпизоотии.

1.3.2 Краткое содержание вопросов:

1. Понятие о эпизоотии.

Эпизоотия - одновременное, прогрессирующее во времени и пространстве в пределах определенного региона распространение инфекционной болезни среди большого числа одного или многих видов животных, значительно превышающее обычно регистрируемый на данной территории уровень заболеваемости.

Эпизоотии, широкое распространение заразной (инфекционной или инвазионной) болезни животных, значительно превышающее уровень обычной (спорадической) заболеваемости, характерной для данной территории. Изучение эпизоотии входит в задачу эпизоотологии.

Эпизоотия характеризует степень напряженности эпизоотического процесса, т. е. непрерывного процесса распространения инфекционных болезней и микробоносительства среди животных.

Возникновение эпизоотии возможно лишь при наличии комплекса взаимосвязанных элементов, представляющих собой т. н. *эпизоотическую цепь*:

- источник возбудителя инфекции (больное животное или животное-микробоноситель),
- факторы передачи возбудителя инфекции (объекты неживой природы) или живые переносчики;
- восприимчивые животные.

На возникновение и развитие эпизоотии влияют условия внешней среды -- природные (географические, климатические, почвенные) и экономические (хозяйственные и др.), а также социальные потрясения (войны, экономические кризисы). Характер эпизоотии, длительность её течения зависят от механизма передачи возбудителя инфекции, длительности инкубационного периода, соотношения больных и восприимчивых животных, условий содержания животных и эффективности противоэпизоотических мероприятий. Эпизоотии при определенных болезнях свойственны периодичность проявления (через несколько лет), сезонность, стадийность развития, которые особенно ярко проявляются при стихийном течении эпизоотии. Активное вмешательство человека, в частности проведение плановых противоэпизоотических мероприятий, как это имеет место в СССР, предотвращает в значительной степени развитие эпизоотии.

К специфическим противоэпизоотическим мероприятиям относятся вынужденный убой животных и утилизация их трупов.

Основными мероприятиями по защите растений от эпифитотий являются:

- выведение и выращивание устойчивых к болезням культур
- соблюдение правил агротехники
- уничтожение очагов инфекции
- химическая обработка посевов
- посевного и посадочного материала
- карантинные мероприятия.

2. Виды эпизоотии.

Выделяются следующие **виды эпизоотий**:

- по масштабам распространения - частные, объектовые, местные и региональные;
- по степени опасности - легкие, средней тяжести, тяжелые и чрезвычайно тяжелые;
- по экономическому ущербу - незначительные, средние и большие.

Эпизоотии, как и эпидемии, могут носить характер настоящих стихийных бедствий. Так, в 1996 г. в Великобритании свыше 500 тыс. голов сельскохозяйственных животных заразилось чумой крупного рогатого скота. Это вызвало необходимость уничтожения и утилизации останков больных животных. Из страны прекратился экспорт мясных изделий, что поставило ее животноводство на грань разорения. Кроме того, потребление мяса в Европе значительно уменьшилось и, как следствие, произошла дестабилизация европейского рынка мясных изделий.

1. 4 Лекция № 4 (2 часа)

Тема: «Эпифитотия»

1.4.1 Вопросы лекции:

1. Понятие о эпифитотии.
2. Виды эпифитотии

1.4.2 Краткое содержание вопросов:

1. Понятие о эпифитотии.

Эпифитотия - массовое, прогрессирующее во времени и пространстве инфекционное заболевание сельскохозяйственных растений и (или) резкое увеличение

численности вредителей растений, сопровождающееся массовой гибелью сельскохозяйственных культур и снижением их эффективности.

Эпифитотия, распространение инфекционной болезни растений на значительные территории (хозяйство, район, область) в течение определенного времени. В виде эпифитотии обычно проявляются ржавчина и головня хлебных злаков, фитофтороз картофеля, парша яблони, увядание хлопчатника, шютте снежное и обыкновенное и другие инфекционные заболевания.

В прошлом эпифитотия причиняли большой ущерб. Известны значительные потери урожая картофеля от фитофтороза в 40-х гг. 19 в. в Ирландии, подсолнечника -- от ржавчины в 60-х гг. 19 в. в России, пшеницы -- от стеблевой ржавчины в Амурской области в 1923. С повышением культуры земледелия, с разработкой методики прогнозирования массовых заболеваний растений, применением эффективных мер борьбы с ними эпифитотии стали более редкими.

Обычно эпифитотии возникают из отдельных очагов болезни при благоприятных условиях (накопление и способность к быстрому распространению инфекционного начала, погодные факторы, способствующие размножению возбудителя и развитию болезни, достаточное количество восприимчивых растений).

Фитопатогенные микроорганизмы распространяются из мест резервации и заражают большое число растений. В результате образования нескольких генераций возбудителя создаются новые укрупнённые очаги болезни, расширяется район (зона) поражения, возникает эпифитотия. В зависимости от типа болезни, особенностей возбудителя, растения-хозяина и внешних факторов развиваются быстро или медленно, с периодическими вспышками при благоприятных условиях. Изучением различных сторон эпифитотического процесса занимается сравнительно молодая область науки -- эпифитотиология. Установление связи развития эпифитотии с теми или иными факторами позволяет ослабить их влияние. Например, изменения в популяции возбудителя болезни и растения-хозяина, обуславливающие возникновение эпифитотии, учитываются при обосновании прогнозов болезни, выведении устойчивых к инфекционным болезням сортов с.-х. культур и их размещении в севооборотах.

Гибель и болезни растений могут явиться следствием неправильного применения различных химических веществ, например, гербицидов, дефолиантов, десикантов, которые в определенных дозах используются для уничтожения сорняков и дикорастущих кустарников при освоении новых земель, удаления или подсушивания листьев сельскохозяйственных растений перед уборкой, а так же как стимуляторы роста и созревания. Большой вред сельскому хозяйству наносят растения-паразиты, полностью или частично живущие за счет питательных веществ других растений. Они снижают урожайность сельскохозяйственных культур или вообще уничтожают их. Например, цветковые растения-паразиты снижают урожай подсолнечника, томатов, сарго, табака и др. Саранча наносит ни с чем не сравнимый ущерб сельскому хозяйству во многих странах Африки, Азии и Ближнего Востока. Ее налетам подвержено почти 20% поверхности земного шара. Саранча, передвигаясь со скоростью 0,5-1,5 км/ч, уничтожает на своем пути буквально всю растительность. Так, в 1958 г. одна лишь стая уничтожила в Сомали за день 400 тыс. т зерна. Под тяжестью оседающих стай саранчи ломаются деревья и кустарники. Личинки саранчи питаются по 20-30 раз в день. Серьезными вредителями сельского хозяйства являются грызуны (сурки, суслики, серые полевки, пеструшки и др.). Во время массовых размножений их численность может резко возрасти в 100-200 раз. Это увеличенное число грызунов требует огромного количества пищи, которой и становятся сельскохозяйственные культуры, особенно зерновые.

2. Виды эпифитотии

Эпифитотии характеризуются следующими болезнями:

- ржавчина хлебных злаков, при поражении которой потери урожая составляют 40-70%;
- пиокульриоз риса - заболевание вызывается грибом, потери урожая могут достигать 90%;
- фитофтороз (картофельная гниль) - заболевание, поражающее грибом листья, стебли и клубни картофеля и др

В зависимости от особенностей развития и масштабов распространения в природе различают следующие основные типы эпифитотий:

Местные эпифитотий, или энфитотий. Характеризуются ежегодным (в течение нескольких лет) сильным развитием болезни на ограниченной территории, иногда в виде отдельных очагов. Возбудители местных эпифитотий, как правило, постоянно присутствуют в данной местности. Они способны долго сохраняться в почве, на растительных остатках, семенах, сорняках и т.п. Инфекционное начало таких патогенов обычно медленно накапливается в природе и сравнительно медленно распространяется. Однако, если запас инфекции достигает высокого уровня, то при наличии восприимчивых растений и благоприятных внешних условиях нередко возникают эпифитотии. Примером местных эпифитотий могут служить энфитотии полегания всходов, ежегодно наблюдаемые в питомниках многих районов страны.

Прогрессирующие эпифитотии. Эпифитотии этого типа начинаются как местные, но со временем охватывают более обширные территории. Они обычно вызываются наиболее агрессивными патогенами, которые имеют высокую энергию размножения, образуют в течение лета несколько поколений бесполого спороношения и способны быстро распространяться по воздуху или с помощью насекомых (например, эпифитотии ржавчины, мучнистой росы, некоторых сосудистых и вирусных болезней).

Причиной возникновения прогрессирующих эпифитотий может оказаться переброска из одних районов в другие зараженного посадочного материала или попадание патогена в новые для него районы, где имеются значительные площади восприимчивых растений-хозяев. Примером такой эпифитотии может служить эпифитотия пузырчатой ржавчины веймутовой сосны, возникшая и быстро охватившая огромные площади, занятые этой сосной в США, после того как возбудитель болезни был завезен в Америку из Европы.

Прогрессирующие эпифитотии часто развиваются в течение многих лет. Так, сильные прогрессирующие эпифитотии голландской болезни ильмовых, распространившиеся на больших территориях в лесостепной, степной и полупустынной зонах нашей страны, были отмечены в 1935-1940 и 1955- 1959 гг. В молодых культурах сосны, создаваемых на обширных площадях концентрированных вырубках в северных и северо-западных районах России наблюдаются прогрессирующие эпифитотии снежного шютте и ржавчины побегов сосны.

Повсеместные эпифитотии, или панфитотии, характеризуются массовым развитием болезни на территории целой страны, иногда нескольких стран или континентов.

Панфитотии — явление довольно редкое, но они могут принимать размеры национального бедствия, как это случилось во время панфитотии фитофтороза картофеля в середине XIX в. В начале XX в. характер панфитотии носило массовое распространение мучнистой росы дуба и мучнистой росы крыжовника, завезенных из Америки в Европу. Повсеместное распространение корневой гнили во многих странах Европы и Северной Америки в течение последних десятилетий также достигло уровня панфитотии.

Кроме того, различают медленно развивающиеся, или тардивные, и быстро развивающиеся, или эксплозивные, эпифитотии. Первые чаще всего наблюдаются при поражении многолетних растений (например, древесных) заболеваниями типа голландской болезни ильмовых или корневой гнили на хвойных. Они характеризуются плавным ходом нарастания вспышки и постепенным ее затуханием. Вторые вызываются в

основном патогенами с высокой скоростью размножения и характеризуются резким нарастанием вспышки и быстрым ее затуханием. Ход эпифитотий этого типа часто подчинен сезонным изменениям и в значительной степени определяется факторами внешней среды. Примерами могут служить эпифитотий парши яблони, полегания сеянцев, мучнистой росы, ржавчины, шютте и др.

Знание особенностей различных типов эпифитотий позволяет предвидеть их возникновение, ход дальнейшего развития и использовать эти данные для составления более точных прогнозов и планирования лесозащитных мероприятий.

1. 5 Лекция № 5 (2 часа)

Тема: «Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса и других продуктов убой животных при поражении радиоактивными веществами»

1.5.1 Вопросы лекции:

1. Виды облучения. Их значение при проведении ветсанэкспертизы.
2. Влияние лучевой болезни на организм животного.

1.5.2 Краткое содержание вопросов:

1. Виды облучения. Их значение при проведении ветсанэкспертизы.

Выпадение радиоактивных веществ на сельскохозяйственные угодья (при аварийных ситуациях на предприятиях ядерной энергетики и других радиационно опасных объектах с выбросом радионуклидов в окружающую среду) может привести к внешнему, внутреннему и / или сочетанному облучению животных и радиоактивному загрязнению получаемой от них продукции.

В зависимости от интенсивности и длительности облучения у сельскохозяйственных животных может развиваться острая или хроническая лучевая болезнь.

В первую очередь подлежат убою животные с комбинированными радиационными поражениями (гамма-облучение, травмы, ожоги); а также животные, у которых прогнозируется развитие лучевой болезни крайне тяжелой степени. Оптимальным сроком убоя являются первые 2 - 4 дня после радиационного поражения.

Во вторую очередь убивают животных, у которых предполагается развитие лучевой болезни тяжелой степени. Оптимальный срок убоя - первые 5 - 7 суток после облучения.

При средней степени поражения животных убивают на мясо в течение первых 10 - 12 суток. При легкой степени поражения сроки убоя животных не лимитированы. При внутреннем и / или сочетанном поражении сроки убоя животных устанавливают с учетом возможности получения продуктов убоя с содержанием в них радионуклидов в пределах допустимых уровней. С этой целью проводят ориентировочную прижизненную радиометрию мышечной ткани. При необходимости проводят контрольный убой нескольких животных с последующей радиометрией продуктов убоя и определением изотопного состава радиоактивного загрязнения.

Животных, подвергшихся радиационному поражению, отправляют для убоя на мясо по разрешению руководителя районной, городской, районной в городе ветеринарной станции или его заместителя отдельными партиями в согласованные с мясокомбинатами или боенскими предприятиями сроки. Отправка таких животных гоном запрещается.

Перед отправкой на мясокомбинаты или боенские предприятия животных подвергают дозиметрическому контролю, проводят ветеринарный осмотр. Кожные покровы животных, загрязненные радионуклидами выше допустимых уровней, подвергают санитарной обработке и повторной дозиметрии. Убойных животных, имеющих по результатам прижизненной радиометрии концентрацию радионуклидов в мышечной ткани выше допустимых уровней, формируют в отдельные группы и при

наличии возможности оставляют для доочистки на специально рассчитанных по содержанию радионуклидов рационах (далее - "чистые" корма).

При отправке для убоя на мясо на каждую партию животных выдают ветеринарные документы установленной формы с указанием на обороте:

- дозы внешнего гамма-облучения животных (расчетной или по данным дозиметрической службы);
- сведений о радиоактивном загрязнении кормов и воды;
- дозы внутреннего облучения животных;
- уровня радиоактивного загрязнения кожных покровов животных;
- сведений о проведении ветеринарной обработки животных.

Убой пораженных животных проводят на ближайших мясокомбинатах или боенских предприятиях или на специально оборудованных убойных пунктах (площадках).

При поступлении на приемную площадку мясокомбината или боенского предприятия животных подвергают повторному дозиметрическому контролю, проводят прижизненную радиометрию мышечной ткани экспресс-методом. Кожные покровы животных при загрязнении радионуклидами выше допустимых уровней подвергают ветеринарной обработке с последующей дозиметрией. Животных, у которых предполагается содержание радионуклидов в мышечной ткани выше допустимых уровней, а сроки убоя не лимитированы, возвращают поставщику или размещают на специальной площадке (базе) для передержки с использованием "чистых" кормов. В день убоя животных подвергают ветеринарному осмотру с поголовной или выборочной термометрией.

Убой и переработку животных, подвергшихся только внешнему гамма-облучению, проводят в обычном порядке.

Убой и переработку животных, подвергшихся внутреннему радиоактивному облучению, проводят отдельными партиями на санитарной бойне или в убойном цехе мясокомбината или боенского предприятия, но в конце рабочей смены. При этом принимают меры по предупреждению поверхностного загрязнения продуктов убоя радиоактивными веществами. Лиц, занятых на обескровливании животных и снятии шкур, не допускают к операциям по дальнейшей разделке туш. Нутровку проводят при вертикальном положении туш, на пищевод и прямую кишку накладывают двойные лигатуры, желудок и кишечник извлекают совместно в их анатомической связи. По окончании убоя партии пораженных животных проводят дезактивацию помещений, оборудования, инвентаря, спецодежды с использованием растворов моющих средств, разрешенных к применению на предприятиях мясной промышленности.

Послеубойную ветсанэкспертизу туш и органов животных при радиационных поражениях проводят в порядке, указанном в главах 6 - 9 настоящих Правил. При этом особое внимание обращают на наличие патологоанатомических признаков лучевой болезни.

Мясо и другие продукты убоя животных, подвергшихся только внешнему гамма-облучению, используют без ограничений, если при ветсанэкспертизе туш и органов не обнаружено патологоанатомических изменений. При их наличии решение о порядке использования мяса и субпродуктов принимают после обязательного бактериологического исследования на патогенные энтеробактерии. Шкуры используют без ограничений.

При внутреннем и сочетанном (внешнем и внутреннем) облучении животных мясо и другие продукты убоя в обязательном порядке подвергают радиометрическому контролю. Туши и органы используют без ограничений, если в них не обнаружено патологоанатомических изменений, а содержание радионуклидов не превышает допустимых уровней. При наличии патологоанатомических изменений внутренние органы направляют на утилизацию. Решение о порядке использования мяса принимают по результатам бактериологического исследования на патогенные энтеробактерии.

Туши и органы животных, экстренно убитых в разгар лучевой болезни, признанные по результатам ветсанэкспертизы, радиометрического и бактериологического

исследований пригодными для использования в пищу, направляют на проварку, а также на изготовление колбасных хлебов или консервов.

По разрешению управлений (отделов) ветеринарии комитетов по сельскому хозяйству и продовольствию облисполкомов мясо и субпродукты с содержанием радионуклидов выше допустимых уровней могут быть использованы в корм свиньям и птице при выращивании и первой стадии откорма, а также для кормления пушных зверей.

Ветеринарно-санитарную оценку тушек и органов домашней птицы, находившейся на загрязненной радиоактивными веществами местности, проводят в соответствии с настоящими правилами и с учетом результатов радиометрических исследований.

При содержании долгоживущих радионуклидов выше республиканских допустимых уровней загрязнения, установленных в поставарийный период, туши и органы животных направляют на утилизацию. Шкуры уничтожают. При уровнях загрязнения выше установленных в СанПиН 2.6.8-8-2002 (НРБ-2002) для радиоактивных отходов все продукты убоя направляют на захоронение в специально отведенных местах.

При уровнях загрязнения ниже установленных в СанПиН 2.6.8-8-2002 (НРБ-2002) для радиоактивных отходов с продуктами убоя поступают в соответствии с инструкцией по утилизации отходов, разработанной в организации с учетом результатов бактериологического исследования (при загрязнении стронцием-90 мясо подвергают дезактивации путем обвалки туш, посола, проварки). Жир дезактивируют перетопкой.

При загрязнении короткоживущими радионуклидами туши и органы животных выдерживают в отдельных камерах до спада радиоактивности или установления их соответствия допустимым уровням загрязнения.

2. Влияние лучевой болезни на организм животного.

Под лучевой болезнью понимается заболевание, вызванное воздействием на организм радиоактивного агента. Последнее может быть обусловлено или внешними факторами радиации, или попаданием радиоактивных веществ внутрь организма.

Внешними факторами являются электромагнитные колебания в форме рентгеновых лучей (интервалы частот от $3 \cdot 10^{16}$ до $3 \cdot 10^{20}$ гц и интервал длины волн от 10^{-6} до 10^{-10} см) или гамма-лучей (интервалы частот от $3 \cdot 10^{19}$ до $3 \cdot 10^{22}$ гц и интервал длины волн от 10^{-9} до 10^{-12} см), а также потоки быстрых или медленных нейтронов и отрицательно заряженных бета-частиц или отрывающихся от своих источников электронов высоких энергий.

Влиянию внешнего облучения организм подвергается лишь в период пребывания в сфере воздействия излучения. При прекращении излучения, например по выключении рентгеновского аппарата или удалении гамма-излучателя, прекращается внешнее воздействие, и в организме развиваются далее лишь последствия совершившихся в период облучения изменений.

Радиоактивные вещества попадают внутрь организма чаще всего через дыхательные пути в виде пыли, газов, паров или через пищеварительный тракт вместе с пищей, водой. Возможно проникание радиоактивных веществ также через раневые поверхности или другие нарушения кожного покрова. Воздействие излучения при этом осуществляется вследствие испускания инкорпорированным веществом альфа- или бета-частиц, а также гамма-лучей, если это вещество является гамма-излучателем.

Альфа-частицы в большой мере поглощаются тканями, в которых совершают свой пробег. Поэтому глубина проникновения их очень невелика, зато плотность ионизации или степень воздействия их значительна.

Бета-частицы и мягкие рентгеновы лучи поглощаются в меньшей степени, в связи с чем и пробег их в толще имеет большую величину.

Гамма-лучи, как и жесткие рентгеновы лучи, поглощаются мало и обладают большой проникающей способностью. Организм испытывает постоянное воздействие этих излучений в течение всего времени нахождения в нем активного вещества.

По ликвидации в организме активного фактора, т. е. в случае его выведения или при полном его распаде, в клинической картине заболевания остаются лишь последствия лучевых воздействий. В ряде случаев организм испытывает комбинированное влияние внешнего и внутреннего облучения (смешанное облучение).

Вызванное радиацией заболевание может иметь острое течение, возникая непосредственно вслед за воздействием радиоактивного агента, претерпевающее определенный цикл развития и приводящее к тому или иному исходу. Это - острая лучевая болезнь. При систематическом повторении влияний хотя бы небольших доз внешнего фактора, или при попадании внутрь организма радиоактивного вещества, обладающего длительным периодом полураспада и, следовательно, долгое время сохраняющего свою активность, развивается хроническая лучевая болезнь. Как та, так и другая форма представляет собой общее, генерализованное заболевание с вовлечением в патологический процесс, хотя и в неравномерной степени, большого числа органов и систем. В других случаях при ограниченном воздействии облучения и недостаточном вовлечении общих патогенетических механизмов заболевание проявляется как бы в форме местного поражения той или иной области или органа, например местного лучевого ожога или локального воздействия внедрившегося активного вещества на окружающую ткань без генерализации процесса по всему организму. Как и при заболеваниях другой этиологии, можно все же обычно ожидать некоторых общих проявлений при поражении, трактуемом как местное, степень которых зависит от местной и общей реактивности организма.

Первичное действие лучевой травмы с ее непосредственным влиянием на подвергшуюся облучению ткань и опосредованием лучевого эффекта через нервную систему с изменением нервно-регуляторных отношений надлежит рассматривать как пусковой механизм в развитии лучевой болезни.

При оценке дальнейшего патогенеза заболевания в его динамическом развитии нужно придавать особенно важное значение следующим процессам, формирующим клиническую картину заболевания:

1. Интоксикация организма, в основном обусловленная тканевым распадом, с образованием аллергических реакций как следствия измененной реактивности пострадавшего организма.

2. Развитие изменений обмена веществ как следствие и первичных, и последовательных реакций. В связи с этими изменениями осуществляются трофические тканевые нарушения, определяющие состояние и функцию органов и систем.

3. Нарушения сосудистой системы с изменением проницаемости сосудов, ломкостью их и функциональными расстройствами, отражающимися на гемодинамике и способствующими развитию кровоточивости.

4. Нарушения кроветворения, являющиеся одной из основных и наиболее определенных характеристик в картине лучевой болезни, а также способствующие проявлению геморрагического диатеза.

5. Нарушения эндокринной системы, обнаруживающиеся в основном на гипофизарно-надпочечниковой системе, половом аппарате и состоянии щитовидной железы.

6. Понижение сопротивляемости организма по отношению к инфекциям. Упомянутые категории патологии в отдельности и взаимосочетаниях создают основные направления в развитии клинической картины лучевой болезни, как острой, так и хронической. Наряду с этим имеют место и иные расстройства, отражающиеся на общей картине заболевания: поражение пищеварительного тракта, изменения сердца, паренхиматозных органов, органов чувств и др.

Существенным фактором патогенеза лучевой болезни является интоксикация организма, имеющая сложное происхождение. В основном она обусловлена тканевым распадом, судя по действиям гомогенатов облученных тканей при введении их в здоровый организм, уже последствия тканевых первичных изменений носят токсический характер. Еще в 1905 г. Куршманн (Curschmann) и Гаупп (Gaupp), а затем и ряд других авторов отметили лейкотоксические свойства крови у больных, подвергавшихся действию ионизирующей радиации. Развитие интоксикации доказывается также опытами с парабиионтами, из которых один подвергался облучению, причем на другом парабиионте обнаруживались изменения крови. Опыты в лаборатории указывают на неодинаковый токсический эффект, вызываемый кровью, оттекающей из различных областей облученного животного. Эксперименты Н обнаруживают появление в крови и органах облученных животных цитотоксических субстанций, растворяющих клетки того же организма.

Наряду с возможным образованием в облученном организме специальных токсинов можно считать токсическим влияние измененного обмена веществ, при котором страдает не только деятельность органов и систем, но и структура таковых.

Тканевая интоксикация в облученном организме отражается на ряде клинических явлений, представляя для них особый фон: нарушения нервной деятельности, головные боли, расстройства аппетита и сна, дистрофии внутренних органов с нарушениями их функций (желудочная ахилия, миокард иодистрофия, печеночные, почечные изменения, эндокринопатии и в особенности нарушения гемопоэза).

Происшедшее вследствие изменений в обмене веществ самоотравление в свою очередь может обуславливать дальнейшие отклонения в метаболизме, чем создается порочный круг.

Нарушения в кроветворении также связаны с токсикозом. Примеры воздействий отравления на кроветворение можно наблюдать в ряде болезненных состояний другой этиологии. Так, хроническое отравление бензолом по характеру нарушений кроветворения во многом напоминает картину, имеющую место при лучевой болезни. В особенности же последняя имеет сходство с клиникой при алиментарной токсической алейкии. Развитию угнетения кроветворения на высоте лучевого заболевания способствует нарушение в нуклеиновом обмене клеток, главным образом их ядер, что задерживает размножение и созревание их. Поражаются в основном клетки молодые, растущие и делящиеся, т. е. такие, в которых активно протекает физиологическая регенерация, что имеет место в гемопоэтической системе.

При лучевом поражении эксперимент показывает резкое снижение в ядрах клеток количества дезоксирибонуклеиновой кислоты и нарушение ее синтеза. Такие клетки в дальнейшем обречены на гибель. Поражение биокаталитических систем нуклеинового обмена лежит, очевидно, в основе дистрофических процессов в гемопоэтической системе с развитием ее недостаточности. Обнаружено резкое снижение нуклеиновых кислот в ткани крастного мозга у облученных кроликов.

Поражение ряда ферментных систем может рассматриваться как прямое следствие белковой денатурации, обусловленной первичным эффектом лучевого фактора, с последующей интоксикацией уже смешанного порядка. При этом может меняться гидрофильность белка, его антигенные свойства и многие физико-химические особенности его структуры. После облучения наблюдается нарушение азотистого обмена, зависящее прежде всего от гибели клеток с разрушением белковых комплексов.

Наряду с этим в повышении азотистого обмена играет роль возбуждение нервнорегуляторных процессов, свойственное первому периоду лучевой болезни. По экспериментальным данным увеличивается выделение с мочой общего азота, азота мочевины, креатинина и мочевой кислоты, наблюдается небольшое повышение остаточного азота крови. В период развития клинических явлений выделение общего азота уменьшается вследствие резкого снижения потребления пищи. В организме

возникает отрицательный баланс азота. В плазме крови нарастает фракция глобулинов с падением отношения альбуминов к глобулинам. В восстановительном периоде эти нарушения нормализуются, причем более быстрое возвращение альфа-глобулинов к норме может иметь благоприятное прогностическое значение.

Углеводный обмен с развитием лучевой болезни также претерпевает изменения. Вначале наблюдается гипергликемия (120-160 мг % сахара в крови), нарастание уровня гликогена с последующим снижением его как выражение усиленного распада углеводов. Имеет место повышение (в тяжелых случаях в 2-3 раза) уровня молочной кислоты в крови. Наблюдающаяся в дальнейшем неустойчивость в уровне сахара крови, равно как в показателях минерального обмена, отражает, очевидно, неустойчивость в деятельности нервных, главным образом субталамических регуляторов.

Образование продуктов распада белка при лучевых воздействиях и его денатурация, всасывание из кишечника токсических продуктов белкового происхождения приводят к аллергизации организма, отвечающего повышенной чувствительностью на целый ряд воздействий, в том числе и лечебных (например, переливание крови).

Существует взгляд, что и в развитии лейкопении играет роль аллергизация организма. Характерной особенностью следствий лучевой травмы нужно считать поражение сосудистой системы. С первого же периода после облучения оно сказывается усилением проницаемости, способствующим развитию отека ткани. В основе его следует видеть токсическое, а в дальнейшем - трофическое поражение сосудистой стенки или сосудистых мембран. Данные указывают на нарушения в раннем периоде обмена гиалуроновой кислоты с ее усиленной деполимеризацией, что способствует разрыхлению ткани сосудистой стенки. В дальнейшем это сопровождается усилением ломкости сосудов. На высоте заболевания, а иногда и в более ранний период поражение сосудистой стенки ведет к геморрагическому синдрому с большим или меньшим развитием кровоизлияний в коже, слизистых оболочках и внутренних органах при соответствующей симптоматике. Несомненно, патогенез геморрагического синдрома более сложен, и в его развитии играют роль нарушения в системе крови, особенно в тромбоцитах. Основное значение имеет гипергепаринемия.

Одним из ведущих синдромов в течение лучевой болезни является поражение органов кроветворения. Эти изменения, имеющие фазный характер и сложный механизм, всегда привлекали к себе наибольшее внимание исследователей. В начальном периоде, характеризующемся повышенным нервным возбуждением, отмечается преходящее увеличение количества форменных элементов, особенно лейкоцитов миелоидного ряда с ускорением созревания элементов белого ростка и увеличением вымывания их из костного мозга на периферию.

Это явление по времени коррелирует с наблюдаемым в клинике преобладанием влияния симпатико-адреналовой системы, что способствует выхождению форменных элементов из костного мозга в кровь. Таким образом, наблюдаемый при этом лейкоцитоз является не распределительным, а истинным.

Лимфоидная ткань как крайне чувствительная к действию радиации уже в этот период реагирует развитием лимфопении. Эксперимент, однако, улавливает в ряде случаев предшествующий скоропреходящий лимфоцитоз. Во втором, латентном, периоде начинается уже спад лейкоцитоза и появление признаков угнетения эритропоэтического ростка. Затем на высоте заболевания развивается угнетение костномозгового кроветворения, в тяжелых случаях с резчайшей нейтропенией и тромбопенией.

Причины угнетения гемопоэза сложны и многочисленны. Уже указывалось на торможение со стороны нервной системы и аллергию, а также на нарушения в нуклеиновом обмене костного мозга, препятствующие пролиферации его клеточных элементов и имеющие существеннейшее значение в патологии гемопоэза. Несомненно, играют роль и токсические патогенетические факторы лучевой болезни, ведущие к лейкоцитолиту. Дистрофические воздействия нужно рассматривать, таким образом, как

следствие местных тканевых изменений, связанных с непосредственным действием радиации, и как явление, опосредованное через нейрогуморальные влияния. К этому следует добавить и значение ряда эндокринных нарушений, сказывающихся на гемопоэзе. В восстановительном периоде происходит нормализация крови с признаками омоложения ее, начиная с увеличения ретикулэритров, с ускоренным вымыванием костномозговых элементов в периферическую кровь. Кроветворная реакция при этом может оказаться чрезмерной и привести к лейкоцитозу, последовательно сменяющемуся в случаях выздоровления приходом количества форменных элементов к норме. Восстановление кроветворения, однако, часто задерживается и наблюдаются длительные остаточные явления в форме сдвигов в лейкоцитной формуле и неустойчивости в количественном составе форменных элементов. Состав крови иногда окончательно не возвращается к норме, характеризуя тем самым переход острой формы заболевания в хроническую.

Наряду с влиянием нервных и гуморальных факторов, нарушения которых формируют картину лучевой болезни, в единстве с ними играют роль изменения в гормональных аппаратах. Особенно важная роль принадлежит гипофизарно-адреналовой системе. Селье (Selye) и его последователи распространяют свои представления о нарушениях адаптационного синдрома (stress) на патогенез лучевой болезни. Анализируя таковой, Селье указывает на имеющий место при этом общий тканевый катаболизм, инволюцию тимико-лимфатических органов, понижение гемопоэза, ослабление сопротивляемости к инфекции и трактует эти явления как нарушения адаптации.

В процессе приспособления к условиям существования происходит развитие и дифференцировка клеток и тканей. Нарушение адаптации ведет к расстройствам этой дифференцировки и к направлению ее по патологическому пути. Автор рекомендует для восстановления адаптации воздействия соматотропного гормона. Теория эта при всей ее значимости страдает крупнейшим недостатком, так как игнорирует нервный фактор в регуляторных отношениях, чему справедливо придает большое значение советская наука.

Одним из существенных патогенетических механизмов в развитии картины осложненной лучевой болезни, практически обычно имеющей место при больших дозах облучения, является снижение сопротивляемости организма по отношению к инфекционным агентам как внешнего, так и эндогенного характера.

Влияние ионизирующей радиации и ее последствий на снижение естественного иммунитета имеет много причин, на которые указывалось выше: нарушения нуклеинового, обмена, токсическое состояние пострадавшего организма, нервнотрофические адаптационные расстройства, нарушения гемопоэза с недостаточной выработкой антител. Имеют также значение трофические нарушения в других тканях и системах, в том числе коже и слизистых оболочках с поражением естественных барьеров для микроорганизмов и нарушением процессов регенерации. Это, очевидно, неполный список факторов, нарушающих естественный иммунитет пострадавшего организма.

В результате снижения иммунитета можно отметить угнетение фагоцитарной активности, механизма самоочищения организма, понижение бактерицидных свойств покровов, увеличение проницаемости кишечной стенки для микробов кишечника с аутоинфекцией организма. При снижении естественного иммунитета многие сапрофиты приобретают патогенные свойства. Установлено в эксперименте, что облучение животных до введения им антигена угнетает или полностью задерживает выработку антител. В результате пониженной сопротивляемости к инфекциям организм, пострадавший от облучений, чрезвычайно подвержен заражению общего и местного характера и инфекционным осложнениям. Это, как правило, имеет место в разгаре тяжелого или средней тяжести заболевания (третий период). Присоединение инфекции может приобрести ведущее значение в картине лучевого заболевания и даже решать судьбу больного. Поэтому уместно считать снижение естественного иммунитета одним из патогенетических факторов лучевой болезни.

1. 6 Лекция № 6 (2 часа)

Тема: «Микробиологическое исследование мяса и мясопродуктов»

1.6.1 Вопросы лекции:

1. Микробиологическое исследование мяса
2. Определение доброкачественности мяса
3. Определение общего количества микроорганизмов в мясе
4. Исследование микрофлоры мясных продуктов

1.6.2 Краткое содержание вопросов:

1. Микробиологическое исследование мяса

Бактериологическое исследование мяса производят периодически по графику с целью контроля санитарного состояния не реже 1-го раза в 10 дней. Обязательное микробиологическое исследование мяса осуществляют в следующих случаях:

- при заболевании желудочно-кишечного тракта или дыхательных путей;
- при подозрении на инфекционное заболевание животного;
- при убое из-за травмы;
- при «вынужденном» убое;
- при убое животных-продуцентов.

Микробиологическое исследование мяса выполняют в соответствии с инструкцией ветеринарно-санитарного надзора. Для анализа отбирают следующие образцы: мышцы сгибателя и разгибателя конечности, часть печени, легкого, селезенку, почку, лимфатические узлы с окружающей соединительной тканью, трубчатую кость. Образцы упаковывают в стерильный материал, пломбируют и направляют в лабораторию с сопроводительным документом, в котором указывают вид животного, дату и время убоя, фамилию и адрес хозяина, предполагаемый диагноз.

Анализ начинают с изучения мазков-отпечатков, окрашенных по Граму. Этот этап называют бактериоскопическим исследованием, целью которого является обнаружение возбудителей сибирской язвы и ботулизма. Выявление в мазках грамположительных палочек, расположенных в цепочках, имеющих капсулы и споры, позволяет обосновать предварительный диагноз сибирской язвы. Если в мазках обнаруживают небольшие грамположительные палочки, имеющие форму ракеток, то возникает подозрение на заражение проб возбудителем ботулизма.

Далее выполняется собственно бактериологическое исследование. Для этого отбирают навески проб массой 5 г, растирают в ступках со стерильным песком, добавляя стерильный физиологический раствор из расчета, чтобы получить разведение 1:10. После отстаивания суспензии надосадочную жидкость высевают на различные питательные среды для выделения чистых культур аэробных и анаэробных микроорганизмов. Выделенные чистые культуры подвергают дальнейшему изучению по стандартным схемам для идентификации. Целью исследования является выявление возбудителей зооантропонозных инфекций.

2. Определение доброкачественности мяса

Определение доброкачественности мяса. Доброкачественность (свежесть) мяса оценивают по результатам органолептического, биохимического, бактериоскопического и микробиологического исследований согласно ГОСТам.

Органолептическую оценку производят по общепринятым признакам: описывают цвет, консистенцию, запах мясной и жировой ткани, характер бульона при варке.

Бактериоскопическое исследование выполняют следующим образом: готовят мазки-отпечатки с поверхности мяса, с глубины 2-2,5 см и 3-4 см, окрашивают их по

Граму. В каждом мазке изучают не менее 5-ти полей зрения, в которых подсчитывают число бактерий и отмечают другие изменения.
Оценка свежести мяса представлены в таблице 1.

Таблица 1. Оценка свежести мяса

Качество мяса	pH	Бактериоскопическая картина
1. Свежее	5,6-6,2	В мазках-отпечатках микробов нет или имеются единичные бактериальные клетки на поверхности мяса
2. Пониженной свежести	6,3-6,5	В мазках-отпечатках из глубины мяса обнаруживают 20-30 кокков и единичные палочки, на поверхности - несколько десятков клеток в поле зрения. Имеются распавшиеся мышечные волокна
3. Несвежее	6,6 и выше	В мазках-отпечатках с поверхности и с глубины мяса выявляются масса клеток с преобладанием палочек, имеется множество распавшихся мышечных волокон

Свежесть мяса характеризуется также показателями общей бактериальной обсемененности в 1 г или на 1 см² поверхности.

3. Определение общего количества микроорганизмов в мясе

При микробиологическом контроле производства безалкогольных напитков общее количество микроорганизмов определяют посевом нативного исследуемого материала или после его разведения в питательной среде следующим образом: мясо-пептонный агар — инкубация в термостате при 37° С в течение 24 ч (санитарный анализ); сусло-агар — инкубация в термостате при 28—30° С в течение 48 ч (производственный анализ).

Посев пробы должен производиться после приблизительного расчета таким образом, чтобы в чашках Петри выросло 30—300 колоний, за исключением материалов, в которых содержится менее 30 микроорганизмов в 1 мл.

Перед посевом проба должна быть хорошо перемешана (но чтобы не замочить при этом пробку), после чего стерильной пипеткой берут необходимое для посева количество (от 1 до 0,1 мл для непосредственного посева и меньшее количество — при разведении).

1. Разведение пробы.

Когда исследуемого материала меньше 0,1 мл, он высевается в чашках Петри после предварительного разведения стерильной водой следующим образом: в пробирку с 0,9 мл стерильной воды стерильно вносят 0,1 мл исследуемого материала и после тщательного размешивания к нему прибавляют еще 9 мл стерильной воды. После этих двух разведений (1 : 100) берут 1 мл материала, переносят стерильно в новую пробирку и доливают 9 мл стерильной воды (1 : 1000) и т. д. до желаемой степени разведения.

При каждом разведении пользуются отдельной стерильной пипеткой.

Если материал очень густой и отмеривание его пипеткой неточно или невозможно, а также при исследовании сухих продуктов, пробу в 5—10 г взвешивают стерильно в колбе на 120 мл, после чего прибавляют 50—100 мл стерильной воды (1 : 10). После тщательного перемешивания и растворения делают непосредственный посев или в зависимости от ориентировочной обсемененности посев производится после дополнительного разведения.

Когда исследуют материалы высокой кислотности, то во избежание изменения реакции питательной среды эти материалы нейтрализуют до необходимой степени стерильным 10%-ным раствором карбоната натрия. ,

Чтобы установить необходимое количество 10%-ного раствора карбоната натрия для нейтрализации пробы, титруют 10 мл ее 1%-ным раствором карбоната натрия до посинения лакмусовой бумаги.

2. Посев.

Прежде чем взять необходимое для посева количество материала, его тщательно перемешивают продуванием воздуха через стерильную пипетку, этой же пипеткой берут 1 мл и быстро переносят в чашку Петри. В каждую чашку выливают из пробирки расплавленную и охлажденную до 45° С питательную среду — мясо-пептонный или сусло-агар в количестве 15 мл, предварительно горлышко пробирки обжигают на пламени спиртовки.

Прибавленный агар быстро перемешивают с исследуемым материалом наклоном чашки. Нужно обратить внимание на то, чтобы не остались незалитыми агаром участки чашки, не образовались пузыри и материал не попал на стенки чашки. Чашки оставляют на горизонтальной поверхности для равномерного распределения и застывания агара. На крышке чашки Петри делают необходимые отметки.

3. Проращивание посевов.

Чашки Петри в термостате переворачивают вверх дном, рекомендуется, чтобы они были завернуты каждая в отдельности в стерильную бумагу. Проращивание на мясо-пептонном агаре при 37° С длится 24 ч, а на сусло-агаре — при 28—30° С — . 48 ч.

4. Подсчет колоний.

Производится при помощи лупы, увеличивающей в 5—8 раз. Подсчитываются все колонии. Когда в одной чашке проросли более 300 колоний и не имеется других посевов при большем разведении пробы, допустимо, чтобы подсчитывались колонии только на части поверхности (например, 20 см²). Нужно подсчитать колонии на поверхности не меньшей поверхности чашки.

4. Исследование микрофлоры мясных продуктов

Исследование микрофлоры пищевых продуктов является составной частью микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности. Задачей данного исследования является определение микробиологических показателей сырья и готовых изделий для сравнения их с нормативами государственных стандартов (ГОСТ), технических условий (ТУ), СанПиНа.

Главным нормативным документом является СанПиН «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов», в котором приведены нормативы микробиологических показателей всех групп пищевых продуктов.

Нормативные документы составлены на базе микробиологических критериев безопасности пищевых продуктов, которые включают определение в них 4-х групп микроорганизмов.

1-я группа - санитарно-показательные микроорганизмы. В этой группе определяют 2 показателя:

1. Во всех мясных продуктах производят определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) на мясо-пептонном агаре чашечным методом. Результаты выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г продукта.

2. Во всех продуктах определяют также бактерии группы кишечной палочки (БГКП) в качестве индикатора фекального загрязнения. К БГКП относят граммотрицательные бесспоровые палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37 оС. Учитывают цитратотрицательные и цитратположительные варианты БГКП, включая следующие роды: эшерихия, клебсиелла, энтеробактер, цитробактер и серрация. Анализы выполняют на среде Кесслер. Признаком роста является газообразование.

2-я группа - условно-патогенные микроорганизмы. Производят выделение бактерий рода протей, клостридий перфрингенс, коагулазоположительных стафилококков, бациллу цереус.

3-я группа - патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы. Определение сальмонелл производят во всех продуктах.

4-я группа - показатели микробиологической стабильности. С этой целью выявляют количество дрожжей и плесневых грибов.

1. 7 Лекция № 7 (2 часа)

Тема: «Урбанизация и ее экологические факторы, снижающие качество продуктов»

1.7.1 Вопросы лекции:

1. Биогенные загрязнители.
2. Техногенные загрязнители

1.7.2 Краткое содержание вопросов:

1. Биогенные загрязнители

Основная масса организмов Мирового океана сосредоточена у берегов, преимущественно в зоне морских побережий – прибрежное «сгущение жизни», по В.И. Вернадскому. В водной среде содержится большое количество мелких частиц органического вещества – детрита (от лат. detritus – истертый), образованного из отмирающих растений и животных. Массы этих частиц оседают на бактериях и благодаря выделяемому в результате бактериального разложения газу постоянно находятся в толще воды во взвешенном состоянии.

Известно, что из сбрасываемых загрязняющих веществ наибольший суммарный ущерб биоресурсам наносят соединения, не обладающие специфическими токсическими свойствами, – органические вещества, неорганические биогенные компоненты (соединения фосфора и азота) и жиры (Христофорова, Саломай, 2006). На минерализацию органических веществ, особенно жиров, требуется большое количество кислорода. Обилие биогенных элементов вызывает эвтрофикацию и также потребление кислорода на разложение отмирающего фитопланктона.

С использованием синтетических моющих средств, а также с применением эмульгаторов и пестицидов связано поступление полифосфатов в среду. Полифосфаты легко разлагаются и их концентрации в воде быстро снижаются. Появление органических фосфатов в природных водах обусловлено процессами жизнедеятельности и посмертного распада водных организмов, а также хозяйственно-бытовыми стоками и стоками от животноводческих ферм. Избыточное поступление фосфатов в прибрежные воды сопровождается «цветением» планктонных водорослей, в том числе сине-зеленых, на разложение которых расходуется растворенный кислород. Кроме того, прижизненные и посмертные выделения сине-зеленых водорослей загрязняют воду токсичными веществами, что угнетающе действует на экосистемы, вызывает гибель многих гидробионтов и, в конце концов, пагубно влияет на здоровье человека. Обычно максимальные концентрации органических и минеральных веществ в водоемах наблюдаются ранней весной, что связано с поверхностным смывом с суши и поступлением их из донных отложений. С повышением температуры воды и развитием продукционных процессов наблюдается увеличение концентраций органического вещества.

Известно, что чрезвычайно важную роль в начальных этапах расщепления органических субстратов, в круговороте биогенных элементов играют микроорганизмы, выделяющие в среду гидролитические ферменты (Заварзин, Колотилова, 2001). В средах, загрязненных органическими веществами, возрастает количество микрофлоры, утилизирующей соответствующие субстраты, и численность этих микроорганизмов может

быть показателем степени органического загрязнения среды (Исследования экосистем, 1992).

Высокая численность индикаторных бактерий, выявляется в речных стоках, особенно в местах их впадения в морскую среду, где часто наблюдаются максимальные концентрации органических веществ (Ковалева, 2003). Присутствие высокой численности индикаторной микрофлоры в природных водах свидетельствует о наличии легкоразлагающихся органических веществ, таких как липиды, белки и углеводы.

Биохимическая активность липолитической микрофлоры, концентрирующейся в области поверхностной пленки, способствует освобождению поверхностных вод от жирных веществ и нормализует газо- и теплообмен между водной поверхностью и атмосферой. Наибольшая частота встречаемости и максимум численности липолитической микрофлоры в воде приурочен в основном к приустьевым и прибрежным участкам и заливам, где наблюдается максимальное загрязнение. По мере продвижения от прибрежных и приустьевых участков к открытой акватории численность липолитических бактерий снижается на два - три порядка (Цыбань, Теплинская, 1974; 1982).

Амилолитические бактерии являются индикаторами присутствия в водной среде полисахаридов. Способность к расщеплению крахмала при помощи амилолитических экзоферментов распространена у многих микроорганизмов очень широко. Многие почвенные грибы – активные продуценты амилазы. Среди бактерий к активным продуцентам амилаз относят некоторые бациллы (*Bacillus macerans*, *B. subtilis*), псевдомонады и различные виды стрептомицетов (Динамика экосистем..., 2000).

Микроорганизмы протеолитики являются индикаторами присутствия в водной среде веществ белковой природы: казеина, желатина, коллагена и т.д. Способностью расщеплять пептиды и белки обладают ряд микроорганизмов: Протеолитические бактерии (бактероиды, протей, эшерихии, клостридии и др.) используют в качестве питательного субстрата белок и продукты его гидролиза, вызывая гнилостные процессы, конечными метаболитами которых являются аммиак, ароматические аминокислоты, эндогенные канцерогены, сульфиды и др.

Микроорганизмы, обладающие высокой гидролитической активностью в отношении разрушения органических веществ природного и антропогенного характера, играют важную роль в самоочищении среды (Цыбань, Панов, Барина, 1990; Кондратьева, 1996). Высокой гидролитической активностью при биогенном загрязнении обладают цианобактерии.

Наиболее активными продуцентами гидролаз в морской среде являются бактерии родов *Vibrio*, *Bacillus*, *Pseudomonas*–*Alteromonas* (Иванова, Михайлов, 1992). Бактерии, ассоциированные с морскими прикрепленными организмами: губками *Spirastrella* sp., *Phyllospongia* sp., *Ircinia* sp., *Aaptos* sp., *Azorica* sp. and *Axinella* sp. и кораллами *Lobophytum* sp. синтезируют высокоактивные протеазы, амилазы и карбоксиметилцеллюлазы. Они могут являться источниками получения этих ферментов. Широкий спектр активности гидролаз обнаружен у бактерий р. *Pseudoalteromonas* и отмечена разница в уровне активности и наборе экзоферментов у штаммов различной видовой принадлежности, а также изолированных из различных мест обитания

2. Техногенные загрязнители

Нефтеоокисляющие микроорганизмы. Частично появление нефтеуглеводородов (НУ) связано с природными процессами, но их концентрация увеличивается во многих береговых экосистемах, как прямое следствие деятельности человека. Микробные сообщества могут трансформировать НУ в промежуточные метаболиты или минерализовать в диоксид углерода и воду. Уровень и протяженность деградации зависит от физико-химических свойств индивидуальных составляющих НУ и их взаимодействия с живыми и неживыми компонентами береговой экосистемы.

Нефтеоокисляющая микрофлора разнообразна, представлена как бактериями, самой многочисленной по генофонду группой, так и грибами, и отличается по активности в разложении нефти и ее углеводородов. Среди нефтеоокисляющих бактерий с высокой активностью можно выделить грамположительные коринеформные бактерии (*Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* и др.), представителей рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*. Что касается нефтеоокисляющих дрожжей, приуроченных, главным образом, к поверхностным слоям вод, то большинство их относится к родам *Candida*, *Rhotorula* и *Trichosporon*, реже активны представители родов *Debaryomyces*, *Endomyces*, *Pichia*, *Torulopsis*. Дрожжи окисляют в основном парафиновую фракцию нефти. В морских и пресноводных экосистемах встречаются практически одинаковые представители, разлагающие углеводороды нефти. Среди мицелиальных грибов наиболее активно окисляют нефть представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* и *Cladosporium*.

Окисление ароматических углеводородов не является свойством рода или вида микроорганизмов, это штаммовый признак. Так, на фоне общего угнетающего действия токсиканта появляются штаммы, способные его расщеплять, которые, вероятно, являются естественными мутантами. Если парафины – субстрат, легко окисляемый нормальными микроорганизмами биоценоза, то ароматические углеводороды окисляются, скорее всего, мутантами, а вовлечение их в круговорот является сложным и болезненным для микробиоценоза процессом.

Высокая численность фенолоокисляющих бактерий может быть связана с деятельностью расположенных на берегу промышленных и портовых комплексов, которые оказывают непосредственное влияние на загрязнение вод фенолами. В урбанизированных районах прибрежная морская среда почти повсеместно загрязнена разнообразными соединениями фенольной природы, такими как моно- и дифенилы, бифенилы, а также их галогенпроизводными, в том числе пестицидами.

Одним из главных источников фенольного загрязнения прибрежной зоны моря зачастую являются лесоперерабатывающие предприятия – фанерные, целлюлозно-бумажные, где основными компонентами сточных вод являются фенол, пирагаллол, ксиленолы, крезолы и т.д. Фенолы в значительном количестве содержатся в каменноугольной смоле и образуются при распаде нефтепродуктов. Фенолы широко используются в промышленности для получения смол, полиамидов, поверхностно-активных веществ, антиоксидантов. В связи с резко возрастающим влиянием бытовых стоков на качество прибрежной среды особое негативное влияние имеют фекальные стеролы. Эти соединения даже в незначительных концентрациях могут вызывать сильные токсические эффекты или гибель морских организмов.

Большое скопление водных растений также является источником естественного метаболитного фенола, поступающего в среду. Уровень чувствительности разных организмов к фенольным соединениям неодинаков. Даже близкородственные особи могут очень отличаться по своей реакции на один и тот же токсикант. Особенно чувствительны к фенольному загрязнению нейстонные организмы, к которым относятся многие популяции морских организмов на ранних стадиях онтогенеза, а также обильное микробное население, играющее важную роль в трансформации органических соединений. Известно, что морская среда самоочищается от фенольного загрязнения. Наиболее активными и часто единственными деструкторами фенола являются микроорганизмы, которые одновременно могут служить индикаторами присутствия данного поллютанта в море. Состав фенолустойчивых бактериальных сообществ морской воды и донных осадков близок к составу микрофлоры активных илов очистных сооружений, адаптированной к продукту дегградации фенола – пирокатехину.

Попадание фенола в водную среду ведет к быстрому формированию в местах сбросов высокоустойчивого бактериального сообщества в воде и донных осадках. В работах Л.М. Кондратьевой и Е.А. Каретниковой (2000) показано, что численность

фенолрезистентных бактерий является индикатором загрязнения водных экосистем фенольными соединениями различного происхождения, однако не может служить критерием самоочищающей способности водных экосистем.

Методы микробной индикации дают возможность выявить и контролировать появление фенолов в морской среде гораздо раньше, чем происходят необратимые токсические эффекты у гидробионтов.

В качестве микроорганизмов-индикаторов фенолсодержащих вод используются грибы *Aspergillus*, *Penicillium*.

Критерии оценки нефтяного и фенольного загрязнения на основании микробных показателей.

Для микробиологических показателей не существует предельно допустимых концентраций, как в химических экологических методах. Но, для того, чтобы дать оценку полученному результату, необходимо сравнивать данные, полученные для исследуемого района, с данными контрольного района (заранее выбранный фоновый, чистый район для сравнительного исследования). Как правило, если нет источника поступления нефти в среду, нет и микроорганизмов, расщепляющих этот субстрат.

Наличие фенол- и углеводородокисляющих бактерий в количествах, превышающих 102-103 клеток/мл, указывает на ту или иную степень загрязнения этими веществами.

Металлоустойчивые микроорганизмы

Настоящими рекордсменами по извлечению металлов из окружающей среды являются микроорганизмы – бактерии, плесени, микроскопические водоросли, обитающие в почве, пресноводных водоемах и морской воде. Плесневые грибы аспергиллы содержат до 0,3% меди – в 30 000 раз больше, чем в окружающей среде. Многие микроорганизмы в больших количествах накапливают уран: пресноводная микроводоросль хлорелла – до 0,4% сухой массы, актиномицеты – до 4,5%, денитрифицирующие бактерии – 14%, а специально отобранные культуры дрожжей или псевдомонад – до 50%. Тяжелые металлы даже в ничтожных концентрациях ядовиты. Проникая в живые клетки, они нарушают их жизнедеятельность, но свое токсическое действие тяжелые металлы проявляют только в виде ионов. Если же их тем или иным способом перевести в связанную форму, то они лишаются токсических свойств. Установлено, что недиссоциированные соли и ионы, образующие комплексы, обычно менее токсичны, чем свободные ионы в тех же концентрациях. Таким образом, металл, отложенный в клеточной стенке в кристаллическом виде или в виде плохо растворимых соединений, оказывается безвредным для микроба.

Тяжелые металлы играют двоякую роль в процессах жизнедеятельности организмов. Mg, Cu, Ni, Zn – важные микроэлементы. Cd, Pb, Sn, Ag, Hg – токсичны. При высокой концентрации все металлы вредны для организма, так как они способны:

1. Изменять конформацию и структуру нуклеиновых кислот, белка,
2. Ингибировать активность ферментов;
3. Влиять на осмотический баланс клетки;
4. Влиять на энергетический баланс клетки.

Известны два пути поступления тяжелых металлов в клетку микроорганизма: неспецифический транспорт по градиенту концентрации и специфический транспорт белка с АТФ. У микроорганизмов существуют специальные механизмы для предотвращения токсического воздействия металлов:

1. Активное выведение или выброс металла из клетки.
2. Снижение поступления металла за счет изменения проницаемости клеточной мембраны. Нарушение синтеза белка порина.
3. Внутриклеточное связывание токсичных металлов, их детоксикация.
4. Внутриклеточная изоляция металлов за счет капсулы.

Для выделения металлоустойчивых микроорганизмов определяют спектр металлов необходимых для эксперимента : Cd, Pb и Ni маркеры техногенного воздействия; Cu и Zn

– комплексного антропогенного действия; Fe – терригенного влияния; Co и Cs – как маркеры возможного радиоактивного загрязнения. В качестве селективных добавок, ингибирующих рост чувствительных форм бактерий, используются растворимые соли металлов – хлориды Cu, Cd, Co, Cs, Ni, Zn, Fe и нитрат Pb.

Уровень индивидуальной устойчивости бактериальных штаммов к ионам тяжелых металлов оценивают на основе определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) соли каждого металла. МИК определяют как наименьшую концентрацию токсиканта в среде, которая при определенных условиях полностью ингибирует рост бактерий

1. 8 Лекция № 8 (2 часа)

Тема: «Биологическое заражение»

1.8.1 Вопросы лекции:

1. Понятие о биологическом заражении
2. Виды биологического заражения

1.8.2 Краткое содержание вопросов:

1. Понятие о биологическом заражении

В результате попадания в окружающую среду опасных биологических средств (авария, случайное заноса возбудителя болезни или применения биологического оружия) и распространения на местности болезнетворных микробов, токсинов, опасных вредителей могут образоваться зоны биологического заражения и очаги биологического поражения.

Биологические средства принадлежат к средствам массового заражения и поражения людей, животных, растений и заражения объектов внешней среды

Зона биологического заражения - это территория, зараженная биологическими возбудителями заболеваний в опасных для людей, животных или растений пределах

Возбудители инфекционных болезней могут распространяться, увеличивая зону заражения, людьми, насекомыми, особенно кровососущими, животными, грызунами, птицами. Заражаться могут люди, сельскохозяйственные животные и птица, дикие звери и птицы, воздух, местность, водоемы, колодцы, резервуары с питьевой водой, фураж, сельскохозяйственные посевы, запасы урожая, продукты питания, техника, производственные помещения пастбища и жилые помещения.

Зона заражения характеризуется видом биологических средств, размерами, расположением относительно объектов хозяйствования, времени образования, степени опасности и изменением со временем. Размеры ячейки биологического заражения зависят от типа, вида болезнетворных микробов или вредителей растений, их количества, условий попадания и размножения в окружающей среде, метеорологических условий, скорости их обнаружения с воечасности проведения профилактических и лечебных мероприятий.

Очаг биологического поражения - это территория, на которой в результате воздействия биологических средств (оружия противника) возникли массовые поражения людей, сельскохозяйственных животных, растений. Он может образоваться не только в зоне заражения, но и за ее пределами, как результат распространения инфекционных заболеваний. Очаг биологического поражения характеризуется видом биологических средств, количеством пораженных людей, тва воды, растений, продолжительности действия повреждающего свойств возбудителей хворосередку пораженииня.

На основе обобщения данных, полученных от санитарно-эпидемиологических станций, ветеринарно-бактериологических лабораторий, станций защиты растений, медицинскими службами гражданской защиты и службами заш сту животных и растений устанавливаются границы зоны биологического заражения и очаги поражения.

Основой ячейки биологического поражения могут быть болезнетворные микробы, их токсины, а также наиболее опасные вредители растений

Действие биологического заражения основано на использовании болезнетворных свойств микроорганизмов (бактерий, риккетсий, грибов, а также вырабатываемых некоторыми бактериями токсинов).

В состав биологического заражения входят рецептуры болезнетворных микроорганизмов.

Основным признаком биологического заражения являются симптомы и проявившиеся признаки массового заболевания людей и животных, опасные для их жизни, что окончательно подтверждается лабораторными исследованиями.

В качестве биологических средств могут быть использованы возбудители различных инфекционных заболеваний: чумы, сибирской язвы, бруцеллеза, сапа, туляремии, холеры, желтой и других видов лихорадки, весенне-летнего энцефалита, сыпного и брюшного тифа, гриппа, малярии, дизентерии, натуральной оспы и др.

Поражения животных наряду с возбудителями сибирской язвы и сапа возможно в результате применения вирусов ящура, чумы рогатого скота и птиц, холеры свиней и др.;

Заражение людей и животных происходит в результате вдыхания зараженного воздуха, попадания микробов или токсинов на слизистую оболочку и поврежденную кожу, употребления в пищу зараженных продуктов питания и воды, укусов зараженных насекомых и клещей, соприкосновения с зараженными предметами, ранения осколками боеприпасов, снаряженных биологическими средствами, а также в результате непосредственного общения с больными людьми (животными). Ряд заболеваний быстро передается от больных людей к здоровым и вызывает эпидемии (чумы, холеры, тифа, гриппа и др.).

2. Виды биологического заражения

К основным средствам защиты населения от биологического заражения относятся: вакцино-сывороточные препараты, антибиотики, сульфамидные и другие лекарственные вещества, используемые для специальной и экстренной профилактики инфекционных болезней, средства индивидуальной и коллективной защиты, используемые для обезвреживания возбудителей химические вещества.

Очагом биологического заражения считаются города, населенные пункты и объекты народного хозяйства, подвергшиеся непосредственному воздействию бактериальных (биологических) средств, создающих источник распространения инфекционных заболеваний. Его границы определяют на основе данных биологической разведки, лабораторных исследований проб из объектов внешней среды, а также выявлением больных и путей распространения возникших инфекционных заболеваний. Вокруг очага устанавливают охрану, запрещают въезд и выезд, а также вывоз имущества.

Для предотвращения распространения инфекционных заболеваний среди населения в очаге поражения проводится комплекс противоэпидемических и санитарно-гигиенических мероприятий:

- экстренная профилактика;
- санитарная обработка населения;
- дезинфекция различных зараженных объектов.

При необходимости уничтожают насекомых, клещей и грызунов (дезинсекция и дератизация).

1. 9 Лекция № 9 (2 часа)

Тема: «Лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению»

1.9.1 Вопросы лекции:

1. Организация и проведение экспертизы проектов национальных стандартов
2. Проведение экспертизы экспертами
3. Проведение экспертизы проектов межгосударственных стандартов
4. Экспертиза проектов стандартов организаций

1.9.2 Краткое содержание вопросов:

1. Организация и проведение экспертизы проектов национальных стандартов

Специализированная экспертиза проекта стандарта: Рассмотрение проекта стандарта определенного вида, для которого необходимо углубленное рассмотрение по одному или нескольким видам экспертизы.

Примечание. Примерами специализированной экспертизы являются экспертиза проекта терминологического стандарта и специализированная метрологическая экспертиза проекта стандарта на методы контроля (испытаний, измерений, анализа).

Эксперт по стандартизации: Специалист, который обладает компетентностью, необходимой для проведения экспертизы стандартов, и имеет сертификат соответствия эксперта в системе добровольной сертификации персонала, зарегистрированной Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии.

Примечание. Для целей настоящего стандарта под экспертами по стандартизации понимаются также специалисты национального органа по стандартизации, члены технических комитетов и специалисты, имеющие длительный опыт работы в организациях, функционирующих в области стандартизации, если эти специалисты уполномочены для осуществления деятельности в качестве экспертов по стандартизации национальным органом по стандартизации в устанавливаемом им порядке.

Передача проекта стандарта в технический комитет

На этапе передачи проекта стандарта от разработчика в технический комитет проводят входной контроль (нормоконтроль).

При этом рассматривают:

- соответствие наименования проекта стандарта наименованию стандарта в Программе (если стандарт включен в данную программу);
- соответствие проекта стандарта требованиям ГОСТ Р 1.5;
- правильность присвоения кодов по ОК (МК (ИСО/ИНФКО МКС) 001-96) 001, ОК 002, ОК 004, ОК 005.
- соответствие предлагаемой даты введения с датами введения взаимосвязанных стандартов;
- наличие опубликованных уведомлений о разработке стандарта и завершении публичного обсуждения проекта стандарта.

Употребляемые в проекте стандарта наименования сырья, материалов и изделий проверяют на соответствие наименованиям данной продукции в действующих в Российской Федерации национальных и межгосударственных стандартах, а также наименования технологических процессов - на соответствие стандартам Единой системы технологической подготовки производства и стандартам, регламентирующим данные технологические процессы.

Проведение экспертизы техническими комитетами

Экспертизу проекта стандарта техническим комитетом проводят на этапе подготовки окончательной редакции проекта стандарта по ГОСТ Р 1.2 (подраздел 4.3). При этом члены технического комитета рассматривают проект стандарта и проводят его научно-техническую экспертизу.

Примечание. В случае отсутствия такого технического комитета его функции выполняет организация, назначенная национальным органом по стандартизации.

В научно-технической экспертизе проекта стандарта могут принять участие (на добровольной основе) члены технического комитета, для которых тематика рассматриваемого проекта стандарта не является объектом их непосредственной деятельности в техническом комитете (другие подкомитеты или рабочие группы), а также организации и физические лица, не являющиеся членами данного комитета.

Если предмет стандартизации затрагивает область деятельности других технических комитетов, ответственные секретари этих технических комитетов имеют право затребовать разрабатываемый стандарт и провести его экспертизу в своих технических комитетах. Результаты этой экспертизы, оформленные в виде сводки замечаний и предложений, должны быть представлены до обсуждения окончательной редакции проекта стандарта техническим комитетом, указанным в Программе, и рассмотрены во время этого обсуждения.

Технический комитет должен стремиться к тому, чтобы по проекту стандарта были приняты решения, устраивающие как всех или большинство членов данного технического комитета, так и разработчика, а также другие заинтересованные организации.

По результатам обсуждения проекта стандарта в техническом комитете разработчик осуществляет корректировку окончательной редакции проекта стандарта и сводки замечаний и предложений. Результаты обсуждения проекта стандарта и голосования по нему отражают в протоколе заседания технического комитета.

Передача проекта стандарта в национальный орган по стандартизации

При передаче проекта стандарта в национальный орган по стандартизации секретариат технического комитета (организация, которой поручено проведение экспертизы) готовит заключение об утверждении или отклонении проекта стандарта, которое подписывают председатель и ответственный секретарь технического комитета (руководитель организации). Данное заключение передают в национальный орган по стандартизации вместе с проектом стандарта и другими документами, перечень которых определен ГОСТ Р 1.2.

При необходимости национальный орган по стандартизации может организовать проведение любой дополнительной экспертизы проекта стандарта.

2. Проведение экспертизы экспертами

Проведение экспертизы экспертами (организациями)

Разработчик представляет заявку на разработку национального стандарта в Программу разработки национальных стандартов (далее - Программа) и при этом указывает технический комитет для экспертизы проекта стандарта.

Технический комитет с начала разработки проекта стандарта назначает по согласованию с разработчиком эксперта по стандартизации (далее - эксперт), а также, при необходимости, организацию для проведения специализированной экспертизы. В случае необходимости назначаются экспертизы специализированных видов. В случае затруднения с выбором технического комитета и/или эксперта, например, по причине их отсутствия для данной области стандартизации, национальный орган по стандартизации выбирает один из вариантов:

- назначает эксперта в близкой области стандартизации;
- назначает с участием разработчика для проведения экспертизы организацию из близкой области стандартизации.

В случае, если секретариат (ответственный секретарь) технического комитета является разработчиком стандарта, то эксперта (организацию) для проведения экспертизы назначает национальный орган по стандартизации.

Национальный орган по стандартизации проверяет обоснованность выбора технического комитета (соответствие области и предмета стандартизации). Национальный орган по стандартизации имеет право самостоятельно назначить дополнительных экспертов (организации) для экспертизы любого вида, определив при этом источник финансирования данных работ. Назначение дополнительных экспертов может быть осуществлено на любом этапе разработки стандарта.

Эксперт (организация) принимает участие в рассмотрении проекта стандарта с начала его разработки, обеспечивая, по возможности, единые сроки научно-технической экспертизы и экспертизы других видов, чтобы разработчик мог учесть все замечания до обсуждения окончательной редакции проекта стандарта техническим комитетом. Замечания эксперта (организации) и реакция разработчика на эти замечания, так же, как и на замечания членов технического комитета, других технических комитетов, других юридических и физических лиц должны быть отражены в сводке замечаний и предложений на проект стандарта, которую составляет разработчик стандарта в соответствии с ГОСТ Р 1.2 (приложение А).

Эксперт (организация) проводит экспертизу стандарта в соответствии с правилами, приведенными в разделе 8.

Результатом экспертизы проекта стандарта является заключение о возможности утверждения национального стандарта. Эксперт (организация, которой поручено проведение экспертизы) готовит данное заключение по форме, приведенной в Приложении А. Заключение подписывает эксперт или руководитель организации, проводившей экспертизу.

3. Проведение экспертизы проектов межгосударственных стандартов

Экспертизу проекта межгосударственного стандарта осуществляют до его размещения в Системе электронного голосования или отправки проекта стандарта на голосование в другие страны-участницы Соглашения о проведении согласованной политики в области стандартизации, метрологии и сертификации (далее - страны-участницы Соглашения). При этом экспертизу проекта межгосударственного стандарта проводят так же, как в отношении проекта национального стандарта (см. раздел 5), за исключением того, что первую редакцию проекта межгосударственного стандарта дополнительно направляют в соответствии с [ГОСТ Р 1.8](#) на рассмотрение также другим странам - участникам Соглашения.

Если в процессе голосования стран-участниц Соглашения по проекту межгосударственного стандарта получены замечания технического характера, то окончательная редакция данного проекта, доработанная с учетом этих замечаний, подлежит повторной экспертизе с участием членов технического комитета.

4. Экспертиза проектов стандартов организаций

Экспертизу проекта стандарта организации в техническом комитете осуществляют в соответствии с [ГОСТ Р 1.4](#) (пункт 4.15) по желанию данной организации.

Порядок организации и проведения экспертизы проекта стандарта организации определяют в договоре между организацией, ведущей секретариат технического комитета, и организацией, утверждающей данный стандарт, или организацией, разработавшей его проект.

1. 10 Лекция № 10 (2 часа)

Тема: «Химико-токсикологические исследования мяса, мясопродуктов, молока и меда»

1.10.1 Вопросы лекции:

1. Методы определения остаточных количеств фосфор – органических пестицидов в продуктах животноводства
2. Выявление фосфорорганических пестицидов, хлорорганических пестицидов и карбонатов
3. Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах
4. Методика определения нитратов и нитритов в мясе (мясопродуктах) и молоке

1.10.2 Краткое содержание вопросов:

1. Методы определения остаточных количеств фосфор – органических пестицидов в продуктах животноводства

Поиск оптимальных методов анализа пестицидов – одна из важнейших проблем аналитической химии. С современных позиций к ним, в первую очередь, относятся капиллярная газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). Эти методы обладают высокой разделяющей способностью, необходимой при анализе многокомпонентных образцов, и высокой чувствительностью, позволяющей определять пестициды на уровне концентраций 1 мкг/дм^3 и ниже.

Выбор конкретного метода анализа во многом определяется самой аналитической задачей. К типичным задачам можно отнести следующие:

- определение пестицидов на разных стадиях их производства, приготовления готовых форм, при их хранении;
- определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, в почве и в природных водах;
- определение пестицидов в биологических образцах;
- определение пестицидов в продуктах питания, в атмосфере, в питьевой воде.

Две последние задачи являются наиболее сложными, так как они требуют одновременного определения не заведомо известных веществ, а набора соединений из всего списка применяемых на практике пестицидов, количество которых превышает 1000 названий. Задачи такого типа иногда называют скриннинговыми. Их решают, главным образом, с помощью метода ГХ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС), когда идентификация пестицидов осуществляется по заранее созданной библиотеке масс-спектров.

Учитывая большое разнообразие пестицидов при выборе методов их определения предпочтение, очевидно, надо отдавать «универсальным» методикам. Лаборатория, работающая по принципу «для каждого вещества свой метод анализа», может обеспечить высокую производительность лишь только по отношению к относительно малому количеству веществ. Переход от одной группы пестицидов к другой требует больших затрат времени на перестройку и калибровку приборов, приготовление стандартов и пр. Рассматривая химико-аналитические методы с точки зрения их «универсальности» по отношению к анализу пестицидов, можно сделать следующие замечания.

Метод ТСХ достаточно чувствительный и простой в исполнении, однако в силу своей относительно невысокой разрешающей способности «универсальным» быть не может.

Метод ГХ обладает очень высокой разрешающей способностью, но его применение ограничивается термической лабильностью ряда пестицидов и необходимостью

привлекать различные способы химической дериватизации многих пестицидов для повышения их летучести.

Метод капиллярного электрофореза, имея высокую разрешающую способность, не обеспечивает приемлемую концентрационную чувствительность и требует весьма высокую степень концентрирования образца, что часто нельзя осуществить из-за ограниченной растворимости пестицидов.

Метод ВЭЖХ обеспечивает для решения многих задач достаточное разрешение, не требует, как правило, предварительной дериватизации и пригоден для анализа термолабильных пестицидов. В сочетании с ГХ он позволяет решить практически все задачи, и именно эти два метода нашли наибольшее распространение в современной экологической аналитической химии.

Пестициды, как уже говорилось, отнесены к приоритетным экотоксикантам, и поэтому, должны находиться под постоянным контролем в объектах окружающей среды. Мониторинг пестицидов предусматривает их количественное определение в широком интервале концентраций, включающем уровень фона. Среди методов анализа, которые применимы к определению пестицидов, в первую очередь относятся высокоэффективные варианты газовой и жидкостной хроматографии.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых информативных аналитических методов. Он широко используется во всех развитых странах, но, по сравнению с другими физико-химическими методами анализа, требует весьма высокой квалификации персонала, а стоимость одного анализа достигает нескольких десятков и даже сотен долларов США. Таким образом, упрощение самой процедуры ВЭЖХ-анализа и снижение ее стоимости предоставляется важной задачей.

Указанные недостатки ВЭЖХ обусловлены тем, что для каждого пестицида (или группы пестицидов) нормативные документы регламентируют свой «уникальный» вариант ВЭЖХ-анализа. Это приводит к необходимости часто перестраивать хроматограф, что занимает много времени и требует определенного опыта. Кроме того, аналитическая лаборатория, выполняющая анализы с привлечением многих разных методик, вынуждена содержать целый склад дорогостоящих колонок, органических растворителей и стандартных образцов пестицидов.

К пестицидам, определяемым в мировой практике методом ВЭЖХ, относятся труднелетучие и термолабильные соединения. К ним относятся атразин, симазин, хлорпрофам, линурон, хлортолурон, алахлор, трифлюоалин.

В анализе пестицидов используются особые методы пробоподготовки, которые представляется полезным рассмотреть более подробно.

Жидко-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) – классический способ извлечения пестицидов из водных образцов. Обычно проводят повторяющуюся несколько раз экстракцию из 500–1000 мл водного образца в делительной воронке. Наиболее популярным растворителем является дихлорметан. Он способен экстрагировать соединения с различной полярностью и легко упаривается. Методы Агентства по охране окружающей среды США (EPA US) 8120 и 8140 используют ЖЖЭ с помощью дихлорметана для определения в воде 15 хлорорганических и 21 фосфорорганических пестицидов. Для извлечения гербицидов – производных карбоновых кислот – исходную воду подкисляют до $pH < 2$ и затем экстрагируют неионизованные молекулы диэтиловым эфиром или дихлорметаном.

Классическая ЖЖЭ трудно автоматизируется, требует больших объемов токсичных растворителей и весьма продолжительна по времени. Разделению слоев растворителей при анализе сильно загрязненных вод часто мешает образование устойчивых эмульсий. В таких случаях рекомендуют одиночную длительную ЖЖЭ делительной воронке объемом 1 л с растворителем, тяжелее воды.

Хотя классическая ЖЖЭ имеет много недостатков, она продолжает совершенствоваться. Так появилась микроЖЖЭ, разработанная как альтернативный метод

для определения гербицида алахлор и двух его метаболитов. Принцип микроЖЖЭ – экстракция из большого объема воды (400 мл) очень маленьким объемом растворителя (500 мкл толуола) – может быть применена в качестве подготовки пробы для анализа методом ГХ без стадии испарения, что важно для определения высоколетучих соединений. В сравнении с твердофазной экстракцией этот метод подготовки пробы быстрее и дешевле.

Большое число разных гербицидов (фенилмочевины, триазины, динитроанилины, хлорацетамиды и урацилы) экстрагируют из пищевых продуктов механическим встряхиванием или гомогенизацией с органическими растворителями, такими как метанол, ацетонитрил, часто смешанными с водой дихлорметаном или этилацетатом, иногда при кислом значении pH.

Высокополярные гербициды, такие как глифосат, нерастворимы в большинстве органических растворителей и их экстрагируют водой или водой с хлороформом, иногда при кислом значении pH. При этой процедуре другие растворимые в воде компоненты (аминокислоты, аминоксахара и др.) экстрагируются также. Их присутствие мешает определению глифосатов и делает необходимой очистку экстрактов, которая чаще всего осуществляется на ионообменных хроматографических колонках.

Бипиридиновые пестициды (дикват и паракват – четвертичные аммониевые соединения) обычно экстрагируют из матриц дефлегмацией или нагреванием с серной или с соляной кислотами, после чего проводят твердо-фазную экстракцию и хроматографию.

Твердофазная экстракция (ТФЭ) как метод подготовки образцов известна уже 50 лет. Ее преимущества: экономия времени и растворителей, исключение опасности образования эмульсий, возможность выделения следовых количеств аналита, возможность автоматизации. Особенно часто ТФЭ применяют при анализе природных вод.

ТФЭ активно применяют для определения триазиновых пестицидов и продуктов их распада – гидроксид-с-триазинов, гербицидов – производных мочевины, *N*-метилкарбаматов и их полярных метаболитов, хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов, полярных пестицидов пиретроидов, триазольных и пиримидиновых пестицидов. Разработаны методы ТФЭ многокомпонентных смесей, включающие большое число пестицидов различных классов. Для повышения эффективности экстракции полярных пестицидов иногда применяют колонки со смесью двух сорбентов, например фаз C18 и Фенил.

При ТФЭ кислот на фазах C18 для уменьшения потерь раствор образца целесообразно подкислить до pH<2. Для ТФЭ неионных соединений иногда применяют графитированные сорбенты и фазы, представляющие собой макросетчатые стирол-дивинилбензолные полимеры. Для пестицидов триазиновой группы, производных мочевины и группы феноксикислот успешно используют картриджи с активированной графитированной сажей *Carbopack B*, ионообменные смолы в ацетатной форме и фазу пропилен-NH₂. Для ТФЭ фосфорорганических пестицидов применяют мембранные диски из полистирол-дивинилбензола типа «XAD».

Сверхкритическая жидкостная экстракция (СКЖЭ) является относительно новым методом, применяемым для извлечения веществ с помощью специальных экстрагентов – «сверхкритических» жидкостей. Такими экстрагентами могут быть жидкие CO₂, NH₃, пропан, бутан и др. Перечисленные газы переходят в жидкое состояние при высоких давлениях, поэтому СКЖЭ проводят в автоклавах. После окончания экстракции давление в автоклавах сбрасывают до атмосферного, газ-экстрагент улетает, и в автоклаве остаются только экстрагированные вещества. Их растворяют в подходящих растворителях и растворы анализируют.

СКЖЭ используется главным образом для анализа различных классов пестицидов в почвах, тканях животных и растений. Регулируют эффективность экстракции путем добавок к экстрагенту других растворителей. Наиболее распространенный соразтворитель, добавляемый к углекислоте – метанол. Его добавление позволяет

преодолеть матричные эффекты, когда пестициды, прочно связанные с матрицей, чистой углекислотой не экстрагируются. Кроме этого, добавка метанола или ацетона повышает растворимость в углекислоте полярных соединений.

Прямая СКЖЭ редко используется для экстракции аналитов из водной матрицы. Ограничение метода связано с проблемой образования льда и с проблемой удаления воды. По окончании пробоподготовки количественное определение пестицидов осуществляют методом ВЭЖХ и часто с УФ-детектором.

2. Выявление фосфорорганических пестицидов, хлорорганических пестицидов и карбонатов

ПРОДУКТЫ, ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ

Фосфорорганические препараты при воздействии высокой температуры частично или полностью разрушаются. В первые часы (1 - 2) после обработки растений и, в меньшей мере, позднее они могут быть смыты водой. Фрукты, ягоды могут быть переработаны на варенье, повидло, джемы, сухофрукты после предварительного мытья. Фрукты, содержащие остаточные количества фосфорорганических пестицидов, превышающие ДОК в 3 - 4 раза, перед переработкой освобождаются от кожуры. Продукты, содержащие остатки фозалона, во всех случаях подлежат предварительной очистке от кожуры.

Не рекомендуется изготовление мармелада из плодов и ягод, содержащих остатки фосфорорганических пестицидов в количествах, превышающих ДОК в 3 - 4 раза, так как используемая при этом кратковременная термическая обработка недостаточна для их разрушения. Овощи могут быть переработаны на консервы, подвергающиеся стерилизации.

Ввиду того, что метафос, хлорофос, тиофос длительно сохраняются в кислой среде, капусту и другие овощи с наличием остатков указанных препаратов, превышающих допустимые, не рекомендуется использовать для квашения и маринования.

В связи с тем, что фосфорорганические пестициды в больших количествах накапливаются в кожуре citrusовых, последние могут перерабатываться только после очистки от кожуры (запрещается прессовать плоды citrusовых с наличием больших остатков пестицидов для получения соков без предварительного освобождения от кожуры). Запрещается использование кожуры в кондитерском производстве (цукаты, цедра и др.).

Зерно, содержащее остаточные количества фосфорорганических пестицидов, должно быть подвергнуто тщательному проветриванию, а в дальнейшем может подсортироваться с целью доведения остаточных количеств до допустимых норм. Перед реализацией зерно должно повторно исследоваться.

Зерно и мука могут быть использованы также для выпечки хлебобулочных изделий.

При случайном загрязнении мяса большими количествами фосфорорганических пестицидов (превышающих ДОК в 3 - 4 раза) оно не может быть реализовано через торговую сеть. Можно использовать его для изготовления вареных колбас, технология производства которых требует высокой температуры.

Молоко, содержащее хлорофос, может быть использовано в питании после кипячения.

ПРОДУКТЫ, ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ

Следует иметь в виду, что хлорорганические пестициды стойки к воздействию высокой температуры, практически нерастворимы в воде, что значительно затрудняет, а чаще делает невозможным полное освобождение пищевых продуктов от их остатков.

Фрукты и ягоды, в которых остаточные количества хлорорганических пестицидов превышают ДОК, могут быть переработаны на соки и вино. Почти все количество хлорорганических препаратов остается в мезге.

Яблоки и груши могут быть также использованы для приготовления повидла, варенья, джема, сухофруктов после предварительной очистки от кожуры, в которой содержится основное количество пестицидов.

Плоды косточковых не перерабатываются на сухофрукты, так как не могут быть освобождены от кожуры. Падалица яблок, виноград, ягоды малины и клубники могут быть использованы только для переработки на вино. Падалица плодов также используется после удаления кожуры для изготовления повидла и джема.

Мезга плодов и ягод не должна использоваться в качестве корма для скота.

Лиственные овощи, зеленый лук, петрушка, загрязненные хлорорганическими пестицидами, не должны употребляться в питании. Капуста, остаточные количества ДДТ в которой концентрируются в наружных листьях, может быть использована в питании после удаления 4 - 8 наружных листьев.

Картофель, загрязненный хлорорганическими пестицидами, может быть переработан на технический крахмал, технический спирт и применяться в качестве посевного материала.

Морковь не может перерабатываться на соки и консервы, предназначенные для детского и диетического питания.

Она может быть использована в качестве подсортировки к консервам (овощным, рыбным), подлежащим стерилизации.

Зерно, в порядке исключения, может быть переработано на высшие сорта муки (основное количество хлорорганических пестицидов концентрируется в отрубях). Зерно, значительно (см. разд. VII) загрязненное хлорорганическими пестицидами, может быть использовано лишь для технических целей (технический спирт, технический крахмал, клей), а также в качестве посевного материала.

Молоко может быть переработано на тощий творог, тощий кефир, обезжиренное сухое и сгущенное молоко. Сливки и сливочное масло, в которых остаточные количества хлорорганических пестицидов превышают допустимые, могут быть использованы в кондитерских и в других изделиях с таким расчетом, чтобы в готовой продукции остатки их не превышали допустимые в других продуктах. В противном случае они могут быть использованы только для технических целей.

Небольшие партии мяса, содержащие хлорорганические пестициды, могут быть использованы в качестве подсортировки для изготовления колбасных изделий.

Рыба, в которой обнаружены хлорорганические пестициды в количествах, не более чем в 4 раза превышающих ДОК, может быть использована для подсортировки к рыбным и овощным консервам.

Яйца с наличием хлорорганических пестицидов могут быть использованы в кондитерском производстве.

3. Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах

Принцип метода. Метод основан на деструкции анализируемой пробы смесью азотной и серной кислот в присутствии этилового спирта и дальнейшем определении ртути колориметрическим способом или при помощи тонкослойной хроматографии.

Колориметрическое определение основано на осаждении ртути йодидом меди или на экстракции ее дитизоном и последующем визуальном колориметрическом определении в виде тетраयोмеркуроата меди путем сравнения со стандартной шкалой.

Диапазон определения концентраций 0,25-2,00 мкг в колориметрируемом объеме. Предел обнаружения 0,25 мкг, или 0,125 мг/кг.

Метрологическая характеристика колориметрического метода определения общей ртути, основанного на осаждении ее из деструктата йодидом меди

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В склянку с деструктатом добавляют при помешивании раствор марганцовокислого калия в количестве, обеспечивающем полное

окисление исследуемого образца (от 15 до 20 см³), или примерно 1 г порошка (раствор должен приобрести коричневую окраску) и оставляют пробу на 5-10 мин.

Для удаления избытка марганцовокислого калия к пробе добавляют не менее 5 см³ раствора или несколько кристаллов гидроксилamina гидрохлорида (раствор должен стать совершенно прозрачным).

Если при анализе происходит вспенивание образца, для гашения пены перед добавлением двухлористого олова в склянку вносят одну каплю силиконового масла.

В склянку приливают 5 см³ раствора двухлористого олова и сразу вводят барботер (аэратор). Ртуть, испаряясь, циркулирует по системе аэратора. Количество ее определяется по шкале прибора при длине волны 253,7 нм.

ПОДГОТОВКА ПРОБ. 200-250 г исследуемого продукта тщательно измельчают (зерновые размалывают) и перемешивают. Пиво перед деструкцией освобождают от двуокси углерода, для чего 250-300 см³ пива наливают в коническую колбу вместимостью 1000 см³, доводят до температуры (20±1) °С на водяной бане, закрывают пробкой с одним отверстием, через которое пропущена трубка для выхода газа, закрепляют в аппарате для встряхивания и встряхивают в течение 20-30 мин.

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В колбу с охлажденным деструктатом, приготовленным добавляют взвеси йодида меди. Содержимое колбы перемешивают три раза с интервалом 5 мин и оставляют до полного осаждения осадка. Если образующийся осадок окрашен в ярко-розовый или кирпично-красный цвет, что свидетельствует о содержании ртути в образце более 25 мкг, добавляют еще 15 см³ и продукты пищевые йодида меди или анализ повторяют, уменьшив навеску образца, соответственно уменьшают и количество реактивов для деструкции.

Через 1 ч максимально возможную часть надосадочной жидкости сливают, стараясь не взмутить осадок, и отбрасывают. К осадку добавляют 15 см³ раствора сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³, взбалтывают и переносят на увлажненный водой однослойный бумажный фильтр ("синяя лента"), плотно уложенный в воронку диаметром не более 35 мм. Края фильтра должны выступать из воронки не более чем на 5 мм. Колбу из-под осадка несколько раз ополаскивают раствором сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³ и сливают на тот же фильтр с тем, чтобы весь осадок был перенесен на фильтр.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Цвет осадка	Примерное содержание ртути в образце, мкг	Объем раствора йода концентрации 3,5 г/дм для растворения ртути, см	Аликвотный объем, взятый для колориметрирования, см
Белый	0,0-0,5	6,0	6,0
Белый	0,5-5,0	10,0	3,0 и 6,0
Белый с розовым оттенком	5,0-15,0	15,0	0,5; 1,0 или 2,0
Бледно-розовый	15,0-25,0	25,0	0,5; 1,0 или 2,0
Ярко-розовый	Более 25,0	25,0	0,5 и 1,0

4. Методика определения нитратов и нитритов в мясе (мясопродуктах) и молоке

Определение нитратов и нитритов в молоке колориметрическим методом

Принцип метода основан на восстановлении нитратов в нитриты цинком с последующим фотометрическим измерением интенсивности окраски комплекса, образующегося при взаимодействии нитритов с сульфаниловой кислотой и α -нафтиламином. Поскольку количество нитритов в молоке обычно незначительное, они определяются в сумме с нитратами. Содержание нитрат-ионов (мг в 1 дм³) устанавливают по градуировочному графику.

Построение градуировочного графика. В шесть колб объемом 200-250 см³ внести цилиндром по 80 см³ одного и того же молока и затем в каждую из колб добавить дистиллированную воду, стандартный раствор азотнокислого натрия и растворы сернокислого цинка, железистосинеродистого калия и гидроокиси аммония в объемах и очередности, указанных в таблице 1.

Таблица 1 – Данные для построения градуировочного графика

№ колбы	Объем молока, см ³	Объем добавленных к молоку реактивов, см ³						Примечание
		Вода дистил.	станд. р-р азотно-кисл. цинка, см ³	р-р серно-кисл. цинка, см ³	р-р железисто синеродист. К, см ³	р-р гидро-окиси аммония см ³	добавлен. к-во NO ₃ в 1 дм ³ молока, мг	
1	80	93,0	0,0	12	12	3	-	Контрол. проба
2	80	90,5	2,5	12	12	3	0,63	Рабоч. проба
3	80	88,0	5,0	12	12	3	1,25	
4	80	83,0	10,0	12	12	3	2,50	
5	80	78,0	15,0	12	12	3	3,75	
6	80	73,0	20,0	12	12	3	5,00	

После добавления каждого реактива содержимое колб вручную перемешивают круговыми движениями. Полученные стандартные смеси молока с реактивами фильтруют в конические колбы вместимостью 200-250 см³ до получения прозрачного фильтрата. Для восстановления нитратов в нитриты отбирают по 7 см³ полученных фильтратов в пробирки с притертыми пробками, добавляют 3 см³ 20%-го раствора уксусной кислоты и 0,3 г рабочего реактива для определения нитратов. Пробирки закрывают пробками и в течение 1 мин перемешивают, затем оставляют на 5 мин для развития окраски.

Затем содержимое пробирок необходимо профильтровать через бумажный фильтр. Измеряют оптическую плотность фильтрата с зеленым светофильтром на фотоэлектроколориметре или на спектрофотометре при длине волны 538 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Окраска устойчива в течение 5- 20 мин. Величину оптической

плотности окрашенных растворов стандартных смесей молока с реактивами определяют по отношению к раствору контрольной пробы. По полученным данным строят на миллиметровой бумаге 25х25 см градуировочный график. На оси абсцисс откладывают содержание нитрат-ионов, мг/дм³, на оси ординат соответствующие оптической плотности.

Проведение анализа. В колбу объемом 200-250 см³ отмеривают цилиндром 80 см³ исследуемого молока и 93 см³ дистиллированной воды, бюретками – по 12 см³ растворов сернокислого цинка и калия железистосинеродистого, 3 см³ раствора гидроокиси аммония. Смесь перемешивают после добавления каждого реактива круговыми движениями. Полученную смесь фильтруют до получения прозрачного фильтрата. Затем из фильтрата отбирают 7 см³ образца. Далее анализ проводят, как указано выше (см. построение градуировочного графика).

Одновременно готовится холостая проба с использованием 173 см³ дистиллированной воды и тех же количеств реактивов и операций.

Величину оптической плотности окрашенного раствора пробы молока измеряют на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм по отношению к раствору холостой пробы.

Анализ проводят в двух параллельных пробах. Для каждой пробы снимают 2-3 показателя спектрофотометра и вычисляют среднее арифметическое результатов.

Обработка результатов. Содержание нитрат-ионов в 1 дм³ анализируемого молока устанавливают по градуировочному графику на основании полученной величины оптической плотности при колориметрировании окрашенного раствора анализируемой пробы по отношению к холостой пробе раствора.

Материалы и реактивы. Стандартный раствор азотнокислого натрия (растворить 0,2741 г азотнокислого натрия в 100 см³ дистиллированной воды), в день использования 10 см³ этого раствора разбавить 20% раствором уксусной кислоты до 1000 см³ в мерной колбе. В полученном растворе содержится 20 мкг нитрат-ионов; раствор сернокислого цинка (растворить 267,5 г ZnSO₄·7H₂O в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 500 см³); раствор калия железистосинеродистого (растворить 86 г калия железистосинеродистого в дистиллированной воде в мерной колбе 500 см³); 20% раствор уксусной кислоты; раствор гидроокиси аммония (смешать 80 см³ 25% гидроокиси аммония с 20 см³ дистиллированной воды); рабочий раствор для определения нитратов (смешать 100 г сернокислого бария, 10 г сернокислого марганца, 2 г цинковой пыли, 75 г лимонной кислоты, 4 г сульфаниловой кислоты, 2 г α - нафтиламина), готовить за 4 дня до анализа; пипетки, стеклянные воронки, стеклянные палочки, пробирки с притёртыми пробками, конические колбы на 200-250 см³, мерные колбы 1000 см³, спектрофотометр.

1. 11 Лекция № 11 (2 часа)

Тема: «Понятие о биологической чрезвычайной ситуации»

1.11.1 Вопросы лекции:

1. Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах.
2. Место определения фосфорорганических пестицидов с помощью тонкослойной хроматографии
3. Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.
4. Ветеринарно- санитарное исследование солонины и солено- копченых изделий на свежесть

1.11.2 Краткое содержание вопросов:

1. Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах.

Принцип метода. Метод основан на деструкции анализируемой пробы смесью азотной и серной кислот в присутствии этилового спирта и дальнейшем определении ртути колориметрическим способом или при помощи тонкослойной хроматографии.

Колориметрическое определение основано на осаждении ртути йодидом меди или на экстракции ее дитизоном и последующем визуальном колориметрическом определении в виде тетрайодомеркуроата меди путем сравнения со стандартной шкалой.

Диапазон определения концентраций 0,25-2,00 мкг в колориметрируемом объеме. Предел обнаружения 0,25 мкг, или 0,125 мг/кг.

Метрологическая характеристика колориметрического метода определения общей ртути, основанного на осаждении ее из деструктата йодидом меди

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В склянку с деструктатом добавляют при помешивании раствор марганцовокислого калия в количестве, обеспечивающем полное окисление исследуемого образца (от 15 до 20 см³), или примерно 1 г порошка (раствор должен приобрести коричневую окраску) и оставляют пробу на 5-10 мин.

Для удаления избытка марганцовокислого калия к пробе добавляют не менее 5 см³ раствора или несколько кристаллов гидроксиламина гидрохлорида (раствор должен стать совершенно прозрачным).

Если при анализе происходит вспенивание образца, для гашения пены перед добавлением двухлористого олова в склянку вносят одну каплю силиконового масла.

В склянку приливают 5 см³ раствора двухлористого олова и сразу вводят барботер (аэратор). Ртуть, испаряясь, циркулирует по системе аэратора. Количество ее определяется по шкале прибора при длине волны 253,7 нм.

ПОДГОТОВКА ПРОБ. 200-250 г исследуемого продукта тщательно измельчают (зерновые размалывают) и перемешивают. Пиво перед деструкцией освобождают от двуокиси углерода, для чего 250-300 см³ пива наливают в коническую колбу вместимостью 1000 см³, доводят до температуры (20±1) °С на водяной бане, закрывают пробкой с одним отверстием, через которое пропущена трубка для выхода газа, закрепляют в аппарате для встряхивания и встряхивают в течение 20-30 мин.

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В колбу с охлажденным деструктатом, приготовленным добавляют взвеси йодида меди. Содержимое колбы перемешивают три раза с интервалом 5 мин и оставляют до полного осаждения осадка. Если образующийся осадок окрашен в ярко-розовый или кирпично-красный цвет, что свидетельствует о содержании ртути в образце более 25 мкг, добавляют еще 15 см³ и продукты пищевые йодида меди или анализ повторяют, уменьшив навеску образца, соответственно уменьшают и количество реактивов для деструкции.

Через 1 ч максимально возможную часть надосадочной жидкости сливают, стараясь не взмутить осадок, и отбрасывают. К осадку добавляют 15 см³ раствора сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³, взбалтывают и переносят на увлажненный водой однослойный бумажный фильтр ("синяя лента"), плотно уложенный в воронку диаметром не более 35 мм. Края фильтра должны выступать из воронки не более чем на 5 мм. Колбу из-под осадка несколько раз ополаскивают раствором сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³ и сливают на тот же фильтр с тем, чтобы весь осадок был перенесен на фильтр.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Цвет осадка	Примерное содержание ртути в образце, мкг	Объем раствора йода концентрации 3,5 г/дм для растворения ртути, см	Аликвотный объем, взятый для колориметрирования, см

Белый	0,0-0,5	6,0	6,0
Белый	0,5-5,0	10,0	3,0 и 6,0
Белый с розовым оттенком	5,0-15,0	15,0	0,5; 1,0 или 2,0
Бледно-розовый	15,0-25,0	25,0	0,5; 1,0 или 2,0
Ярко-розовый	Более 25,0	25,0	0,5 и 1,0

2. Место определения фосфорорганических пестицидов с помощью тонкослойной хроматографии

Поиск оптимальных методов анализа пестицидов – одна из важнейших проблем аналитической химии. С современных позиций к ним, в первую очередь, относятся капиллярная газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). Эти методы обладают высокой разделяющей способностью, необходимой при анализе многокомпонентных образцов, и высокой чувствительностью, позволяющей определять пестициды на уровне концентраций 1 мкг/дм^3 и ниже.

Выбор конкретного метода анализа во многом определяется самой аналитической задачей. К типичным задачам можно отнести следующие:

- определение пестицидов на разных стадиях их производства, приготовления готовых форм, при их хранении;
- определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, в почве и в природных водах;
- определение пестицидов в биологических образцах;
- определение пестицидов в продуктах питания, в атмосфере, в питьевой воде.

Две последние задачи являются наиболее сложными, так как они требуют одновременного определения не заведомо известных веществ, а набора соединений из всего списка применяемых на практике пестицидов, количество которых превышает 1000 названий. Задачи такого типа иногда называют скрининговыми. Их решают, главным образом, с помощью метода ГХ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС), когда идентификация пестицидов осуществляется по заранее созданной библиотеке масс-спектров.

Учитывая большое разнообразие пестицидов при выборе методов их определения предпочтение, очевидно, надо отдавать «универсальным» методикам. Лаборатория, работающая по принципу «для каждого вещества свой метод анализа», может обеспечить высокую производительность лишь только по отношению к относительно малому количеству веществ. Переход от одной группы пестицидов к другой требует больших затрат времени на перестройку и калибровку приборов, приготовление стандартов и пр. Рассматривая химико-аналитические методы с точки зрения их «универсальности» по отношению к анализу пестицидов, можно сделать следующие замечания.

Метод ТСХ достаточно чувствительный и простой в исполнении, однако в силу своей относительно невысокой разрешающей способности «универсальным» быть не может.

Метод ГХ обладает очень высокой разрешающей способностью, но его применение ограничивается термической лабильностью ряда пестицидов и необходимостью

привлекать различные способы химической дериватизации многих пестицидов для повышения их летучести.

Метод капиллярного электрофореза, имея высокую разрешающую способность, не обеспечивает приемлемую концентрационную чувствительность и требует весьма высокую степень концентрирования образца, что часто нельзя осуществить из-за ограниченной растворимости пестицидов.

Метод ВЭЖХ обеспечивает для решения многих задач достаточное разрешение, не требует, как правило, предварительной дериватизации и пригоден для анализа термолабильных пестицидов. В сочетании с ГХ он позволяет решить практически все задачи, и именно эти два метода нашли наибольшее распространение в современной экологической аналитической химии.

Пестициды, как уже говорилось, отнесены к приоритетным экотоксикантам, и поэтому, должны находиться под постоянным контролем в объектах окружающей среды. Мониторинг пестицидов предусматривает их количественное определение в широком интервале концентраций, включающем уровень фона. Среди методов анализа, которые применимы к определению пестицидов, в первую очередь относятся высокоэффективные варианты газовой и жидкостной хроматографии.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых информативных аналитических методов. Он широко используется во всех развитых странах, но, по сравнению с другими физико-химическими методами анализа, требует весьма высокой квалификации персонала, а стоимость одного анализа достигает нескольких десятков и даже сотен долларов США. Таким образом, упрощение самой процедуры ВЭЖХ-анализа и снижение ее стоимости предоставляется важной задачей.

Указанные недостатки ВЭЖХ обусловлены тем, что для каждого пестицида (или группы пестицидов) нормативные документы регламентируют свой «уникальный» вариант ВЭЖХ-анализа. Это приводит к необходимости часто перестраивать хроматограф, что занимает много времени и требует определенного опыта. Кроме того, аналитическая лаборатория, выполняющая анализы с привлечением многих разных методик, вынуждена содержать целый склад дорогостоящих колонок, органических растворителей и стандартных образцов пестицидов.

К пестицидам, определяемым в мировой практике методом ВЭЖХ, относятся труднелетучие и термолабильные соединения. К ним относятся атразин, симазин, хлорпрофам, линурон, хлортолурон, алахлор, трифлюоалин.

В анализе пестицидов используются особые методы пробоподготовки, которые представляется полезным рассмотреть более подробно.

Жидко-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) – классический способ извлечения пестицидов из водных образцов. Обычно проводят повторяющуюся несколько раз экстракцию из 500–1000 мл водного образца в делительной воронке. Наиболее популярным растворителем является дихлорметан. Он способен экстрагировать соединения с различной полярностью и легко упаривается. Методы Агентства по охране окружающей среды США (EPA US) 8120 и 8140 используют ЖЖЭ с помощью дихлорметана для определения в воде 15 хлорорганических и 21 фосфорорганических пестицидов. Для извлечения гербицидов – производных карбоновых кислот – исходную воду подкисляют до $pH < 2$ и затем экстрагируют неионизованные молекулы диэтиловым эфиром или дихлорметаном.

Классическая ЖЖЭ трудно автоматизируется, требует больших объемов токсичных растворителей и весьма продолжительна по времени. Разделению слоев растворителей при анализе сильно загрязненных вод часто мешает образование устойчивых эмульсий. В таких случаях рекомендуют одиночную длительную ЖЖЭ делительной воронке объемом 1 л с растворителем, тяжелее воды.

Хотя классическая ЖЖЭ имеет много недостатков, она продолжает совершенствоваться. Так появилась микроЖЖЭ, разработанная как альтернативный метод

для определения гербицида алахлор и двух его метаболитов. Принцип микроЖЖЭ – экстракция из большого объема воды (400 мл) очень маленьким объемом растворителя (500 мкл толуола) – может быть применена в качестве подготовки пробы для анализа методом ГХ без стадии испарения, что важно для определения высоколетучих соединений. В сравнении с твердофазной экстракцией этот метод подготовки пробы быстрее и дешевле.

Большое число разных гербицидов (фенилмочевины, триазины, динитроанилины, хлорацетамиды и урацилы) экстрагируют из пищевых продуктов механическим встряхиванием или гомогенизацией с органическими растворителями, такими как метанол, ацетонитрил, часто смешанными с водой дихлорметаном или этилацетатом, иногда при кислом значении pH.

Высокополярные гербициды, такие как глифосат, нерастворимы в большинстве органических растворителей и их экстрагируют водой или водой с хлороформом, иногда при кислом значении pH. При этой процедуре другие растворимые в воде компоненты (аминокислоты, аминоксахара и др.) экстрагируются также. Их присутствие мешает определению глифосатов и делает необходимой очистку экстрактов, которая чаще всего осуществляется на ионообменных хроматографических колонках.

Бипиридиновые пестициды (дикват и паракват – четвертичные аммониевые соединения) обычно экстрагируют из матриц дефлегмацией или нагреванием с серной или с соляной кислотами, после чего проводят твердо-фазную экстракцию и хроматографию.

Твердофазная экстракция (ТФЭ) как метод подготовки образцов известна уже 50 лет. Ее преимущества: экономия времени и растворителей, исключение опасности образования эмульсий, возможность выделения следовых количеств аналита, возможность автоматизации. Особенно часто ТФЭ применяют при анализе природных вод.

ТФЭ активно применяют для определения триазиновых пестицидов и продуктов их распада – гидроксид-с-триазинов, гербицидов – производных мочевины, *N*-метилкарбаматов и их полярных метаболитов, хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов, полярных пестицидов пиретроидов, триазольных и пиримидиновых пестицидов. Разработаны методы ТФЭ многокомпонентных смесей, включающие большое число пестицидов различных классов. Для повышения эффективности экстракции полярных пестицидов иногда применяют колонки со смесью двух сорбентов, например фаз C18 и Фенил.

При ТФЭ кислот на фазах C18 для уменьшения потерь раствор образца целесообразно подкислить до pH<2. Для ТФЭ неионных соединений иногда применяют графитированные сорбенты и фазы, представляющие собой макросетчатые стирол-дивинилбензолные полимеры. Для пестицидов триазиновой группы, производных мочевины и группы феноксикислот успешно используют картриджи с активированной графитированной сажей *Carbopack B*, ионообменные смолы в ацетатной форме и фазу пропилен-NH₂. Для ТФЭ фосфорорганических пестицидов применяют мембранные диски из полистирол-дивинилбензола типа «XAD».

Сверхкритическая жидкостная экстракция (СКЖЭ) является относительно новым методом, применяемым для извлечения веществ с помощью специальных экстрагентов – «сверхкритических» жидкостей. Такими экстрагентами могут быть жидкие CO₂, NH₃, пропан, бутан и др. Перечисленные газы переходят в жидкое состояние при высоких давлениях, поэтому СКЖЭ проводят в автоклавах. После окончания экстракции давление в автоклавах сбрасывают до атмосферного, газ-экстрагент улетает, и в автоклаве остаются только экстрагированные вещества. Их растворяют в подходящих растворителях и растворы анализируют.

СКЖЭ используется главным образом для анализа различных классов пестицидов в почвах, тканях животных и растений. Регулируют эффективность экстракции путем добавок к экстрагенту других растворителей. Наиболее распространенный соразтворитель, добавляемый к углекислоте – метанол. Его добавление позволяет

преодолеть матричные эффекты, когда пестициды, прочно связанные с матрицей, чистой углекислотой не экстрагируются. Кроме этого, добавка метанола или ацетона повышает растворимость в углекислоте полярных соединений.

Прямая СКЖЭ редко используется для экстракции аналитов из водной матрицы. Ограничение метода связано с проблемой образования льда и с проблемой удаления воды. По окончании пробоподготовки количественное определение пестицидов осуществляют методом ВЭЖХ и часто с УФ-детектором.

3. Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.

Продукты не равнозначны по своей пищевой ценности. Описание пищевой ценности продукта в целом дает наиболее полное представление о всех полезных свойствах пищевого продукта, в том числе и о его энергетической и биологической ценности.

Энергетическая ценность пищевого продукта характеризует его усвояемую энергию, то есть ту долю суммарной энергии химических связей белков, жиров и углеводов, которая может высвобождаться в процессе биологического окисления и использоваться для обеспечения физиологических функций организма. Величина этой энергии зависит главным образом от степени усвоения питательных веществ данного пищевого продукта. Усвоение питательных веществ из продуктов животного происхождения выше, чем из растительных продуктов.

Усвояемость питательных веществ (в %) из разных пищевых продуктов. Из смешанной пищи белки усваиваются в среднем на 92%, жиры – на 95%, углеводы – на 98%. Установлены расчетные энергетические коэффициенты питательных веществ - для белков и углеводов – 4 ккал/г, для жиров – 9 ккал/г.

Пищевые продукты	Питательные вещества		
	белки	жиры	углеводы
Животная пища	97	95	98
Злаки и хлебные культуры	85	90	98
Сушеные овощи	78	90	97
Свежие овощи	83	90	95
Фрукты	85	90	90
Смешанная пища	92	95	98

Мерой пищевой ценности продукта служит интегральный скор, который представляет собой ряд расчетных величин, выраженных в процентах, характеризующих степень соответствия оцениваемого продукта оптимально сбалансированному суточному рациону с учетом энергосодержания и наиболее важных качественных показателей. Интегральный скор определяют обычно в расчете на такую массу продукта, которая обеспечивает 10% энергии суточного рациона (например, 300 ккал при суточном рационе в 3000 ккал). Для определения интегрального сора, на первом этапе, по соответствующим таблицам находят энергосодержание 100 г оцениваемого продукта, после чего вычисляют его массу, обеспечивающую 300 ккал энергии. Затем в найденном количестве продукта рассчитывают содержание важнейших питательных веществ. Полученные по каждому из этих веществ величины представляют в виде процента от общего количества соответствующего вещества, содержащегося в оптимально сбалансированном суточном рационе.

Определение интегрального сора пищевых продуктов существенно расширяет информацию об их химическом составе. Исследование способствует количественной оценке преимуществ или недостатков отдельных продуктов питания.

Интегральный скор некоторых продуктов питания:

Показатели химического состава и энергосодержания	Говядина и категории	Свинина жирная	Треска	Молоко коровье	Хлеб пшеничной муки 1 сорта	изКартофельСахар
Белки	3360	814	78146	1628	110	8,00
Жиры	220	330	30	190	15	0,42
Углеводы				5	15	16,0 18
Натрий	2	1	6	5	13	2,0
Калий	14	3	36	19	5	55,0
Кальций	2		17	70	4	4,0
Фосфор	25	6	71	38	9	17,0
Железо	28	5	16	1	14	21,0 2
Витамин С				9		90,0
Витамин В1	6	14	21	9	12	25,0
Витамин В2	11	3	28	30	5	8,0
Энергосодержание	10	10	10	10	10	10,0 10

4. Ветеринарно- санитарное исследование солонины и солено- копченых изделий на свежесть

Исследование солонины проводят при нарушении технологии ее изготовления, при подозрении на использование недоброкачественного сырья или порчу продукта, при нарушении режима и срока хранения, а также по требованию органов ветеринарного и санитарного надзора.

При длительном хранении и при нарушении режима температуры и влажности соленые мясопродукты под воздействием микроорганизмов начинают портиться (образование слизи, плесневение, прогоркание жира, гниение). Наиболее распространенный вид порчи—плесневение. Поскольку плесени — аэробы, они растут и развиваются преимущественно на поверхности продукта (белая плесень). Существует зеленая и черная плесени, которые могут прорасти в глубокие слои мяса. В отличие от гнилостных микроорганизмов плесени могут развиваться в кислой среде, сравнительно низкой влажности воздуха (75 %) и низких температурах (—6—14°C). Плесневение солонины создает благоприятные условия для развития в ней гнилостных микроорганизмов.

Для лабораторного исследования отбирают отдельные куски солонины из верхних, средних и нижних рядов. Общий вес пробы не должен превышать 300 г и включать участки, прилегающие к кости. Если солонину готовили мокрым или смешанным способом, то для анализа отправляют и рассол — 200 мл. Пробу заворачивают в пергаментную бумагу или целлофан и вместе с сопроводительным документом доставляют в лабораторию.

В сопроводительном документе указывают вид продукта, его принадлежность, перечень пересылаемых проб, время и причину взятия материала, органолептические показатели и предмет исследования. Этот документ составляется в произвольной форме, подписывается ветеринарным специалистом. Печать необязательна.

План работы:

- 1) исследовать солонину органолептически;
- 2) определить содержание поваренной соли;
- 3) определить содержание нитритов;
- 4) определить содержание влаги (для солено-копченых изделий);

5) дать заключение.

Оборудование и реактивы: образцы солонины или солено-копченых мясных изделий; цилиндры; колбы мерные на 100 мл; химические стаканы; колориметр Дюбоска; пробирки на 12 мл; бюксы с песком и палочками; азотнокислое серебро — 0,1 н. раствор; хромовокислый калий — 5 %-ный раствор; реактив Карреза 1 и реактив Карреза 2.

По степени свежести эти продукты подразделяют на три категории: свежие, сомнительные и несвежие. При санитарном исследовании указанных продуктов применяют органолептический и лабораторные методы. Одновременно устанавливают доброкачественность рассола.

Задание. Определить доброкачественность солонины и рассола органолептическим и лабораторным методами. План работы. Исследование рассола:

1) определить органолептические показатели: цвет, прозрачность, запах;

2) определить pH и поставить реакцию на пероксидазу. Исследование солонины:

1) определить органолептические показатели; цвет с поверхности и на разрезе, консистенцию, запах;

2) исследовать солонину с применением стандартных лабораторных методов: бактериоскопия, содержание летучих жирных кислот, реакция с медным купоросом в бульоне;

3) исследовать солонину с применением упрощенных и качественных методов: определить pH, поставить реакцию на пероксидазу, сероводород, аммиак по Эберу, провести люминесцентный анализ;

4) дать заключение о санитарном качестве солонины.

Оборудование и реактивы: образцы рассола и солонины различных категорий свежести, а также все то, что предусмотрено для определения свежести мяса (см. стр. 82).

Органолептическое исследование. Внешне осматривают все бочки или чаны с солониной, а затем и сам продукт. Органолептическое исследование солонины начинают с исследования рассола. Устанавливают цвет, запах и прозрачность. Для этого его наливают в стеклянный цилиндр. Анализ проводят при комнатной температуре и дневном освещении.

У доброкачественной солонины рассол красного или розовато-красного цвета, без пены, хлоснен и постороннего запаха, прозрачный.

У несвежей солонины рассол грязно-красного или бурого цвета, пенистый, с хлопьями и посторонним запахом, мутный.

Если органолептические показатели рассола вызывают подозрение, то при возможности необходимо осмотреть все содержимое бочки или чана.

При органолептическом исследовании солонины определяют внешний вид и цвет с поверхности и на разрезе, консистенцию и запах.

Доброкачественная солонина с поверхности чистая, без плесени и слизи, темно-красного или ярко-красного цвета, цвет на разрезе красный, без пятен, окраска равномерная, консистенция плотная, запах приятный, характерный для свежей солонины.

Солонина подозрительной свежести с поверхности более темного цвета, иногда слегка ослизнена, на разрезе окраска равномерная, но по периферии куска заметен темноватый ободок, консистенция менее плотная, запах легкого закисания или незначительной затхлости.

У несвежей солонины поверхность темного цвета, ослизнена, иногда покрыта плесенью, цвет на разрезе неравномерный — серый, темно-красный или коричневый, консистенция дряблая, запах резко кислый, гнилостный или аммиачный.

Свиные окорока должны иметь чистую поверхность, без загрязнений, слизи и плесени; считают дефектами выхваты мяса и шпика, наличие остатков щетины или бахромок. Консистенция солено-копченых окороков плотная, вареных — упругая. Цвет поверхности разреза окороков розово-красный, равномерный, жир белого цвета или с розоватым оттенком. Запах приятной копчености — у копченых окороков и ветчинности

— у вареных; вкус ветчинный, в меру соленый — у вареных окороков и солений, острый — у копченых.

Доброкачественные копченые продукты из свинины, такие как корейка, грудинка, бекон, шейка, карбонад и филей, должны соответствовать по органолептике таким же показателям.

Отклонение от этих признаков свидетельствует о той или иной недоброкачественности продуктов. Несвежие солено-копченые продукты снаружи обычно покрыты плесенью, проникшей в мышечную ткань. Беконные полутушки ослизнены, в особенности в местах выемки лопаток и тазовых костей; в мышечной ткани, прилегающей к костям, отмечают позеленение, запах гнилостный. Вкус неприятный, кислый. Жир грудинок, кореек и бекона желтоватый, прогорклый.

Определение pH рассола. Около 40—50 г рассола наливают в широкую пробирку или колбу и выдерживают в водяной бане при температуре 70 °С до свертывания белков. Затем фильтруют через бумажный фильтр. Определение pH проводят с помощью набора Михаэли-са или потенциометрически так же, как и в экстракт-фильтрате из мяса (см. стр. 77).

Рассол доброкачественной солонины имеет pH не более 6,2, солонины сомнительной свежести — 6,3—6,8 и несвежей — 6,9 и выше.

Реакция на пероксидазу с рассолом. Реакцию на пероксидазу применяют как дополнительный метод исследования, она дает четкий результат при постановке с неразведенным рассолом. Техника постановки реакции такая же, как и при исследовании мясного экстракта-фильтрата (см. стр. 80). Рассол из доброкачественной солонины окрашивается в сине-зеленый цвет; в рассолах из солонины начальных стадий порчи сине-зеленый цвет появляется с большой задержкой, а в рассолах несвежей солонины не появляется вообще. С пробами рассола положительная реакция на пероксидазу отмечается при pH до 6,4—6,5; при pH рассола 6,6 реакция бывает сомнительной, а при pH 6,6 и выше — отрицательной.

Лабораторное исследование солонины и солено-копченых мясных изделий на свежесть проводят при сомнительных органолептических показателях. Оно включает весь комплекс методов, предусмотренный стандартом для неконсервированного мяса; бактериоскопия, определение летучих жирных кислот, постановка реакции с сернокислой медью в бульоне. В малооснащенных лабораториях (помимо бактериоскопии и реакции с медным купоросом в бульоне) определяют pH, наличие аммиака по Эберу, а также ставят бензидиновую пробу, и проводят люминесцентный анализ. Техника постановки всех этих определений такая же, как и для неконсервированного мяса. Водную вытяжку готовят в соотношении 1:4.

Бактериоскопия. Мазки-отпечатки готовят по общепринятой методике. При бактериоскопии обращают внимание на густоту окрашивания препарата, а также количественный и качественный состав микрофлоры.

Мазки-отпечатки из доброкачественной солонины или солено-копченых мясных изделий окрашиваются слабо. В одном поле зрения препарата из поверхностного слоя обнаруживают единичные микробные тела; в мазках из глубоких слоев микроорганизмы отсутствуют.

Мазки из продукта сомнительной свежести окрашиваются более отчетливо. В поле зрения препаратов из поверхностных и глубоких слоев находят 10—20 палочек и кокков.

При недоброкачественности продукта мазки окрашиваются густо, в полях зрения находят более 20 микроорганизмов, преимущественно палочек.

Реакция с сернокислой медью в бульоне. Заключение о доброкачественности солонины по этой реакции делают так же, как и при исследовании неконсервированного мяса (см. стр. 88). В некоторых случаях в бульоне из солонины, допустимой в немедленную реализацию, образуется желеобразный осадок.

Определение pH. Величина pH водных вытяжек (1:4) из солонины или солено-копченых мясных изделий закономерно изменяется в зависимости от степени свежести: доброкачественные продукты — 5,8—6,4; сомнительной свежести — 6,5—6,6 и несвежие — 6,7 и выше.

Реакция на пероксидазу. Постановку этой реакции см. на стр. 80. Вытяжка из свежей солонины или солено-копченых мясных изделий окрашивается в сине-зеленый цвет в течение первой минуты, в сомнительных случаях слабое позеленение наступает в течение одной-двух минут и сразу же переходит в бурый цвет. Цвет вытяжки из несвежих продуктов не изменяется. Положительный результат бензидиновой пробы обнаруживают в вытяжках, имеющих pH до 6,4; при pH от 6,4 до 6,5 реакция слабо положительна и выше 6,5 — отрицательна.

При отсутствии гнилостной порчи отрицательная реакция на пероксидазу дает основание предполагать, что солонина приготовлена из мяса больных животных. * Определение аммиака (по Эберу). Необходимо приготовить реактив Эбера. Для этого берут 1 часть концентрированной соляной кислоты, 1 часть эфира и 3 части этилового спирта. Основной реагент — хлористый водород; эфир способствует быстрому испарению жидкости. Газообразный аммиак, выделяющийся из продукта, соединяется с хлористым водородом, образуя нашатырь (белое облачко).

Нельзя исследовать охлажденные продукты, так как возможна конденсация воды и появление ложного облачка.

Порядок выполнения работы. В пробирку наливают приблизительно 1 мл реактива Эбера. Пробирку встряхивают и закрывают пробкой с пропущенной через нее проволокой или стеклянной палочкой, заканчивающейся крючком. На крючок надевают маленький кусочек исследуемой солонины. Расстояние между кусочком солонины и поверхностью реактива должно быть приблизительно 1 см. При наличии в солонине газообразного аммиака в пробирке появляется белое облачко нашатыря. Облачко более заметно при движении палочки вверх и вниз, особенно в момент извлечения кусочка продукта из пробирки.

Интенсивность реакции отмечают следующим образом: отрицательная или слабо положительная — быстро исчезающее облачко, появляющееся в момент извлечения кусочка продукта из пробирки; положительная — устойчивое облачко, появляющееся через несколько секунд после внесения кусочка в пробирку с реактивом; резко положительная — облачко появляется немедленно при внесении кусочка в пробирку.

Определение сероводорода. Постановка этой реакции и оценка санитарного качества солонины и солено-копченых мясных изделий по ее результатам такие же, как и при определении доброкачественности мяса (см. стр. 203).

Люминесцентный анализ. Визуальную люминесценцию мясной вытяжки (1 :4), свободной от белков, проводят с помощью флюороскопа и аппарата «Ультрасвет».

Вытяжки из доброкачественной солонины не флуоресцируют или излучают бледно-розовый цвет, из солонины сомнительной свежести — молочно-голубой и из несвежей — голубой цвет.

Санитарная оценка. Заключение по результатам исследования солонины и солено-копченых мясных изделий делают на основании органолептической оценки и данных лабораторного анализа. Продукты сомнительной свежести подлежат санитарной обработке, которая заключается в зачистке кусков и замене испорченного или подозрительного рассола вновь приготовленным или доброкачественным маточным рассолом. Окончательный вопрос об использовании такой солонины решают после повторного органолептического и лабораторного исследований. При необходимости проводят бактериологическое исследование. Для этого в лабораторию отправляют два кусочка мышц из разных мест, уцелевшие лимфатические узлы, рассол, а при наличии и трубчатую кость.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.1 Лабораторная работа № 1 (2 часа).

Тема: «Понятие о биологической чрезвычайной ситуации»

2.1.1 Цель работы: изучить понятия о биологической чрезвычайной ситуации

2.1.2 Задачи работы:

1. Биологическая чрезвычайная ситуация
2. Источники биологической чрезвычайной ситуации

2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Ионметрический измеритель
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.1.4 Описание (ход) работы:

Биологическая ЧС – это ситуация, при которой в результате источника на определенной территории нарушаются нормальные условия жизнедеятельности людей, существования сельскохозяйственных животных и произрастание растений, возникает угроза жизни и здоровью людей, опасность широкого распространения инфекционных болезней, потерь сельскохозяйственных животных и растений.

Источником биологической ЧС может служить опасная или широко распространенная инфекционная болезнь людей (эпидемия, пандемия) животных (эпизоотия, панзоотия): инфекционная болезнь растений (эпифитотия, панфитотия) или их вредитель.

Биологические чрезвычайные ситуации могут быть вызваны:

- развитием микроорганизмов - прямыми последствиями их деятельности являются болезни людей, животных и растений;
- резким увеличением численности макроорганизмов, преимущественно насекомых - может привести к нарушению биологического равновесия в биоценозах, уничтожению значительных площадей сельскохозяйственных культур.

Насекомые и грызуны нередко являются переносчиками инфекционных заболеваний. В прошлом крупные хищники серьезно угрожали людям и составляли одну из самых серьезных опасностей.

Микроорганизмы - общее название бактерий, актиномицетов и др., за исключением микроскопических водорослей и простейших

Чрезвычайные ситуации, вызванные микроорганизмами, наступают при резком увеличении заболеваемости людей (*эпидемии*) в определенном регионе, что значительно превышает обычный уровень заболеваемости, который регистрируется на этой территории. Эпидемии сопровождают практически все чрезвычайные ситуации, в результате серьезного нарушения жизнедеятельности людей и соответствующего ухудшения санитарного состояния проживания.

Источники биологической чрезвычайной ситуации

Источником биологической чрезвычайной ситуации является опасная или широко распространенная инфекционная болезнь людей (эпидемия, пандемия), животных (эпизоотия, анзоотия), растений (эпифитотия, панфитотия) или их вредитель.

Одной из самой опасной и губительной для человека формой проявления биологических природных явлений является эпидемия.

Статистика свидетельствует о том, что инфекционные заболевания в общей сложности унесли больше человеческих жизней, чем все войны. Исторические хроники и летописи донесли до наших времен описания чудовищных пандемий, опустошивших огромные территории и уничтоживших миллионы людей. Число инфекционных заболеваний растет из года в год, появляются все новые, ранее не известные возбудители, источники болезней. Если одни возбудители инфекций стали относительной редкостью в

современном мире (оспа, полиомиелит, корь, чума), то другие все больше и больше проявляют себя. Среди последних такие страшные заболевания, как СПИД, боррелиоз (болезнь Лайма), легионеллез и др.

Актуальность изучения массовых заболеваний заключается и в том, что в последние годы непрерывно расширяются экономические, культурные и другие межгосударственные связи. Основными причинами быстрого распространения массовых заболеваний являются: мировая торговля и туристические поездки; высокая урбанизация населения; рост численности населения и активные миграционные движения.

В связи с этим, очень важно знать генезис наиболее распространенных инфекционных заболеваний, соблюдать меры профилактики и выполнять способы противодействия им. Население должно быть в достаточной степени подготовлено к действиям в соответствующей обстановке, знать способы и средства, которые обеспечили бы предупреждение и ликвидацию массовых заболеваний людей, животных и растений.

2.2 Лабораторная работа № 2 (2 часа).

Тема: «Эпидемия»

2.2.1 Цель работы: изучить понятие и разобрать виды эпидемии

2.2.2 Задачи работы:

1. Понятие о эпидемии
2. Виды эпидемии

2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. «Статус -2»
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.2.4 Описание (ход) работы:

Эпидемия - массовое, прогрессирующее во времени и пространстве в пределах определенного региона распространение инфекционной болезни людей, значительно превышающее обычно регистрируемый на этой территории уровень заболеваемости. **Эпидемия** (греч. *epidemia*, от *epi* -- на, среди и *demos* -- народ), распространение какой-либо инфекционной болезни человека, значительно превышающее уровень обычной (спорадической) заболеваемости на данной территории. Обусловлена социальными и биологическими факторами. В основе эпидемии лежит *эпидемический процесс*, т. е. непрерывный процесс передачи возбудителя инфекции и непрерывная цепь последовательно развивающихся и взаимосвязанных инфекционных состояний (заболевание, бактерионосительство) в коллективе. Иногда распространение заболевания имеет характер пандемии; при определенных природных или социально-гигиенических условиях сравнительно высокий уровень заболеваемости может регистрироваться в данной местности длительный период.

На возникновение и течение эпизоотии влияют как процессы, протекающие в природных условиях (природная очаговость, эпизоотии и т. п.), так и главным образом социальные факторы (коммунальное благоустройство, бытовые условия, состояние здравоохранения и др.).

В зависимости от характера заболевания основными путями распространения инфекции во время эпизоотии могут быть:

- водный и пищевой, например при дизентерии и брюшном тифе;
- воздушно-капельный, например при гриппе;
- трансмиссивный -- при малярии и сыпном тифе;
- зачастую играют роль несколько путей передачи возбудителя инфекции.

Изучением эпидемии и мер борьбы с ними занимается эпидемиология.

Эпидемия возможна при наличии и взаимодействии трех элементов: возбудителя инфекционной болезни, путей его передачи и восприимчивых к этому возбудителю людей, животных и растений. При массовых инфекционных заболеваниях обязательно

существует эпидемический очаг. В этом очаге осуществляется комплекс мероприятий, направленных на локализацию и ликвидацию болезни.

Основными из этих мероприятий в эпидемическом и эпизоотическом очагах являются:

- выявление больных и подозрительных по заболеванию; усиленное медицинское и ветеринарное наблюдение за зараженными, их изоляция, госпитализация и лечение;
- санитарная обработка людей (животных);
- дезинфекция одежды, обуви, предметов ухода;
- дезинфекция территории, сооружений, транспорта, жилых и общественных помещений;
- установление противэпидемического режима работы лечебно-профилактических и других медицинских учреждений;
- обеззараживание пищевых отходов, сточных вод и продуктов жизнедеятельности больных и здоровых людей;
- санитарный надзор за режимом работы предприятий жизнеобеспечения, промышленности и транспорта;
- строгое соблюдение санитарно-гигиенических норм и правил, в том числе тщательное мытье рук с мылом и дезинфицирующими средствами, употребление только кипяченой воды, прием пищи в определенных местах, использование защитной одежды (средств индивидуальной защиты);
- проведение санитарно-просветительной работы. Режимные мероприятия проводятся в форме обсервации или карантина в зависимости от вида возбудителя болезни.

Виды эпидемии

В зависимости от числа зараженных выделяется:

- Эндемия — локальное распространение заболевания в рамках небольшого региона.
- Эпидемия — имеет более крупные очаги, выходящие порой за рамки одной страны.
- Пандемия — масштабное заражение, охватывающее страны, материка, а то и весь земной шар.

При борьбе с любого рода инфекциями вне зависимости от метода передачи важно вести профилактику заболеваемости.

2.3 Лабораторная работа № 3 (2 часа).

Тема: «Эпизоотия»

2.3.1 Цель работы: изучить понятие и разобрать виды эпизоотии

2.3.2 Задачи работы:

1. Понятие о эпизоотии.
2. Виды эпизоотии.

2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Проекционный трихинеллоскоп «Стейк»
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.3.4 Описание (ход) работы:

Эпизоотия - одновременное, прогрессирующее во времени и пространстве в пределах определенного региона распространение инфекционной болезни среди большого числа одного или многих видов животных, значительно превышающее обычно регистрируемый на данной территории уровень заболеваемости.

Эпизоотии, широкое распространение заразной (инфекционной или инвазионной) болезни животных, значительно превышающее уровень обычной (спорадической) заболеваемости, характерной для данной территории. Изучение эпизоотии входит в задачу эпизоотологии.

Эпизоотия характеризует степень напряженности эпизоотического процесса, т. е. непрерывного процесса распространения инфекционных болезней и микробоносительства среди животных.

Возникновение эпизоотии возможно лишь при наличии комплекса взаимосвязанных элементов, представляющих собой т. н. **эпизоотическую цепь**:

- источник возбудителя инфекции (больное животное или животное-микробоносите́ль),
- факторы передачи возбудителя инфекции (объекты неживой природы) или живые переносчики;
- восприимчивые животные.

На возникновение и развитие эпизоотии влияют условия внешней среды -- природные (географические, климатические, почвенные) и экономические (хозяйственные и др.), а также социальные потрясения (войны, экономические кризисы). Характер эпизоотии, длительность её течения зависят от механизма передачи возбудителя инфекции, длительности инкубационного периода, соотношения больных и восприимчивых животных, условий содержания животных и эффективности противоэпизоотических мероприятий. Эпизоотии при определенных болезнях свойственны периодичность проявления (через несколько лет), сезонность, стадийность развития, которые особенно ярко проявляются при стихийном течении эпизоотии. Активное вмешательство человека, в частности проведение плановых противоэпизоотических мероприятий, как это имеет место в СССР, предотвращает в значительной степени развитие эпизоотии.

К специфическим противоэпизоотическим мероприятиям относятся вынужденный убой животных и утилизация их трупов.

Основными мероприятиями по защите растений от эпифитотий являются:

- выведение и выращивание устойчивых к болезням культур
- соблюдение правил агротехники
- уничтожение очагов инфекции
- химическая обработка посевов
- посевного и посадочного материала
- карантинные мероприятия.

Виды эпизоотии.

Выделяются следующие **виды эпизоотий**:

- по масштабам распространения - частные, объектовые, местные и региональные;
- по степени опасности - легкие, средней тяжести, тяжелые и чрезвычайно тяжелые;
- по экономическому ущербу - незначительные, средние и большие.

Эпизоотии, как и эпидемии, могут носить характер настоящих стихийных бедствий. Так, в 1996 г. в Великобритании свыше 500 тыс. голов сельскохозяйственных животных заразилось чумой крупного рогатого скота. Это вызвало необходимость уничтожения и утилизации останков больных животных. Из страны прекратился экспорт мясных изделий, что поставило ее животноводство на грань разорения. Кроме того, потребление мяса в Европе значительно уменьшилось и, как следствие, произошла дестабилизация европейского рынка мясных изделий.

2.4 Лабораторная работа № 4 (2 часа).

Тема: «Эпифитотия»

2.4.1 Цель работы: изучить понятия и разобрать виды эпифитотии

2.4.2 Задачи работы:

1. Понятие о эпифитотии.
2. Виды эпифитотии

2.4.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Спектрофотометр

2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.4.4 Описание (ход) работы:

Эпифитотия - массовое, прогрессирующее во времени и пространстве инфекционное заболевание сельскохозяйственных растений и (или) резкое увеличение численности вредителей растений, сопровождающееся массовой гибелью сельскохозяйственных культур и снижением их эффективности.

Эпифитотия, распространение инфекционной болезни растений на значительные территории (хозяйство, район, область) в течение определенного времени. В виде эпифитотии обычно проявляются ржавчина и головня хлебных злаков, фитофтороз картофеля, парша яблони, увядание хлопчатника, шютте снежное и обыкновенное и другие инфекционные заболевания.

В прошлом эпифитотия причиняли большой ущерб. Известны значительные потери урожая картофеля от фитофтороза в 40-х гг. 19 в. в Ирландии, подсолнечника -- от ржавчины в 60-х гг. 19 в. в России, пшеницы -- от стеблевой ржавчины в Амурской области в 1923. С повышением культуры земледелия, с разработкой методики прогнозирования массовых заболеваний растений, применением эффективных мер борьбы с ними эпифитотии стали более редкими.

Обычно эпифитотии возникают из отдельных очагов болезни при благоприятных условиях (накопление и способность к быстрому распространению инфекционного начала, погодные факторы, способствующие размножению возбудителя и развитию болезни, достаточное количество восприимчивых растений).

Фитопатогенные микроорганизмы распространяются из мест резервации и заражают большое число растений. В результате образования нескольких генераций возбудителя создаются новые укрупнённые очаги болезни, расширяется район (зона) поражения, возникает эпифитотия. В зависимости от типа болезни, особенностей возбудителя, растения-хозяина и внешних факторов развиваются быстро или медленно, с периодическими вспышками при благоприятных условиях. Изучением различных сторон эпифитотического процесса занимается сравнительно молодая область науки -- эпифитотиология. Установление связи развития эпифитотии с теми или иными факторами позволяет ослабить их влияние. Например, изменения в популяции возбудителя болезни и растения-хозяина, обуславливающие возникновение эпифитотии, учитываются при обосновании прогнозов болезни, выведении устойчивых к инфекционным болезням сортов с.-х. культур и их размещении в севооборотах.

Гибель и болезни растений могут явиться следствием неправильного применения различных химических веществ, например, гербицидов, дефолиантов, десикантов, которые в определенных дозах используются для уничтожения сорняков и дикорастущих кустарников при освоении новых земель, удаления или подсушивания листьев сельскохозяйственных растений перед уборкой, а так же как стимуляторы роста и созревания. Большой вред сельскому хозяйству наносят растения-паразиты, полностью или частично живущие за счет питательных веществ других растений. Они снижают урожайность сельскохозяйственных культур или вообще уничтожают их. Например, цветковые растения-паразиты снижают урожай подсолнечника, томатов, сарго, табака и др. Саранча наносит ни с чем не сравнимый ущерб сельскому хозяйству во многих странах Африки, Азии и Ближнего Востока. Ее налетам подвержено почти 20% поверхности земного шара. Саранча, передвигаясь со скоростью 0,5-1,5 км/ч, уничтожает на своем пути буквально всю растительность. Так, в 1958 г. одна лишь стая уничтожила в Сомали за день 400 тыс. т зерна. Под тяжестью оседающих стай саранчи ломаются деревья и кустарники. Личинки саранчи питаются по 20-30 раз в день. Серьезными вредителями сельского хозяйства являются грызуны (сурки, суслики, серые полевки, пеструшки и др.). Во время массовых размножений их численность может резко возрасти в 100-200 раз. Это увеличенное число грызунов требует огромного количества пищи, которой и становятся сельскохозяйственные культуры, особенно зерновые.

Виды эпифитотии

Эпифитотии **характеризуются следующими болезнями:**

- ржавчина хлебных злаков, при поражении которой потери урожая составляют 40-70%;
- пиокуляриоз риса - заболевание вызывается грибом, потери урожая могут достигать 90%;
- фитофтороз (картофельная гниль) - заболевание, поражающее грибом листья, стебли и клубни картофеля и др

В зависимости от особенностей развития и масштабов распространения в природе различают следующие основные типы эпифитотий:

Местные эпифитотий, или энфитотии. Характеризуются ежегодным (в течение нескольких лет) сильным развитием болезни на ограниченной территории, иногда в виде отдельных очагов. Возбудители местных эпифитотий, как правило, постоянно присутствуют в данной местности. Они способны долго сохраняться в почве, на растительных остатках, семенах, сорняках и т.п. Инфекционное начало таких патогенов обычно медленно накапливается в природе и сравнительно медленно распространяется. Однако, если запас инфекции достигает высокого уровня, то при наличии восприимчивых растений и благоприятных внешних условиях нередко возникают эпифитотии. Примером местных эпифитотий могут служить энфитотии полегания всходов, ежегодно наблюдаемые в питомниках многих районов страны.

Прогрессирующие эпифитотии. Эпифитотии этого типа начинаются как местные, но со временем охватывают более обширные территории. Они обычно вызываются наиболее агрессивными патогенами, которые имеют высокую энергию размножения, образуют в течение лета несколько поколений бесполого спороношения и способны быстро распространяться по воздуху или с помощью насекомых (например, эпифитотии ржавчины, мучнистой росы, некоторых сосудистых и вирусных болезней).

Причиной возникновения прогрессирующих эпифитотий может оказаться переброска из одних районов в другие зараженного посадочного материала или попадание патогена в новые для него районы, где имеются значительные площади восприимчивых растений-хозяев. Примером такой эпифитотии может служить эпифитотия пузырчатой ржавчины веймутовой сосны, возникшая и быстро охватившая огромные площади, занятые этой сосной в США, после того как возбудитель болезни был завезен в Америку из Европы.

Прогрессирующие эпифитотии часто развиваются в течение многих лет. Так, сильные прогрессирующие эпифитотии голландской болезни ильмовых, распространившиеся на больших территориях в лесостепной, степной и полупустынной зонах нашей страны, были отмечены в 1935-1940 и 1955- 1959 гг. В молодых культурах сосны, создаваемых на обширных площадях концентрированных вырубках в северных и северо-западных районах России наблюдаются прогрессирующие эпифитотии снежного шютте и ржавчины побегов сосны.

Повсеместные эпифитотии, или панфитотии, характеризуются массовым развитием болезни на территории целой страны, иногда нескольких стран или континентов.

Панфитотии — явление довольно редкое, но они могут принимать размеры национального бедствия, как это случилось во время панфитотии фитофтороза картофеля в середине XIX в. В начале XX в. характер панфитотии носило массовое распространение мучнистой росы дуба и мучнистой росы крыжовника, завезенных из Америки в Европу. Повсеместное распространение корневой гнили во многих странах Европы и Северной Америки в течение последних десятилетий также достигло уровня панфитотии.

Кроме того, различают медленно развивающиеся, или тардивные, и быстро развивающиеся, или эксплозивные, эпифитотии. Первые чаще всего наблюдаются при

поражении многолетних растений (например, древесных) заболеваниями типа голландской болезни ильмовых или корневой губки на хвойных. Они характеризуются плавным ходом нарастания вспышки и постепенным ее затуханием. Вторые вызываются в основном патогенами с высокой скоростью размножения и характеризуются резким нарастанием вспышки и быстрым ее затуханием. Ход эпифитотий этого типа часто подчинен сезонным изменениям и в значительной степени определяется факторами внешней среды. Примерами могут служить эпифитотий парши яблони, полегания сеянцев, мучнистой росы, ржавчины, шютте и др.

Знание особенностей различных типов эпифитотий позволяет предвидеть их возникновение, ход дальнейшего развития и использовать эти данные для составления более точных прогнозов и планирования лесозащитных мероприятий.

2.5 Лабораторная работа № 5 (2 часа).

Тема: «Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса и других продуктов убоя животных при поражении радиоактивными веществами»

2.5.1 Цель работы: изучить ветеринарно-санитарную экспертизу мяса и других продуктов убоя животных при поражении радиоактивными веществами

2.5.2 Задачи работы:

1. Виды облучения. Их значение при проведении ветсанэкспертизы.
2. Влияние лучевой болезни на организм животного.

2.5.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Спектрофотометр
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.5.4 Описание (ход) работы:

Выпадение радиоактивных веществ на сельскохозяйственные угодья (при аварийных ситуациях на предприятиях ядерной энергетики и других радиационно опасных объектах с выбросом радионуклидов в окружающую среду) может привести к внешнему, внутреннему и / или сочетанному облучению животных и радиоактивному загрязнению получаемой от них продукции.

В зависимости от интенсивности и длительности облучения у сельскохозяйственных животных может развиваться острая или хроническая лучевая болезнь.

В первую очередь подлежат убою животные с комбинированными радиационными поражениями (гамма-облучение, травмы, ожоги); а также животные, у которых прогнозируется развитие лучевой болезни крайне тяжелой степени. Оптимальным сроком убоя являются первые 2 - 4 дня после радиационного поражения.

Во вторую очередь убивают животных, у которых предполагается развитие лучевой болезни тяжелой степени. Оптимальный срок убоя - первые 5 - 7 суток после облучения.

При средней степени поражения животных убивают на мясо в течение первых 10 - 12 суток. При легкой степени поражения сроки убоя животных не лимитированы. При внутреннем и / или сочетанном поражении сроки убоя животных устанавливают с учетом возможности получения продуктов убоя с содержанием в них радионуклидов в пределах допустимых уровней. С этой целью проводят ориентировочную прижизненную радиометрию мышечной ткани. При необходимости проводят контрольный убой нескольких животных с последующей радиометрией продуктов убоя и определением изотопного состава радиоактивного загрязнения.

Животных, подвергшихся радиационному поражению, отправляют для убоя на мясо по разрешению руководителя районной, городской, районной в городе ветеринарной станции или его заместителя отдельными партиями в согласованные с мясокомбинатами или боенскими предприятиями сроки. Отправка таких животных гоном запрещается.

Перед отправкой на мясокомбинаты или боенские предприятия животных подвергают дозиметрическому контролю, проводят ветеринарный осмотр. Кожные покровы животных, загрязненные радионуклидами выше допустимых уровней, подвергают санитарной обработке и повторной дозиметрии. Убойных животных, имеющих по результатам прижизненной радиометрии концентрацию радионуклидов в мышечной ткани выше допустимых уровней, формируют в отдельные группы и при наличии возможности оставляют для доочистки на специально рассчитанных по содержанию радионуклидов рационах (далее - "чистые" корма).

При отправке для убоя на мясо на каждую партию животных выдают ветеринарные документы установленной формы с указанием на обороте:

- дозы внешнего гамма-облучения животных (расчетной или по данным дозиметрической службы);
- сведений о радиоактивном загрязнении кормов и воды;
- дозы внутреннего облучения животных;
- уровня радиоактивного загрязнения кожных покровов животных;
- сведений о проведении ветеринарной обработки животных.

Убой пораженных животных проводят на ближайших мясокомбинатах или боенских предприятиях или на специально оборудованных убойных пунктах (площадках).

При поступлении на приемную площадку мясокомбината или боенского предприятия животных подвергают повторному дозиметрическому контролю, проводят прижизненную радиометрию мышечной ткани экспресс-методом. Кожные покровы животных при загрязнении радионуклидами выше допустимых уровней подвергают ветеринарной обработке с последующей дозиметрией. Животных, у которых предполагается содержание радионуклидов в мышечной ткани выше допустимых уровней, а сроки убоя не лимитированы, возвращают поставщику или размещают на специальной площадке (базе) для передержки с использованием "чистых" кормов. В день убоя животных подвергают ветеринарному осмотру с поголовной или выборочной термометрией.

Убой и переработку животных, подвергшихся только внешнему гамма-облучению, проводят в обычном порядке.

Убой и переработку животных, подвергшихся внутреннему радиоактивному облучению, проводят отдельными партиями на санитарной бойне или в убойном цехе мясокомбината или боенского предприятия, но в конце рабочей смены. При этом принимают меры по предупреждению поверхностного загрязнения продуктов убоя радиоактивными веществами. Лиц, занятых на обескровливании животных и снятии шкур, не допускают к операциям по дальнейшей разделке туш. Нутровку проводят при вертикальном положении туш, на пищевод и прямую кишку накладывают двойные лигатуры, желудок и кишечник извлекают совместно в их анатомической связи. По окончании убоя партии пораженных животных проводят дезактивацию помещений, оборудования, инвентаря, спецодежды с использованием растворов моющих средств, разрешенных к применению на предприятиях мясной промышленности.

Послеубойную ветсанэкспертизу туш и органов животных при радиационных поражениях проводят в порядке, указанном в главах 6 - 9 настоящих Правил. При этом особое внимание обращают на наличие патологоанатомических признаков лучевой болезни.

Мясо и другие продукты убоя животных, подвергшихся только внешнему гамма-облучению, используют без ограничений, если при ветсанэкспертизе туш и органов не обнаружено патологоанатомических изменений. При их наличии решение о порядке использования мяса и субпродуктов принимают после обязательного бактериологического исследования на патогенные энтеробактерии. Шкуры используют без ограничений.

При внутреннем и сочетанном (внешнем и внутреннем) облучении животных мясо и другие продукты убоя в обязательном порядке подвергают дозиметрическому контролю.

Туши и органы используют без ограничений, если в них не обнаружено патологоанатомических изменений, а содержание радионуклидов не превышает допустимых уровней. При наличии патологоанатомических изменений внутренние органы направляют на утилизацию. Решение о порядке использования мяса принимают по результатам бактериологического исследования на патогенные энтеробактерии.

Туши и органы животных, экстренно убитых в разгар лучевой болезни, признанные по результатам ветсанэкспертизы, радиометрического и бактериологического исследований пригодными для использования в пищу, направляют на проварку, а также на изготовление колбасных хлебов или консервов.

По разрешению управлений (отделов) ветеринарии комитетов по сельскому хозяйству и продовольствию облисполкомов мясо и субпродукты с содержанием радионуклидов выше допустимых уровней могут быть использованы в корм свиньям и птице при выращивании и первой стадии откорма, а также для кормления пушных зверей.

Ветеринарно-санитарную оценку тушек и органов домашней птицы, находившейся на загрязненной радиоактивными веществами местности, проводят в соответствии с настоящими правилами и с учетом результатов радиометрических исследований.

При содержании долгоживущих радионуклидов выше республиканских допустимых уровней загрязнения, установленных в поставарийный период, туши и органы животных направляют на утилизацию. Шкуры уничтожают. При уровнях загрязнения выше установленных в СанПиН 2.6.8-8-2002 (НРБ-2002) для радиоактивных отходов все продукты убоя направляют на захоронение в специально отведенных местах.

При уровнях загрязнения ниже установленных в СанПиН 2.6.8-8-2002 (НРБ-2002) для радиоактивных отходов с продуктами убоя поступают в соответствии с инструкцией по утилизации отходов, разработанной в организации с учетом результатов бактериологического исследования (при загрязнении стронцием-90 мясо подвергают дезактивации путем обвалки туш, посола, проварки). Жир дезактивируют перетопкой.

При загрязнении короткоживущими радионуклидами туши и органы животных выдерживают в отдельных камерах до спада радиоактивности или установления их соответствия допустимым уровням загрязнения.

Влияние лучевой болезни на организм животного.

Под лучевой болезнью понимается заболевание, вызванное воздействием на организм радиоактивного агента. Последнее может быть обусловлено или внешними факторами радиации, или попаданием радиоактивных веществ внутрь организма.

Внешними факторами являются электромагнитные колебания в форме рентгеновых лучей (интервалы частот от $3 \cdot 10^{16}$ до $3 \cdot 10^{20}$ гц и интервал длины волн от 10 -6 до 10 -10 см) или гамма-лучей (интервалы частот от $3 \cdot 10^{19}$ до $3 \cdot 10^{22}$ гц и интервал длины волн от 10 -9 до 10 -12 см), а также потоки быстрых или медленных нейтронов и отрицательно заряженных бета-частиц или отрывающихся от своих источников электронов высоких энергий.

Влиянию внешнего облучения организм подвергается лишь в период пребывания в сфере воздействия излучения. При прекращении излучения, например по выключении рентгеновского аппарата или удалении гамма-источника, прекращается внешнее воздействие, и в организме развиваются далее лишь последствия совершившихся в период облучения изменений.

Радиоактивные вещества попадают внутрь организма чаще всего через дыхательные пути в виде пыли, газов, паров или через пищеварительный тракт вместе с пищей, водой. Возможно проникание радиоактивных веществ также через раневые поверхности или другие нарушения кожного покрова. Воздействие излучения при этом осуществляется вследствие испускания инкорпорированным веществом альфа- или бета-частиц, а также гамма-лучей, если это вещество является гамма-источником.

Альфа-частицы в большой мере поглощаются тканями, в которых совершают свой пробег. Поэтому глубина проникновения их очень невелика, зато плотность ионизации или степень воздействия их значительна.

Бета-частицы и мягкие рентгеновы лучи поглощаются в меньшей степени, в связи с чем и пробег их в толще имеет большую величину.

Гамма-лучи, как и жесткие рентгеновы лучи, поглощаются мало и обладают большой проникающей способностью. Организм испытывает постоянное воздействие этих излучений в течение всего времени нахождения в нем активного вещества.

По ликвидации в организме активного фактора, т. е. в случае его выведения или при полном его распаде, в клинической картине заболевания остаются лишь последствия лучевых воздействий. В ряде случаев организм испытывает комбинированное влияние внешнего и внутреннего облучения (смешанное облучение).

Вызванное радиацией заболевание может иметь острое течение, возникая непосредственно вслед за воздействием радиоактивного агента, претерпевающее определенный цикл развития и приводящее к тому или иному исходу. Это - острая лучевая болезнь. При систематическом повторении влияний хотя бы небольших доз внешнего фактора, или при попадании внутрь организма радиоактивного вещества, обладающего длительным периодом полураспада и, следовательно, долгое время сохраняющего свою активность, развивается хроническая лучевая болезнь. Как та, так и другая форма представляет собой общее, генерализованное заболевание с вовлечением в патологический процесс, хотя и в неравномерной степени, большого числа органов и систем. В других случаях при ограниченном воздействии облучения и недостаточном вовлечении общих патогенетических механизмов заболевание проявляется как бы в форме местного поражения той или иной области или органа, например местного лучевого ожога или локального воздействия внедрившегося активного вещества на окружающую ткань без генерализации процесса по всему организму. Как и при заболеваниях другой этиологии, можно все же обычно ожидать некоторых общих проявлений при поражении, трактуемом как местное, степень которых зависит от местной и общей реактивности организма.

Первичное действие лучевой травмы с ее непосредственным влиянием на подвергшуюся облучению ткань и опосредованием лучевого эффекта через нервную систему с изменением нервно-регуляторных отношений надлежит рассматривать как пусковой механизм в развитии лучевой болезни.

При оценке дальнейшего патогенеза заболевания в его динамическом развитии нужно придавать особенно важное значение следующим процессам, формирующим клиническую картину заболевания:

1. Интоксикация организма, в основном обусловленная тканевым распадом, с образованием аллергических реакций как следствия измененной реактивности пострадавшего организма.

2. Развитие изменений обмена веществ как следствие и первичных, и последовательных реакций. В связи с этими изменениями осуществляются трофические тканевые нарушения, определяющие состояние и функцию органов и систем.

3. Нарушения сосудистой системы с изменением проницаемости сосудов, ломкостью их и функциональными расстройствами, отражающимися на гемодинамике и способствующими развитию кровоточивости.

4. Нарушения кроветворения, являющиеся одной из основных и наиболее определенных характеристик в картине лучевой болезни, а также способствующие проявлению геморрагического диатеза.

5. Нарушения эндокринной системы, обнаруживающиеся в основном на гипофизарно-надпочечниковой системе, половом аппарате и состоянии щитовидной железы.

6. Понижение сопротивляемости организма по отношению к инфекциям. Упомянутые категории патологии в отдельности и в комбинациях создают основные направления в развитии клинической картины лучевой болезни, как острой, так и хронической. Наряду с этим имеют место и иные расстройства, отражающиеся на общей картине заболевания: поражение пищеварительного тракта, изменения сердца, паренхиматозных органов, органов чувств и др.

Существенным фактором патогенеза лучевой болезни является интоксикация организма, имеющая сложное происхождение. В основном она обусловлена тканевым распадом, судя по действиям гомогенатов облученных тканей при введении их в здоровый организм, уже последствия тканевых первичных изменений носят токсический характер. Еще в 1905 г. Куршманн (Curschmann) и Гаупп (Gaupp), а затем и ряд других авторов отметили лейкотоксические свойства крови у больных, подвергавшихся действию ионизирующей радиации. Развитие интоксикации доказывается также опытами с парабиионтами, из которых один подвергался облучению, причем на другом парабиионте обнаруживались изменения крови. Опыты в лаборатории указывают на неодинаковый токсический эффект, вызываемый кровью, оттекающей из различных областей облученного животного. Эксперименты Н обнаруживают появление в крови и органах облученных животных цитотоксических субстанций, растворяющих клетки того же организма.

Наряду с возможным образованием в облученном организме специальных токсинов можно считать токсическим влияние измененного обмена веществ, при котором страдает не только деятельность органов и систем, но и структура таковых.

Тканевая интоксикация в облученном организме отражается на ряде клинических явлений, представляя для них особый фон: нарушения нервной деятельности, головные боли, расстройства аппетита и сна, дистрофии внутренних органов с нарушениями их функций (желудочная ахилия, миокард иодистрофия, печеночные, почечные изменения, эндокринопатии и в особенности нарушения гемопоэза).

Происшедшее вследствие изменений в обмене веществ самоотравление в свою очередь может обуславливать дальнейшие отклонения в метаболизме, чем создается порочный круг.

Нарушения в кроветворении также связаны с токсикозом. Примеры воздействий отравления на кроветворение можно наблюдать в ряде болезненных состояний другой этиологии. Так, хроническое отравление бензолом по характеру нарушений кроветворения во многом напоминает картину, имеющую место при лучевой болезни. В особенности же последняя имеет сходство с клиникой при алиментарной токсической алейкии. Развитию угнетения кроветворения на высоте лучевого заболевания способствует нарушение в нуклеиновом обмене клеток, главным образом их ядер, что задерживает размножение и созревание их. Поражаются в основном клетки молодые, растущие и делящиеся, т. е. такие, в которых активно протекает физиологическая регенерация, что имеет место в гемопоэтической системе.

При лучевом поражении эксперимент показывает резкое снижение в ядрах клеток количества дезоксирибонуклеиновой кислоты и нарушение ее синтеза. Такие клетки в дальнейшем обречены на гибель. Поражение биокаталитических систем нуклеинового обмена лежит, очевидно, в основе дистрофических процессов в гемопоэтической системе с развитием ее недостаточности. Обнаружено резкое снижение нуклеиновых кислот в ткани крастного мозга у облученных кроликов.

Поражение ряда ферментных систем может рассматриваться как прямое следствие белковой денатурации, обусловленной первичным эффектом лучевого фактора, с последующей интоксикацией уже смешанного порядка. При этом может меняться гидрофильность белка, его антигенные свойства и многие физико-химические особенности его структуры. После облучения наблюдается нарушение азотистого обмена, зависящее прежде всего от гибели клеток с разрушением белковых комплексов.

Наряду с этим в повышении азотистого обмена играет роль возбуждение нервнорегуляторных процессов, свойственное первому периоду лучевой болезни. По экспериментальным данным увеличивается выделение с мочой общего азота, азота мочевины, креатинина и мочевой кислоты, наблюдается небольшое повышение остаточного азота крови. В период развития клинических явлений выделение общего азота уменьшается вследствие резкого снижения потребления пищи. В организме возникает отрицательный баланс азота. В плазме крови нарастает фракция глобулинов с падением отношения альбуминов к глобулинам. В восстановительном периоде эти нарушения нормализуются, причем более быстрое возвращение альфа-глобулинов к норме может иметь благоприятное прогностическое значение.

Углеводный обмен с развитием лучевой болезни также претерпевает изменения. Вначале наблюдается гипергликемия (120-160 мг % сахара в крови), нарастание уровня гликогена с последующим снижением его как выражение усиленного распада углеводов. Имеет место повышение (в тяжелых случаях в 2-3 раза) уровня молочной кислоты в крови. Наблюдающаяся в дальнейшем неустойчивость в уровне сахара крови, равно как в показателях минерального обмена, отражает, очевидно, неустойчивость в деятельности нервных, главным образом субталамических регуляторов.

Образование продуктов распада белка при лучевых воздействиях и его денатурация, всасывание из кишечника токсических продуктов белкового происхождения приводят к аллергизации организма, отвечающего повышенной чувствительностью на целый ряд воздействий, в том числе и лечебных (например, переливание крови).

Существует взгляд, что и в развитии лейкопении играет роль аллергизация организма. Характерной особенностью следствий лучевой травмы нужно считать поражение сосудистой системы. С первого же периода после облучения оно сказывается усилением проницаемости, способствующим развитию отека ткани. В основе его следует видеть токсическое, а в дальнейшем - трофическое поражение сосудистой стенки или сосудистых мембран. Данные указывают на нарушения в раннем периоде обмена гиалуроновой кислоты с ее усиленной деполимеризацией, что способствует разрыхлению ткани сосудистой стенки. В дальнейшем это сопровождается усилением ломкости сосудов. На высоте заболевания, а иногда и в более ранний период поражение сосудистой стенки ведет к геморрагическому синдрому с большим или меньшим развитием кровоизлияний в коже, слизистых оболочках и внутренних органах при соответствующей симптоматике. Несомненно, патогенез геморрагического синдрома более сложен, и в его развитии играют роль нарушения в системе крови, особенно в тромбоцитах. Основное значение имеет гипергепаринемия.

Одним из ведущих синдромов в течение лучевой болезни является поражение органов кроветворения. Эти изменения, имеющие фазный характер и сложный механизм, всегда привлекали к себе наибольшее внимание исследователей. В начальном периоде, характеризующемся повышенным нервным возбуждением, отмечается преходящее увеличение количества форменных элементов, особенно лейкоцитов миелоидного ряда с ускорением созревания элементов белого ростка и увеличением вымывания их из костного мозга на периферию.

Это явление по времени коррелирует с наблюдаемым в клинике преобладанием влияния симпатико-адреналовой системы, что способствует выходу форменных элементов из костного мозга в кровь. Таким образом, наблюдаемый при этом лейкоцитоз является не распределительным, а истинным.

Лимфоидная ткань как крайне чувствительная к действию радиации уже в этот период реагирует развитием лимфопении. Эксперимент, однако, улавливает в ряде случаев предшествующий скоропреходящий лимфоцитоз. Во втором, латентном, периоде начинается уже спад лейкоцитоза и появление признаков угнетения эритропоэтического ростка. Затем на высоте заболевания развивается угнетение костномозгового кроветворения, в тяжелых случаях с резчайшей нейтропенией и тромбопенией.

Причины угнетения гемопоэза сложны и многочисленны. Уже указывалось на торможение со стороны нервной системы и аллергию, а также на нарушения в нуклеиновом обмене костного мозга, препятствующие пролиферации его клеточных элементов и имеющие существеннейшее значение в патологии гемопоэза. Несомненно, играют роль и токсические патогенетические факторы лучевой болезни, ведущие к лейкоцитолиту. Дистрофические воздействия нужно рассматривать, таким образом, как следствие местных тканевых изменений, связанных с непосредственным действием радиации, и как явление, опосредованное через нейрогуморальные влияния. К этому следует добавить и значение ряда эндокринных нарушений, сказывающихся на гемопоэзе. В восстановительном периоде происходит нормализация крови с признаками омоложения ее, начиная с увеличения ретикулоцитов, с ускоренным вымыванием костномозговых элементов в периферическую кровь. Кроветворная реакция при этом может оказаться чрезмерной и привести к лейкоцитозу, последовательно сменяющемуся в случаях выздоровления приходом количества форменных элементов к норме. Восстановление кроветворения, однако, часто задерживается и наблюдаются длительные остаточные явления в форме сдвигов в лейкоцитарной формуле и неустойчивости в количественном составе форменных элементов. Состав крови иногда окончательно не возвращается к норме, характеризуя тем самым переход острой формы заболевания в хроническую.

Наряду с влиянием нервных и гуморальных факторов, нарушения которых формируют картину лучевой болезни, в единстве с ними играют роль изменения в гормональных аппаратах. Особенно важная роль принадлежит гипофизарно-адреналовой системе. Селье (Selye) и его последователи распространяют свои представления о нарушениях адаптационного синдрома (stress) на патогенез лучевой болезни. Анализируя таковой, Селье указывает на имеющий место при этом общий тканевый катаболизм, инволюцию тимико-лимфатических органов, понижение гемопоэза, ослабление сопротивляемости к инфекции и трактует эти явления как нарушения адаптации.

В процессе приспособления к условиям существования происходит развитие и дифференцировка клеток и тканей. Нарушение адаптации ведет к расстройствам этой дифференцировки и к направлению ее по патологическому пути. Автор рекомендует для восстановления адаптации воздействия соматотропного гормона. Теория эта при всей ее значимости страдает крупнейшим недостатком, так как игнорирует нервный фактор в регуляторных отношениях, чему справедливо придает большое значение советская наука.

Одним из существенных патогенетических механизмов в развитии картины осложненной лучевой болезни, практически обычно имеющей место при больших дозах облучения, является снижение сопротивляемости организма по отношению к инфекционным агентам как внешнего, так и эндогенного характера.

Влияние ионизирующей радиации и ее последствий на снижение естественного иммунитета имеет много причин, на которые указывалось выше: нарушения нуклеинового, обмена, токсическое состояние пострадавшего организма, нервнотрофические адаптационные расстройства, нарушения гемопоэза с недостаточной выработкой антител. Имеют также значение трофические нарушения в других тканях и системах, в том числе коже и слизистых оболочках с поражением естественных барьеров для микроорганизмов и нарушением процессов регенерации. Это, очевидно, неполный список факторов, нарушающих естественный иммунитет пострадавшего организма.

В результате снижения иммунитета можно отметить угнетение фагоцитарной активности, механизма самоочищения организма, понижение бактерицидных свойств покровов, увеличение проницаемости кишечной стенки для микробов кишечника с аутоинфекцией организма. При снижении естественного иммунитета многие сапрофиты приобретают патогенные свойства. Установлено в эксперименте, что облучение животных до введения им антигена угнетает или полностью задерживает выработку антител. В результате пониженной сопротивляемости к инфекциям организм, пострадавший от облучений, чрезвычайно подвержен заражениям общего и местного характера и

инфекционным осложнениям. Это, как правило, имеет место в разгаре тяжелого или средней тяжести заболевания (третий период). Присоединение инфекции может приобрести ведущее значение в картине лучевого заболевания и даже решать судьбу больного. Поэтому уместно считать снижение естественного иммунитета одним из патогенетических факторов лучевой болезни.

2.6 Лабораторная работа № 6 (2 часа).

Тема: «Микробиологическое исследование мяса и мясопродуктов»

2.6.1 Цель работы: изучить микробиологическое исследование мяса и мясопродуктов

2.6.2 Задачи работы:

1. Микробиологическое исследование мяса
2. Определение доброкачественности мяса
3. Определение общего количества микроорганизмов в мясе
4. Исследование микрофлоры мясных продуктов

2.6.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Ионметрический измеритель
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.1.4 Описание (ход) работы:

Бактериологическое исследование мяса производят периодически по графику с целью контроля санитарного состояния не реже 1-го раза в 10 дней. Обязательное микробиологическое исследование мяса осуществляют в следующих случаях:

- при заболевании желудочно-кишечного тракта или дыхательных путей;
- при подозрении на инфекционное заболевание животного;
- при убое из-за травмы;
- при «вынужденном» убое;
- при убое животных-продуцентов.

Микробиологическое исследование мяса выполняют в соответствии с инструкцией ветеринарно-санитарного надзора. Для анализа отбирают следующие образцы: мышцы сгибателя и разгибателя конечности, часть печени, легкого, селезенку, почку, лимфатические узлы с окружающей соединительной тканью, трубчатую кость. Образцы упаковывают в стерильный материал, пломбируют и направляют в лабораторию с сопроводительным документом, в котором указывают вид животного, дату и время убоя, фамилию и адрес хозяина, предполагаемый диагноз.

Анализ начинают с изучения мазков-отпечатков, окрашенных по Граму. Этот этап называют бактериоскопическим исследованием, целью которого является обнаружение возбудителей сибирской язвы и ботулизма. Выявление в мазках грамположительных палочек, расположенных в цепочках, имеющих капсулы и споры, позволяет обосновать предварительный диагноз сибирской язвы. Если в мазках обнаруживают небольшие грамположительные палочки, имеющие форму ракеток, то возникает подозрение на заражение проб возбудителем ботулизма.

Далее выполняется собственно бактериологическое исследование. Для этого отбирают навески проб массой 5 г, растирают в ступках со стерильным песком, добавляя стерильный физиологический раствор из расчета, чтобы получить разведение 1:10. После отстаивания суспензии надосадочную жидкость высевают на различные питательные среды для выделения чистых культур аэробных и анаэробных микроорганизмов. Выделенные чистые культуры подвергают дальнейшему изучению по стандартным схемам для идентификации. Целью исследования является выявление возбудителей зооантропонозных инфекций.

Определение доброкачественности мяса

Определение доброкачественности мяса. Доброкачественность (свежесть) мяса оценивают по результатам органолептического, биохимического, бактериоскопического и микробиологического исследований согласно ГОСТам.

Органолептическую оценку производят по общепринятым признакам: описывают цвет, консистенцию, запах мясной и жировой ткани, характер [бульона](#) при варке.

Бактериоскопическое исследование выполняют следующим образом: готовят мазки-отпечатки с поверхности мяса, с глубины 2-2,5 см и 3-4 см, окрашивают их по Граму. В каждом мазке изучают не менее 5-ти полей зрения, в которых подсчитывают число бактерий и отмечают другие изменения.

Оценка свежести мяса представлены в таблице 1.

Таблица 1. Оценка свежести мяса

Качество мяса	pH	Бактериоскопическая картина
1. Свежее	5,6-6,2	В мазках-отпечатках микробов нет или имеются единичные бактериальные клетки на поверхности мяса
2. Пониженной свежести	6,3-6,5	В мазках-отпечатках из глубины мяса обнаруживают 20-30 кокков и единичные палочки, на поверхности - несколько десятков клеток в поле зрения. Имеются распавшиеся мышечные волокна
3. Несвежее	6,6 и выше	В мазках-отпечатках с поверхности и с глубины мяса выявляются масса клеток с преобладанием палочек, имеется множество распавшихся мышечных волокон

Свежесть мяса характеризуется также показателями общей бактериальной обсемененности в 1 г или на 1 см² поверхности.

Определение общего количества микроорганизмов в мясе

При микробиологическом контроле производства безалкогольных напитков общее количество микроорганизмов определяют посевом нативного исследуемого материала или после его разведения в питательной среде следующим образом: мясо-пептонный агар — инкубация в термостате при 37° С в течение 24 ч (санитарный анализ); сусло-агар — инкубация в термостате при 28—30° С в течение 48 ч (производственный анализ).

Посев пробы должен производиться после приблизительного расчета таким образом, чтобы в чашках Петри выросло 30—300 колоний, за исключением материалов, в которых содержится менее 30 микроорганизмов в 1 мл.

Перед посевом проба должна быть хорошо перемешана (но чтобы не замочить при этом пробку), после чего стерильной пипеткой берут необходимое для посева количество (от 1 до 0,1 мл для непосредственного посева и меньшее количество — при разведении).

2. Разведение пробы.

Когда исследуемого материала меньше 0,1 мл, он высевается в чашках Петри после предварительного разведения стерильной водой следующим образом: в пробирку с 0,9 мл стерильной воды стерильно вносят 0,1 мл исследуемого материала и после тщательного размешивания к нему прибавляют еще 9 мл стерильной воды. После этих двух разведений (1 : 100) берут 1 мл материала, переносят стерильно в новую пробирку и доливают 9 мл стерильной воды (1 : 1000) и т. д. до желаемой степени разведения.

При каждом разведении пользуются отдельной стерильной пипеткой.

Если материал очень густой и отмеривание его пипеткой неточно или невозможно, а также при исследовании сухих продуктов, пробу в 5—10 г взвешивают стерильно в колбе на 120 мл, после чего прибавляют 50—100 мл стерильной воды (1 : 10). После тщательного перемешивания и растворения делают непосредственный посев или в

зависимости от ориентировочной обсемененности посев производится после дополнительного разведения.

Когда исследуют материалы высокой кислотности, то во избежание изменения реакции питательной среды эти материалы нейтрализуют до необходимой степени стерильным 10%-ным раствором карбоната натрия. ,

Чтобы установить необходимое количество 10%-ного раствора карбоната натрия для нейтрализации пробы, титруют 10 мл ее 1%-ным раствором карбоната натрия до посинения лакмусовой бумаги.

5. Посев.

Прежде чем взять необходимое для посева количество материала, его тщательно перемешивают продуванием воздуха через стерильную пипетку, этой же пипеткой берут 1 мл и быстро переносят в чашку Петри. В каждую чашку выливают из пробирки расплавленную и охлажденную до 45° С питательную среду — мясо-пептонный или сусло-агар в количестве 15 мл, предварительно горлышко пробирки обжигают на пламени спиртовки.

Прибавленный агар быстро перемешивают с исследуемым материалом наклоном чашки. Нужно обратить внимание на то, чтобы не остались незалитыми агаром участки чашки, не образовались пузыри и материал не попал на стенки чашки. Чашки оставляют на горизонтальной поверхности для равномерного распределения и застывания агара. На крышке чашки Петри делают необходимые отметки.

6. Проращение посевов.

Чашки Петри в термостате переворачивают вверх дном, рекомендуется, чтобы они были завернуты каждая в отдельности в стерильную бумагу. Проращивание на мясо-пептонном агаре при 37° С длится 24 ч, а на сусло-агаре — при 28—30° С — . 48 ч.

7. Подсчет колоний.

Производится при помощи лупы, увеличивающей в 5—8 раз. Подсчитываются все колонии. Когда в одной чашке проросли более 300 колоний и не имеется других посевов при большем разведении пробы, допустимо, чтобы подсчитывались колонии только на части поверхности (например, 20 см²). Нужно подсчитать колонии на поверхности не меньшей поверхности чашки.

Исследование микрофлоры мясных продуктов

Исследование микрофлоры пищевых продуктов является составной частью микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности. Задачей данного исследования является определение микробиологических показателей сырья и готовых изделий для сравнения их с нормативами государственных стандартов (ГОСТ), технических условий (ТУ), СанПиНа.

Главным нормативным документом является СанПиН «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов», в котором приведены нормативы микробиологических показателей всех групп пищевых продуктов.

Нормативные документы составлены на базе микробиологических критериев безопасности пищевых продуктов, которые включают определение в них 4-х групп микроорганизмов.

1-я группа - санитарно-показательные микроорганизмы. В этой группе определяют 2 показателя:

1. Во всех мясных продуктах производят определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) на мясо-пептонном агаре чашечным методом. Результаты выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г продукта.

2. Во всех продуктах определяют также бактерии группы кишечной палочки (БГКП) в качестве индикатора фекального загрязнения. К БГКП относят грамотрицательные бесспорные палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37 оС. Учитывают цитратотрицательные и цитратположительные варианты

БГКП, включая следующие роды: эшерихия, клебсиелла, энтеробактер, цитробактер и серрация. Анализы выполняют на среде Кесслер. Признаком роста является газообразование.

2-я группа - условно-патогенные микроорганизмы. Производят выделение бактерий рода протей, клостридий перфрингенс, коагулазоположительных стафилококков, бациллу цереус.

3-я группа - патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы. Определение сальмонелл производят во всех продуктах.

4-я группа - показатели микробиологической стабильности. С этой целью выявляют количество дрожжей и плесневых грибов.

2.7 Лабораторная работа № 7 (2 часа).

Тема: «Урбанизация и ее экологические факторы, снижающие качество продуктов»

2.7.1 Цель работы: изучить понятия об урбанизации и ее экологические факторы

2.7.2 Задачи работы:

1. Биогенные загрязнители.
2. Техногенные загрязнители

2.7.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Колориметр ФЭК
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.7.4 Описание (ход) работы:

Основная масса организмов Мирового океана сосредоточена у берегов, преимущественно в зоне морских побережий – прибрежное «сгущение жизни», по В.И. Вернадскому. В водной среде содержится большое количество мелких частиц органического вещества – детрита (от лат. detritus – истертый), образованного из отмирающих растений и животных. Массы этих частиц оседают на бактериях и благодаря выделяющемуся в результате бактериального разложения газу постоянно находятся в толще воды во взвешенном состоянии.

Известно, что из сбрасываемых загрязняющих веществ наибольший суммарный ущерб биоресурсам наносят соединения, не обладающие специфическими токсическими свойствами, – органические вещества, неорганические биогенные компоненты (соединения фосфора и азота) и жиры (Христофорова, Саломай, 2006). На минерализацию органических веществ, особенно жиров, требуется большое количество кислорода. Обилие биогенных элементов вызывает эвтрофикацию и также потребление кислорода на разложение отмирающего фитопланктона.

С использованием синтетических моющих средств, а также с применением эмульгаторов и пестицидов связано поступление полифосфатов в среду. Полифосфаты легко разлагаются и их концентрации в воде быстро снижаются. Появление органических фосфатов в природных водах обусловлено процессами жизнедеятельности и посмертного распада водных организмов, а также хозяйственно-бытовыми стоками и стоками от животноводческих ферм. Избыточное поступление фосфатов в прибрежные воды сопровождается «цветением» планктонных водорослей, в том числе сине-зеленых, на разложение которых расходуется растворенный кислород. Кроме того, прижизненные и посмертные выделения сине-зеленых водорослей загрязняют воду токсичными веществами, что угнетающе действует на экосистемы, вызывает гибель многих гидробионтов и, в конце концов, пагубно влияет на здоровье человека. Обычно максимальные концентрации органических и минеральных веществ в водоемах наблюдаются ранней весной, что связано с поверхностным смывом с суши и поступлением их из донных отложений. С повышением температуры воды и развитием продукционных процессов наблюдается увеличение концентраций органического вещества.

Известно, что чрезвычайно важную роль в начальных этапах расщепления органических субстратов, в круговороте биогенных элементов играют микроорганизмы, выделяющие в среду гидролитические ферменты (Заварзин, Колотилова, 2001). В средах, загрязненных органическими веществами, возрастает количество микрофлоры, утилизирующей соответствующие субстраты, и численность этих микроорганизмов может быть показателем степени органического загрязнения среды (Исследования экосистем, 1992).

Высокая численность индикаторных бактерий, выявляется в речных стоках, особенно в местах их впадения в морскую среду, где часто наблюдаются максимальные концентрации органических веществ (Ковалева, 2003). Присутствие высокой численности индикаторной микрофлоры в природных водах свидетельствует о наличии легкоразлагающихся органических веществ, таких как липиды, белки и углеводы.

Биохимическая активность липолитической микрофлоры, концентрирующейся в области поверхностной пленки, способствует освобождению поверхностных вод от жирных веществ и нормализует газо- и теплообмен между водной поверхностью и атмосферой. Наибольшая частота встречаемости и максимум численности липолитической микрофлоры в воде приурочен в основном к приустьевым и прибрежным участкам и заливам, где наблюдается максимальное загрязнение. По мере продвижения от прибрежных и приустьевых участков к открытой акватории численность липолитических бактерий снижается на два - три порядка (Цыбань, Теплинская, 1974; 1982).

Амилолитические бактерии являются индикаторами присутствия в водной среде полисахаридов. Способность к расщеплению крахмала при помощи амилолитических экзоферментов распространена у многих микроорганизмов очень широко. Многие почвенные грибы – активные продуценты амилазы. Среди бактерий к активным продуцентам амилаз относят некоторые бациллы (*Bacillus macerans*, *B. subtilis*), псевдомонады и различные виды стрептомицетов (Динамика экосистем..., 2000).

Микроорганизмы протеолитики являются индикаторами присутствия в водной среде веществ белковой природы: казеина, желатина, коллагена и т.д. Способностью расщеплять пептиды и белки обладают ряд микроорганизмов: Протеолитические бактерии (бактероиды, протей, эшерихии, клостридии и др.) используют в качестве питательного субстрата белок и продукты его гидролиза, вызывая гнилостные процессы, конечными метаболитами которых являются аммиак, ароматические аминокислоты, эндогенные канцерогены, сульфиды и др.

Микроорганизмы, обладающие высокой гидролитической активностью в отношении разрушения органических веществ природного и антропогенного характера, играют важную роль в самоочищении среды (Цыбань, Панов, Барина, 1990; Кондратьева, 1996). Высокой гидролитической активностью при биогенном загрязнении обладают цианобактерии.

Наиболее активными продуцентами гидролаз в морской среде являются бактерии родов *Vibrio*, *Bacillus*, *Pseudomonas*–*Alteromonas* (Иванова, Михайлов, 1992). Бактерии, ассоциированные с морскими прикрепленными организмами: губками *Spirastrella* sp., *Phyllospongia* sp., *Ircinia* sp., *Aaptos* sp., *Azorica* sp. and *Axinella* sp. и кораллами *Lobophytum* sp. синтезируют высокоактивные протеазы, амилазы и карбоксиметилцеллюлазы. Они могут являться источниками получения этих ферментов. Широкий спектр активности гидролаз обнаружен у бактерий р. *Pseudoalteromonas* и отмечена разница в уровне активности и наборе экзоферментов у штаммов различной видовой принадлежности, а также изолированных из различных мест обитания

Техногенные загрязнители

Нефтеокисляющие микроорганизмы. Частично появление нефтеуглеводородов (НУ) связано с природными процессами, но их концентрация увеличивается во многих береговых экосистемах, как прямое следствие деятельности человека. Микробные сообщества могут трансформировать НУ в промежуточные метаболиты или

минерализовать в диоксид углерода и воду. Уровень и протяженность деградации зависит от физико-химических свойств индивидуальных составляющих НУ и их взаимодействия с живыми и неживыми компонентами береговой экосистемы.

Нефтеоокисляющая микрофлора разнообразна, представлена как бактериями, самой многочисленной по генофонду группой, так и грибами, и отличается по активности в разложении нефти и ее углеводородов. Среди нефтеоокисляющих бактерий с высокой активностью можно выделить грамположительные коринеформные бактерии (*Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* и др.), представителей рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*. Что касается нефтеоокисляющих дрожжей, приуроченных, главным образом, к поверхностным слоям вод, то большинство их относится к родам *Candida*, *Rhotorula* и *Trichosporon*, реже активны представители родов *Debaryomyces*, *Endomyces*, *Pichia*, *Torulopsis*. Дрожжи окисляют в основном парафиновую фракцию нефти. В морских и пресноводных экосистемах встречаются практически одинаковые представители, разлагающие углеводороды нефти. Среди мицелиальных грибов наиболее активно окисляют нефть представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* и *Cladosporium*.

Окисление ароматических углеводородов не является свойством рода или вида микроорганизмов, это штаммовый признак. Так, на фоне общего угнетающего действия токсиканта появляются штаммы, способные его расщеплять, которые, вероятно, являются естественными мутантами. Если парафины – субстрат, легко окисляемый нормальными микроорганизмами биоценоза, то ароматические углеводороды окисляются, скорее всего, мутантами, а вовлечение их в круговорот является сложным и болезненным для микробиоценоза процессом.

Высокая численность фенолоокисляющих бактерий может быть связана с деятельностью расположенных на берегу промышленных и портовых комплексов, которые оказывают непосредственное влияние на загрязнение вод фенолами. В урбанизированных районах прибрежная морская среда почти повсеместно загрязнена разнообразными соединениями фенольной природы, такими как моно- и дифенилы, бифенилы, а также их галогенпроизводными, в том числе пестицидами.

Одним из главных источников фенольного загрязнения прибрежной зоны моря зачастую являются лесоперерабатывающие предприятия – фанерные, целлюлозно-бумажные, где основными компонентами сточных вод являются фенол, пирагаллол, ксиленолы, крезолы и т.д. Фенолы в значительном количестве содержатся в каменноугольной смоле и образуются при распаде нефтепродуктов. Фенолы широко используются в промышленности для получения смол, полиамидов, поверхностно-активных веществ, антиоксидантов. В связи с резко возрастающим влиянием бытовых стоков на качество прибрежной среды особое негативное влияние имеют фекальные стеролы. Эти соединения даже в незначительных концентрациях могут вызывать сильные токсические эффекты или гибель морских организмов.

Большое скопление водных растений также является источником естественного метаболитного фенола, поступающего в среду. Уровень чувствительности разных организмов к фенольным соединениям неодинаков. Даже близкородственные особи могут очень отличаться по своей реакции на один и тот же токсикант. Особенно чувствительны к фенольному загрязнению нейстонные организмы, к которым относятся многие популяции морских организмов на ранних стадиях онтогенеза, а также обильное микробное население, играющее важную роль в трансформации органических соединений. Известно, что морская среда самоочищается от фенольного загрязнения. Наиболее активными и часто единственными деструкторами фенола являются микроорганизмы, которые одновременно могут служить индикаторами присутствия данного поллютанта в море. Состав фенолустойчивых бактериальных сообществ морской воды и донных осадков близок к составу микрофлоры активных илов очистных сооружений, адаптированной к продукту деградации фенола – пирокатехину.

Попадание фенола в водную среду ведет к быстрому формированию в местах сбросов высокоустойчивого бактериального сообщества в воде и донных осадках. В работах Л.М. Кондратьевой и Е.А. Каретниковой (2000) показано, что численность фенолрезистентных бактерий является индикатором загрязнения водных экосистем фенольными соединениями различного происхождения, однако не может служить критерием самоочищающей способности водных экосистем.

Методы микробной индикации дают возможность выявить и контролировать появление фенолов в морской среде гораздо раньше, чем происходят необратимые токсические эффекты у гидробионтов.

В качестве микроорганизмов-индикаторов фенолсодержащих вод используются грибы *Aspergillus*, *Penicillium*.

Критерии оценки нефтяного и фенольного загрязнения на основании микробных показателей.

Для микробиологических показателей не существует предельно допустимых концентраций, как в химических экологических методах. Но, для того, чтобы дать оценку полученному результату, необходимо сравнивать данные, полученные для исследуемого района, с данными контрольного района (заранее выбранный фоновый, чистый район для сравнительного исследования). Как правило, если нет источника поступления нефти в среду, нет и микроорганизмов, расщепляющих этот субстрат.

Наличие фенол- и углеводородокисляющих бактерий в количествах, превышающих 102-103 клеток/мл, указывает на ту или иную степень загрязнения этими веществами.

Металлоустойчивые микроорганизмы

Настоящими рекордсменами по извлечению металлов из окружающей среды являются микроорганизмы – бактерии, плесени, микроскопические водоросли, обитающие в почве, пресноводных водоемах и морской воде. Плесневые грибы аспергиллы содержат до 0,3% меди – в 30 000 раз больше, чем в окружающей среде. Многие микроорганизмы в больших количествах накапливают уран: пресноводная микроводоросль хлорелла – до 0,4% сухой массы, актиномицеты – до 4,5%, денитрифицирующие бактерии – 14%, а специально отобранные культуры дрожжей или псевдомонад – до 50%. Тяжелые металлы даже в ничтожных концентрациях ядовиты. Проникая в живые клетки, они нарушают их жизнедеятельность, но свое токсическое действие тяжелые металлы проявляют только в виде ионов. Если же их тем или иным способом перевести в связанную форму, то они лишаются токсических свойств. Установлено, что недиссоциированные соли и ионы, образующие комплексы, обычно менее токсичны, чем свободные ионы в тех же концентрациях. Таким образом, металл, отложенный в клеточной стенке в кристаллическом виде или в виде плохо растворимых соединений, оказывается безвредным для микроба.

Тяжелые металлы играют двоякую роль в процессах жизнедеятельности организмов. Mg, Cu, Ni, Zn – важные микроэлементы. Cd, Pb, Sn, Ag, Hg – токсичны. При высокой концентрации все металлы вредны для организма, так как они способны:

1. Изменять конфигурацию и структуру нуклеиновых кислот, белка,
2. Ингибировать активность ферментов;
3. Влиять на осмотический баланс клетки;
4. Влиять на энергетический баланс клетки.

Известны два пути поступления тяжелых металлов в клетку микроорганизма: неспецифический транспорт по градиенту концентрации и специфический транспорт белка с АТФ. У микроорганизмов существуют специальные механизмы для предотвращения токсического воздействия металлов:

1. Активное выведение или выброс металла из клетки.
2. Снижение поступления металла за счет изменения проницаемости клеточной мембраны. Нарушение синтеза белка порина.
3. Внутриклеточное связывание токсичных металлов, их детоксикация.

4. Внутриклеточная изоляция металлов за счет капсулы.

Для выделения металлоустойчивых микроорганизмов определяют спектр металлов необходимых для эксперимента : Cd, Pb и Ni маркеры техногенного воздействия; Cu и Zn – комплексного антропогенного действия; Fe – терригенного влияния; Co и Cs – как маркеры возможного радиоактивного загрязнения. В качестве селективных добавок, ингибирующих рост чувствительных форм бактерий, используются растворимые соли металлов – хлориды Cu, Cd, Co, Cs, Ni, Zn, Fe и нитрат Pb.

Уровень индивидуальной устойчивости бактериальных штаммов к ионам тяжелых металлов оценивают на основе определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) соли каждого металла. МИК определяют как наименьшую концентрацию токсиканта в среде, которая при определенных условиях полностью ингибирует рост бактерий

2.8 Лабораторная работа № 8 (2 часа).

Тема: «Биологическое заражение»

2.8.1 Цель работы: изучить понятия о биологическом заражении

2.8.2 Задачи работы:

1. Понятие о биологическом заражении
2. Виды биологического заражения

2.8.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Ионметрический измеритель
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.8.4 Описание (ход) работы:

В результате попадания в окружающую среду опасных биологических средств (авария, случайное заноса возбудителя болезни или применения биологического оружия) и распространения на местности болезнетворных микробов, токсинов, опасных вредителей могут образоваться зоны биологического заражения и очаги биологического поражения.

Биологические средства принадлежат к средствам массового заражения и поражения людей, животных, растений и заражения объектов внешней среды

Зона биологического заражения - это территория, зараженная биологическими возбудителями заболеваний в опасных для людей, животных или растений пределах

Возбудители инфекционных болезней могут распространяться, увеличивая зону заражения, людьми, насекомыми, особенно кровососущими, животными, грызунами, птицами. Заражаться могут люди, сельскохозяйственные животные и птица, дикие звери и птицы, воздух, местность, водоемы, колодцы, резервуары с питьевой водой, фураж, сельскохозяйственные посевы, запасы урожая, продукты питания, техника, производственные помещения пастбища и жилые помещения.

Зона заражения характеризуется видом биологических средств, размерами, расположением относительно объектов хозяйствования, времени образования, степени опасности и изменением со временем. Размеры ячейки биологического заражения зависят от типа, вида болезнетворных микробов или вредителей растений, их количества, условий попадания и размножения в окружающей среде, метеорологических условий, скорости их обнаружения с воечасности проведения профилактических и лечебных мероприятий.

Очаг биологического поражения - это территория, на которой в результате воздействия биологических средств (оружия противника) возникли массовые поражения людей, сельскохозяйственных животных, растений. Он может образоваться не только в зоне заражения, но и за ее пределами, как результат распространения инфекционных заболеваний. Очаг биологического поражения характеризуется видом биологических средств, количеством пораженных людей, тва воды, растений, продолжительности действия повреждающего свойств возбудителей хворосередку пораженииня.

На основе обобщения данных, полученных от санитарно-эпидемиологических станций, ветеринарно-бактериологических лабораторий, станций защиты растений, медицинскими службами гражданской защиты и службами защиты животных и растений устанавливаются границы зоны биологического заражения и очаги поражения.

Основой ячейки биологического поражения могут быть болезнетворные микробы, их токсины, а также наиболее опасные вредители растений

Действие биологического заражения основано на использовании болезнетворных свойств микроорганизмов (бактерий, риккетсий, грибов, а также вырабатываемых некоторыми бактериями токсинов).

В состав биологического заражения входят рецептуры болезнетворных микроорганизмов.

Основным признаком биологического заражения являются симптомы и проявившиеся признаки массового заболевания людей и животных, опасные для их жизни, что окончательно подтверждается лабораторными исследованиями.

В качестве биологических средств могут быть использованы возбудители различных инфекционных заболеваний: чумы, сибирской язвы, бруцеллеза, сапа, туляремии, холеры, желтой и других видов лихорадки, весенне-летнего энцефалита, сыпного и брюшного тифа, гриппа, малярии, дизентерии, натуральной оспы и др.

Поражения животных наряду с возбудителями сибирской язвы и сапа возможно в результате применения вирусов ящура, чумы рогатого скота и птиц, холеры свиней и др.;

Заражение людей и животных происходит в результате вдыхания зараженного воздуха, попадания микробов или токсинов на слизистую оболочку и поврежденную кожу, употребления в пищу зараженных продуктов питания и воды, укусов зараженных насекомых и клещей, соприкосновения с зараженными предметами, ранения осколками боеприпасов, снаряженных биологическими средствами, а также в результате непосредственного общения с больными людьми (животными). Ряд заболеваний быстро передается от больных людей к здоровым и вызывает эпидемии (чумы, холеры, тифа, гриппа и др.).

Виды биологического заражения

К основным средствам защиты населения от биологического заражения относятся: вакцино-сывороточные препараты, антибиотики, сульфамидные и другие лекарственные вещества, используемые для специальной и экстренной профилактики инфекционных болезней, средства индивидуальной и коллективной защиты, используемые для обезвреживания возбудителей химические вещества.

Очагом биологического заражения считаются города, населенные пункты и объекты народного хозяйства, подвергшиеся непосредственному воздействию бактериальных (биологических) средств, создающих источник распространения инфекционных заболеваний. Его границы определяют на основе данных биологической разведки, лабораторных исследований проб из объектов внешней среды, а также выявлением больных и путей распространения возникших инфекционных заболеваний. Вокруг очага устанавливают охрану, запрещают въезд и выезд, а также вывоз имущества.

Для предотвращения распространения инфекционных заболеваний среди населения в очаге поражения проводится комплекс противоэпидемических и санитарно-гигиенических мероприятий:

- экстренная профилактика;
- санитарная обработка населения;
- дезинфекция различных зараженных объектов.

При необходимости уничтожают насекомых, клещей и грызунов (дезинсекция и дератизация).

2.9 Лабораторная работа № 9 (2 часа).

Тема: «Лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению»

2.9.1 Цель работы: изучить лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению

2.9.2 Задачи работы:

1. Организация и проведение экспертизы проектов национальных стандартов
2. Проведение экспертизы экспертами
3. Проведение экспертизы проектов межгосударственных стандартов
4. Экспертиза проектов стандартов организаций

2.9.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Электрод для измерения pH мяса в комплекте с ножом
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.9.4 Описание (ход) работы:

Специализированная экспертиза проекта стандарта: Рассмотрение проекта стандарта определенного вида, для которого необходимо углубленное рассмотрение по одному или нескольким видам экспертизы.

Примечание. Примерами специализированной экспертизы являются экспертиза проекта терминологического стандарта и специализированная метрологическая экспертиза проекта стандарта на методы контроля (испытаний, измерений, анализа).

Эксперт по стандартизации: Специалист, который обладает компетентностью, необходимой для проведения экспертизы стандартов, и имеет сертификат соответствия эксперта в системе добровольной сертификации персонала, зарегистрированной Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии.

Примечание. Для целей настоящего стандарта под экспертами по стандартизации понимаются также специалисты национального органа по стандартизации, члены технических комитетов и специалисты, имеющие длительный опыт работы в организациях, функционирующих в области стандартизации, если эти специалисты уполномочены для осуществления деятельности в качестве экспертов по стандартизации национальным органом по стандартизации в устанавливаемом им порядке.

Передача проекта стандарта в технический комитет

На этапе передачи проекта стандарта от разработчика в технический комитет проводят входной контроль (нормоконтроль).

При этом рассматривают:

- соответствие наименования проекта стандарта наименованию стандарта в Программе (если стандарт включен в данную программу);
- соответствие проекта стандарта требованиям ГОСТ Р 1.5;
- правильность присвоения кодов по ОК (МК (ИСО/ИНФКО МКС) 001-96) 001, ОК 002, ОК 004, ОК 005.
- соответствие предлагаемой даты введения с датами введения взаимосвязанных стандартов;
- наличие опубликованных уведомлений о разработке стандарта и завершении публичного обсуждения проекта стандарта.

Употребляемые в проекте стандарта наименования сырья, материалов и изделий проверяют на соответствие наименованиям данной продукции в действующих в Российской Федерации национальных и межгосударственных стандартах, а также наименования технологических процессов - на соответствие стандартам Единой системы технологической подготовки производства и стандартам, регламентирующим данные технологические процессы.

Проведение экспертизы техническими комитетами

Экспертизу проекта стандарта техническим комитетом проводят на этапе подготовки окончательной редакции проекта стандарта по ГОСТ Р 1.2 (подраздел 4.3).

При этом члены технического комитета рассматривают проект стандарта и проводят его научно-техническую экспертизу.

Примечание. В случае отсутствия такого технического комитета его функции выполняет организация, назначенная национальным органом по стандартизации.

В научно-технической экспертизе проекта стандарта могут принять участие (на добровольной основе) члены технического комитета, для которых тематика рассматриваемого проекта стандарта не является объектом их непосредственной деятельности в техническом комитете (другие подкомитеты или рабочие группы), а также организации и физические лица, не являющиеся членами данного комитета.

Если предмет стандартизации затрагивает область деятельности других технических комитетов, ответственные секретари этих технических комитетов имеют право затребовать разрабатываемый стандарт и провести его экспертизу в своих технических комитетах. Результаты этой экспертизы, оформленные в виде сводки замечаний и предложений, должны быть представлены до обсуждения окончательной редакции проекта стандарта техническим комитетом, указанным в Программе, и рассмотрены во время этого обсуждения.

Технический комитет должен стремиться к тому, чтобы по проекту стандарта были приняты решения, устраивающие как всех или большинство членов данного технического комитета, так и разработчика, а также другие заинтересованные организации.

По результатам обсуждения проекта стандарта в техническом комитете разработчик осуществляет корректировку окончательной редакции проекта стандарта и сводки замечаний и предложений. Результаты обсуждения проекта стандарта и голосования по нему отражают в протоколе заседания технического комитета.

Передача проекта стандарта в национальный орган по стандартизации

При передаче проекта стандарта в национальный орган по стандартизации секретариат технического комитета (организация, которой поручено проведение экспертизы) готовит заключение об утверждении или отклонении проекта стандарта, которое подписывают председатель и ответственный секретарь технического комитета (руководитель организации). Данное заключение передают в национальный орган по стандартизации вместе с проектом стандарта и другими документами, перечень которых определен ГОСТ Р 1.2.

При необходимости национальный орган по стандартизации может организовать проведение любой дополнительной экспертизы проекта стандарта.

Проведение экспертизы экспертами

Проведение экспертизы экспертами (организациями)

Разработчик представляет заявку на разработку национального стандарта в Программу разработки национальных стандартов (далее - Программа) и при этом указывает технический комитет для экспертизы проекта стандарта.

Технический комитет с начала разработки проекта стандарта назначает по согласованию с разработчиком эксперта по стандартизации (далее - эксперт), а также, при необходимости, организацию для проведения специализированной экспертизы. В случае необходимости назначаются экспертизы специализированных видов. В случае затруднения с выбором технического комитета и/или эксперта, например, по причине их отсутствия для данной области стандартизации, национальный орган по стандартизации выбирает один из вариантов:

- назначает эксперта в близкой области стандартизации;
- назначает с участием разработчика для проведения экспертизы организацию из близкой области стандартизации.

В случае, если секретариат (ответственный секретарь) технического комитета является разработчиком стандарта, то эксперта (организацию) для проведения экспертизы назначает национальный орган по стандартизации.

Национальный орган по стандартизации проверяет обоснованность выбора технического комитета (соответствие области и предмета стандартизации). Национальный орган по стандартизации имеет право самостоятельно назначить дополнительных экспертов (организации) для экспертизы любого вида, определив при этом источник финансирования данных работ. Назначение дополнительных экспертов может быть осуществлено на любом этапе разработки стандарта.

Эксперт (организация) принимает участие в рассмотрении проекта стандарта с начала его разработки, обеспечивая, по возможности, единые сроки научно-технической экспертизы и экспертизы других видов, чтобы разработчик мог учесть все замечания до обсуждения окончательной редакции проекта стандарта техническим комитетом. Замечания эксперта (организации) и реакция разработчика на эти замечания, так же, как и на замечания членов технического комитета, других технических комитетов, других юридических и физических лиц должны быть отражены в сводке замечаний и предложений на проект стандарта, которую составляет разработчик стандарта в соответствии с ГОСТ Р 1.2 (приложение А).

Эксперт (организация) проводит экспертизу стандарта в соответствии с правилами, приведенными в разделе 8.

Результатом экспертизы проекта стандарта является заключение о возможности утверждения национального стандарта. Эксперт (организация, которой поручено проведение экспертизы) готовит данное заключение по форме, приведенной в Приложении А. Заключение подписывает эксперт или руководитель организации, проводившей экспертизу.

Проведение экспертизы проектов межгосударственных стандартов

Экспертизу проекта межгосударственного стандарта осуществляют до его размещения в Системе электронного голосования или отправки проекта стандарта на голосование в другие страны-участницы Соглашения о проведении согласованной политики в области стандартизации, метрологии и сертификации (далее - страны-участницы Соглашения). При этом экспертизу проекта межгосударственного стандарта проводят так же, как в отношении проекта национального стандарта (см. раздел 5), за исключением того, что первую редакцию проекта межгосударственного стандарта дополнительно направляют в соответствии с [ГОСТ Р 1.8](#) на рассмотрение также другим странам - участницам Соглашения.

Если в процессе голосования стран-участниц Соглашения по проекту межгосударственного стандарта получены замечания технического характера, то окончательная редакция данного проекта, доработанная с учетом этих замечаний, подлежит повторной экспертизе с участием членов технического комитета.

Экспертиза проектов стандартов организаций

Экспертизу проекта стандарта организации в техническом комитете осуществляют в соответствии с [ГОСТ Р 1.4](#) (пункт 4.15) по желанию данной организации.

Порядок организации и проведения экспертизы проекта стандарта организации определяют в договоре между организацией, ведущей секретариат технического комитета, и организацией, утверждающей данный стандарт, или организацией, разработавшей его проект.

2.10 Лабораторная работа № 10 (2 часа).

Тема: «Химико-токсикологические исследования мяса, мясопродуктов, молока и меда»

2.10.1 Цель работы: изучить химико-токсикологические исследования мяса, мясопродуктов, молока и меда

2.10.2 Задачи работы:

1. Методы определения остаточных количеств фосфор – органических пестицидов в продуктах животноводства
- 2.Выявление фосфорорганических пестицидов, хлорорганических пестицидов и карбонатов
- 3.Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах
- 4.Методика определения нитратов и нитритов в мясе (мясопродуктах) и молоке

2.10.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Электрод для измерения рН мяса в комплекте с ножом
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.10.4 Описание (ход) работы:

Поиск оптимальных методов анализа пестицидов – одна из важнейших проблем аналитической химии. С современных позиций к ним, в первую очередь, относятся капиллярная газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). Эти методы обладают высокой разделяющей способностью, необходимой при анализе многокомпонентных образцов, и высокой чувствительностью, позволяющей определять пестициды на уровне концентраций 1 мкг/дм^3 и ниже.

Выбор конкретного метода анализа во многом определяется самой аналитической задачей. К типичным задачам можно отнести следующие:

- определение пестицидов на разных стадиях их производства, приготовления готовых форм, при их хранении;
- определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, в почве и в природных водах;
- определение пестицидов в биологических образцах;
- определение пестицидов в продуктах питания, в атмосфере, в питьевой воде.

Две последние задачи являются наиболее сложными, так как они требуют одновременного определения не заведомо известных веществ, а набора соединений из всего списка применяемых на практике пестицидов, количество которых превышает 1000 названий. Задачи такого типа иногда называют скриннинговыми. Их решают, главным образом, с помощью метода ГХ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС), когда идентификация пестицидов осуществляется по заранее созданной библиотеке масс-спектров.

Учитывая большое разнообразие пестицидов при выборе методов их определения предпочтение, очевидно, надо отдавать «универсальным» методикам. Лаборатория, работающая по принципу «для каждого вещества свой метод анализа», может обеспечить высокую производительность лишь только по отношению к относительно малому количеству веществ. Переход от одной группы пестицидов к другой требует больших затрат времени на перестройку и калибровку приборов, приготовление стандартов и пр. Рассматривая химико-аналитические методы с точки зрения их «универсальности» по отношению к анализу пестицидов, можно сделать следующие замечания.

Метод ТСХ достаточно чувствительный и простой в исполнении, однако в силу своей относительно невысокой разрешающей способности «универсальным» быть не может.

Метод ГХ обладает очень высокой разрешающей способностью, но его применение ограничивается термической лабильностью ряда пестицидов и необходимостью

привлекать различные способы химической дериватизации многих пестицидов для повышения их летучести.

Метод капиллярного электрофореза, имея высокую разрешающую способность, не обеспечивает приемлемую концентрационную чувствительность и требует весьма высокую степень концентрирования образца, что часто нельзя осуществить из-за ограниченной растворимости пестицидов.

Метод ВЭЖХ обеспечивает для решения многих задач достаточное разрешение, не требует, как правило, предварительной дериватизации и пригоден для анализа термолабильных пестицидов. В сочетании с ГХ он позволяет решить практически все задачи, и именно эти два метода нашли наибольшее распространение в современной экологической аналитической химии.

Пестициды, как уже говорилось, отнесены к приоритетным экотоксикантам, и поэтому, должны находиться под постоянным контролем в объектах окружающей среды. Мониторинг пестицидов предусматривает их количественное определение в широком интервале концентраций, включающем уровень фона. Среди методов анализа, которые применимы к определению пестицидов, в первую очередь относятся высокоэффективные варианты газовой и жидкостной хроматографии.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых информативных аналитических методов. Он широко используется во всех развитых странах, но, по сравнению с другими физико-химическими методами анализа, требует весьма высокой квалификации персонала, а стоимость одного анализа достигает нескольких десятков и даже сотен долларов США. Таким образом, упрощение самой процедуры ВЭЖХ-анализа и снижение ее стоимости предоставляется важной задачей.

Указанные недостатки ВЭЖХ обусловлены тем, что для каждого пестицида (или группы пестицидов) нормативные документы регламентируют свой «уникальный» вариант ВЭЖХ-анализа. Это приводит к необходимости часто перестраивать хроматограф, что занимает много времени и требует определенного опыта. Кроме того, аналитическая лаборатория, выполняющая анализы с привлечением многих разных методик, вынуждена содержать целый склад дорогостоящих колонок, органических растворителей и стандартных образцов пестицидов.

К пестицидам, определяемым в мировой практике методом ВЭЖХ, относятся труднелетучие и термолабильные соединения. К ним относятся атразин, симазин, хлорпрофам, линурон, хлортолурон, алахлор, трифлюоалин.

В анализе пестицидов используются особые методы пробоподготовки, которые представляется полезным рассмотреть более подробно.

Жидко-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) – классический способ извлечения пестицидов из водных образцов. Обычно проводят повторяющуюся несколько раз экстракцию из 500–1000 мл водного образца в делительной воронке. Наиболее популярным растворителем является дихлорметан. Он способен экстрагировать соединения с различной полярностью и легко упаривается. Методы Агентства по охране окружающей среды США (EPA US) 8120 и 8140 используют ЖЖЭ с помощью дихлорметана для определения в воде 15 хлорорганических и 21 фосфорорганических пестицидов. Для извлечения гербицидов – производных карбоновых кислот – исходную воду подкисляют до $\text{pH} < 2$ и затем экстрагируют неионизованные молекулы диэтиловым эфиром или дихлорметаном.

Классическая ЖЖЭ трудно автоматизируется, требует больших объемов токсичных растворителей и весьма продолжительна по времени. Разделению слоев растворителей при анализе сильно загрязненных вод часто мешает образование устойчивых эмульсий. В таких случаях рекомендуют одиночную длительную ЖЖЭ делительной воронке объемом 1 л с растворителем, тяжелее воды.

Хотя классическая ЖЖЭ имеет много недостатков, она продолжает совершенствоваться. Так появилась микроЖЖЭ, разработанная как альтернативный метод

для определения гербицида алахлор и двух его метаболитов. Принцип микроЖЖЭ – экстракция из большого объема воды (400 мл) очень маленьким объемом растворителя (500 мкл толуола) – может быть применена в качестве подготовки пробы для анализа методом ГХ без стадии испарения, что важно для определения высоколетучих соединений. В сравнении с твердофазной экстракцией этот метод подготовки пробы быстрее и дешевле.

Большое число разных гербицидов (фенилмочевины, триазины, динитроанилины, хлорацетамиды и урацилы) экстрагируют из пищевых продуктов механическим встряхиванием или гомогенизацией с органическими растворителями, такими как метанол, ацетонитрил, часто смешанными с водой дихлорметаном или этилацетатом, иногда при кислом значении pH.

Высокополярные гербициды, такие как глифосат, нерастворимы в большинстве органических растворителей и их экстрагируют водой или водой с хлороформом, иногда при кислом значении pH. При этой процедуре другие растворимые в воде компоненты (аминокислоты, аминоксахара и др.) экстрагируются также. Их присутствие мешает определению глифосатов и делает необходимой очистку экстрактов, которая чаще всего осуществляется на ионообменных хроматографических колонках.

Бипиридиновые пестициды (дикват и паракват – четвертичные аммониевые соединения) обычно экстрагируют из матриц дефлегмацией или нагреванием с серной или с соляной кислотами, после чего проводят твердо-фазную экстракцию и хроматографию.

Твердофазная экстракция (ТФЭ) как метод подготовки образцов известна уже 50 лет. Ее преимущества: экономия времени и растворителей, исключение опасности образования эмульсий, возможность выделения следовых количеств аналита, возможность автоматизации. Особенно часто ТФЭ применяют при анализе природных вод.

ТФЭ активно применяют для определения триазиновых пестицидов и продуктов их распада – гидроксид-с-триазинов, гербицидов – производных мочевины, *N*-метилкарбаматов и их полярных метаболитов, хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов, полярных пестицидов пиретроидов, триазольных и пиримидиновых пестицидов. Разработаны методы ТФЭ многокомпонентных смесей, включающие большое число пестицидов различных классов. Для повышения эффективности экстракции полярных пестицидов иногда применяют колонки со смесью двух сорбентов, например фаз C18 и Фенил.

При ТФЭ кислот на фазах C18 для уменьшения потерь раствор образца целесообразно подкислить до pH<2. Для ТФЭ неионных соединений иногда применяют графитированные сорбенты и фазы, представляющие собой макросетчатые стирол-дивинилбензолные полимеры. Для пестицидов триазиновой группы, производных мочевины и группы феноксикислот успешно используют картриджи с активированной графитированной сажей *Carbopack B*, ионообменные смолы в ацетатной форме и фазу пропилен-NH₂. Для ТФЭ фосфорорганических пестицидов применяют мембранные диски из полистирол-дивинилбензола типа «XAD».

Сверхкритическая жидкостная экстракция (СКЖЭ) является относительно новым методом, применяемым для извлечения веществ с помощью специальных экстрагентов – «сверхкритических» жидкостей. Такими экстрагентами могут быть жидкие CO₂, NH₃, пропан, бутан и др. Перечисленные газы переходят в жидкое состояние при высоких давлениях, поэтому СКЖЭ проводят в автоклавах. После окончания экстракции давление в автоклавах сбрасывают до атмосферного, газ-экстрагент улетает, и в автоклаве остаются только экстрагированные вещества. Их растворяют в подходящих растворителях и растворы анализируют.

СКЖЭ используется главным образом для анализа различных классов пестицидов в почвах, тканях животных и растений. Регулируют эффективность экстракции путем добавок к экстрагенту других растворителей. Наиболее распространенный соразтворитель, добавляемый к углекислоте – метанол. Его добавление позволяет

преодолеть матричные эффекты, когда пестициды, прочно связанные с матрицей, чистой углекислотой не экстрагируются. Кроме этого, добавка метанола или ацетона повышает растворимость в углекислоте полярных соединений.

Прямая СКЖЭ редко используется для экстракции аналитов из водной матрицы. Ограничение метода связано с проблемой образования льда и с проблемой удаления воды. По окончании пробоподготовки количественное определение пестицидов осуществляют методом ВЭЖХ и часто с УФ-детектором.

Выявление фосфорорганических пестицидов, хлорорганических пестицидов и карбонатов

ПРОДУКТЫ, ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ

Фосфорорганические препараты при воздействии высокой температуры частично или полностью разрушаются. В первые часы (1 - 2) после обработки растений и, в меньшей мере, позднее они могут быть смыты водой. Фрукты, ягоды могут быть переработаны на варенье, повидло, джемы, сухофрукты после предварительного мытья. Фрукты, содержащие остаточные количества фосфорорганических пестицидов, превышающие ДОК в 3 - 4 раза, перед переработкой освобождаются от кожуры. Продукты, содержащие остатки фозалона, во всех случаях подлежат предварительной очистке от кожуры.

Не рекомендуется изготовление мармелада из плодов и ягод, содержащих остатки фосфорорганических пестицидов в количествах, превышающих ДОК в 3 - 4 раза, так как используемая при этом кратковременная термическая обработка недостаточна для их разрушения. Овощи могут быть переработаны на консервы, подвергающиеся стерилизации.

Ввиду того, что метафос, хлорофос, тиофос длительно сохраняются в кислой среде, капусту и другие овощи с наличием остатков указанных препаратов, превышающих допустимые, не рекомендуется использовать для квашения и маринования.

В связи с тем, что фосфорорганические пестициды в больших количествах накапливаются в кожуре цитрусовых, последние могут перерабатываться только после очистки от кожуры (запрещается прессовать плоды цитрусовых с наличием больших остатков пестицидов для получения соков без предварительного освобождения от кожуры). Запрещается использование кожуры в кондитерском производстве (цукаты, цедра и др.).

Зерно, содержащее остаточные количества фосфорорганических пестицидов, должно быть подвергнуто тщательному проветриванию, а в дальнейшем может подсортироваться с целью доведения остаточных количеств до допустимых норм. Перед реализацией зерно должно повторно исследоваться.

Зерно и мука могут быть использованы также для выпечки хлебобулочных изделий.

При случайном загрязнении мяса большими количествами фосфорорганических пестицидов (превышающих ДОК в 3 - 4 раза) оно не может быть реализовано через торговую сеть. Можно использовать его для изготовления вареных колбас, технология производства которых требует высокой температуры.

Молоко, содержащее хлорофос, может быть использовано в питании после кипячения.

ПРОДУКТЫ, ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ

Следует иметь в виду, что хлорорганические пестициды стойки к воздействию высокой температуры, практически нерастворимы в воде, что значительно затрудняет, а чаще делает невозможным полное освобождение пищевых продуктов от их остатков.

Фрукты и ягоды, в которых остаточные количества хлорорганических пестицидов превышают ДОК, могут быть переработаны на соки и вино. Почти все количество хлорорганических препаратов остается в мезге.

Яблоки и груши могут быть также использованы для приготовления повидла, варенья, джема, сухофруктов после предварительной очистки от кожуры, в которой содержится основное количество пестицидов.

Плоды косточковых не перерабатываются на сухофрукты, так как не могут быть освобождены от кожуры. Падалица яблок, виноград, ягоды малины и клубники могут быть использованы только для переработки на вино. Падалица плодов также используется после удаления кожуры для изготовления повидла и джема.

Мезга плодов и ягод не должна использоваться в качестве корма для скота.

Лиственные овощи, зеленый лук, петрушка, загрязненные хлорорганическими пестицидами, не должны употребляться в питании. Капуста, остаточные количества ДДТ в которой концентрируются в наружных листьях, может быть использована в питании после удаления 4 - 8 наружных листьев.

Картофель, загрязненный хлорорганическими пестицидами, может быть переработан на технический крахмал, технический спирт и применяться в качестве посевного материала.

Морковь не может перерабатываться на соки и консервы, предназначенные для детского и диетического питания.

Она может быть использована в качестве подсортировки к консервам (овощным, рыбным), подлежащим стерилизации.

Зерно, в порядке исключения, может быть переработано на высшие сорта муки (основное количество хлорорганических пестицидов концентрируется в отрубях). Зерно, значительно (см. разд. VII) загрязненное хлорорганическими пестицидами, может быть использовано лишь для технических целей (технический спирт, технический крахмал, клей), а также в качестве посевного материала.

Молоко может быть переработано на тощий творог, тощий кефир, обезжиренное сухое и сгущенное молоко. Сливки и сливочное масло, в которых остаточные количества хлорорганических пестицидов превышают допустимые, могут быть использованы в кондитерских и в других изделиях с таким расчетом, чтобы в готовой продукции остатки их не превышали допустимые в других продуктах. В противном случае они могут быть использованы только для технических целей.

Небольшие партии мяса, содержащие хлорорганические пестициды, могут быть использованы в качестве подсортировки для изготовления колбасных изделий.

Рыба, в которой обнаружены хлорорганические пестициды в количествах, не более чем в 4 раза превышающих ДОК, может быть использована для подсортировки к рыбным и овощным консервам.

Яйца с наличием хлорорганических пестицидов могут быть использованы в кондитерском производстве.

Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах

Принцип метода. Метод основан на деструкции анализируемой пробы смесью азотной и серной кислот в присутствии этилового спирта и дальнейшем определении ртути колориметрическим способом или при помощи тонкослойной хроматографии.

Колориметрическое определение основано на осаждении ртути йодидом меди или на экстракции ее дитизоном и последующем визуальном колориметрическом определении в виде тетрайодомеркуроата меди путем сравнения со стандартной шкалой.

Диапазон определения концентраций 0,25-2,00 мкг в колориметрируемом объеме. Предел обнаружения 0,25 мкг, или 0,125 мг/кг.

Метрологическая характеристика колориметрического метода определения общей ртути, основанного на осаждении ее из деструктата йодидом меди

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В склянку с деструктатом добавляют при помешивании раствор марганцовокислого калия в количестве, обеспечивающем полное окисление исследуемого образца (от 15 до 20 см³), или примерно 1 г порошка (раствор должен приобрести коричневую окраску) и оставляют пробу на 5-10 мин.

Для удаления избытка марганцовокислого калия к пробе добавляют не менее 5 см³ раствора или несколько кристаллов гидроксиламина гидрохлорида (раствор должен стать совершенно прозрачным).

Если при анализе происходит вспенивание образца, для гашения пены перед добавлением двухлористого олова в склянку вносят одну каплю силиконового масла.

В склянку приливают 5 см³ раствора двухлористого олова и сразу вводят барботер (аэратор). Ртуть, испаряясь, циркулирует по системе аэратора. Количество ее определяется по шкале прибора при длине волны 253,7 нм.

ПОДГОТОВКА ПРОБ. 200-250 г исследуемого продукта тщательно измельчают (зерновые размалывают) и перемешивают. Пиво перед деструкцией освобождают от двуокиси углерода, для чего 250-300 см³ пива наливают в коническую колбу вместимостью 1000 см³, доводят до температуры (20±1) °С на водяной бане, закрывают пробкой с одним отверстием, через которое пропущена трубка для выхода газа, закрепляют в аппарате для встряхивания и встряхивают в течение 20-30 мин.

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В колбу с охлажденным деструктатом, приготовленным добавляют взвеси йодида меди. Содержимое колбы перемешивают три раза с интервалом 5 мин и оставляют до полного осаждения осадка. Если образующийся осадок окрашен в ярко-розовый или кирпично-красный цвет, что свидетельствует о содержании ртути в образце более 25 мкг, добавляют еще 15 см³ и продукты пищевые йодида меди или анализ повторяют, уменьшив навеску образца, соответственно уменьшают и количество реактивов для деструкции.

Через 1 ч максимально возможную часть надосадочной жидкости сливают, стараясь не взмутить осадок, и отбрасывают. К осадку добавляют 15 см³ раствора сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³, взбалтывают и переносят на увлажненный водой однослойный бумажный фильтр ("синяя лента"), плотно уложенный в воронку диаметром не более 35 мм. Края фильтра должны выступать из воронки не более чем на 5 мм. Колбу из-под осадка несколько раз ополаскивают раствором сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³ и сливают на тот же фильтр с тем, чтобы весь осадок был перенесен на фильтр.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Цвет осадка	Примерное содержание ртути в образце, мкг	Объем раствора йода концентрации 3,5 г/дм для растворения ртути, см	Аликвотный объем, взятый для колориметрирования, см
Белый	0,0-0,5	6,0	6,0
Белый	0,5-5,0	10,0	3,0 и 6,0
Белый с розовым оттенком	5,0-15,0	15,0	0,5; 1,0 или 2,0
Бледно-розовый	15,0-25,0	25,0	0,5; 1,0 или 2,0
Ярко-розовый	Более 25,0	25,0	0,5 и 1,0

Методика определения нитратов и нитритов в мясе (мясопродуктах) и молоке

Определение нитратов и нитритов в молоке колориметрическим методом

Принцип метода основан на восстановлении нитратов в нитриты цинком с последующим фотометрическим измерением интенсивности окраски комплекса, образующегося при взаимодействии нитритов с сульфаниловой кислотой и α-нафтиламином. Поскольку

количество нитритов в молоке обычно незначительное, они определяются в сумме с нитратами. Содержание нитрат-ионов(мг в 1 дм³) устанавливают по градуировочному графику.

Построение градуировочного графика. В шесть колб объемом 200-250 см³ внести цилиндром по 80 см³ одного и того же молока и затем в каждую из колб добавить дистиллированную воду, стандартный раствор азотнокислого натрия и растворы сернокислого цинка, железистосинеродистого калия и гидроокиси аммония в объемах и очередности, указанных в таблице 1.

Таблица 1 – Данные для построения градуировочного графика

№ колбы	Объем молока, см ³	Объем добавленных к молоку реактивов, см ³						Примечание
		Вода дистил.	станд. р-р азотно-кисл. цинка, см ³	р-р серно-кисл. цинка, см ³	р-р железисто синеродист. К, см ³	р-р гидро-окиси аммония см ³	добавлен. к-во NO ₃ в 1 дм ³ молока, мг	
1	80	93,0	0,0	12	12	3	-	Контрол. проба
2	80	90,5	2,5	12	12	3	0,63	Рабоч. проба
3	80	88,0	5,0	12	12	3	1,25	
4	80	83,0	10,0	12	12	3	2,50	
5	80	78,0	15,0	12	12	3	3,75	
6	80	73,0	20,0	12	12	3	5,00	

После добавления каждого реактива содержимое колб вручную перемешивают круговыми движениями. Полученные стандартные смеси молока с реактивами фильтруют в конические колбы вместимостью 200-250 см³ до получения прозрачного фильтрата. Для восстановления нитратов в нитриты отбирают по 7 см³ полученных фильтратов в пробирки с притертыми пробками, добавляют 3 см³ 20%-го раствора уксусной кислоты и 0, 3 г рабочего реактива для определения нитратов. Пробирки закрывают пробками и в течение 1 мин перемешивают, затем оставляют на 5 мин для развития окраски.

Затем содержимое пробирок необходимо профильтровать через бумажный фильтр. Измеряют оптическую плотность фильтрата с зеленым светофильтром на фотоэлектроколориметре или на спектрофотометре при длине волны 538 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Окраска устойчива в течение 5- 20 мин. Величину оптической плотности окрашенных растворов стандартных смесей молока с реактивами определяют по отношению к раствору контрольной пробы. По полученным данным строят на миллиметровой бумаге 25х25 см градуировочный график. На оси абсцисс откладывают содержание нитрат-ионов, мг/дм³, на оси ординат соответствующие оптической плотности.

Проведение анализа. В колбу объемом 200-250 см³ отмеривают цилиндром 80 см³ исследуемого молока и 93 см³ дистиллированной воды, бюретками – по 12 см³ растворов сернокислого цинка и калия железистосинеродистого, 3 см³ раствора гидроокиси аммония. Смесь перемешивают после добавления каждого реактива круговыми движениями.

Полученную смесь фильтруют до получения прозрачного фильтрата. Затем из фильтрата отбирают 7 см³ образца. Далее анализ проводят, как указано выше (см. построение градуировочного графика).

Одновременно готовится холостая проба с использованием 173 см³ дистиллированной воды и тех же количеств реактивов и операций.

Величину оптической плотности окрашенного раствора пробы молока измеряют на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм по отношению к раствору холостой пробы.

Анализ проводят в двух параллельных пробах. Для каждой пробы снимают 2-3 показателя спектрофотометра и вычисляют среднее арифметическое результатов.

Обработка результатов. Содержание нитрат-ионов в 1 дм³ анализируемого молока устанавливают по градуировочному графику на основании полученной величины оптической плотности при колориметрировании окрашенного раствора анализируемой пробы по отношению к холостой пробе раствора.

Материалы и реактивы. Стандартный раствор азотнокислого натрия (растворить 0,2741 г азотнокислого натрия в 100 см³ дистиллированной воды), в день использования 10 см³ этого раствора разбавить 20% раствором уксусной кислоты до 1000 см³ в мерной колбе. В полученном растворе содержится 20 мкг нитрат-ионов; раствор сернокислого цинка (растворить 267,5 г ZnSO₄·7H₂O в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 500 см³); раствор калия железистосинеродистого (растворить 86 г калия железистосинеродистого в дистиллированной воде в мерной колбе 500 см³); 20% раствор уксусной кислоты; раствор гидроокиси аммония (смешать 80 см³ 25% гидроокиси аммония с 20 см³ дистиллированной воды); рабочий раствор для определения нитратов (смешать 100 г сернокислого бария, 10 г сернокислого марганца, 2 г цинковой пыли, 75 г лимонной кислоты, 4 г сульфаниловой кислоты, 2 г α - нафтиламина), готовить за 4 дня до анализа; пипетки, стеклянные воронки, стеклянные палочки, пробирки с притёртыми пробками, конические колбы на 200-250 см³, мерные колбы 1000 см³, спектрофотометр.

2.11 Лабораторная работа № 11 (2 часа).

Тема: «Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания»

2.11.1 Цель работы: определить химический состав, пищевую и биологическую ценность безопасности продуктов питания

2.11.2 Задачи работы:

1. Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах.
2. Место определения фосфорорганических пестицидов с помощью тонкослойной хроматографии
3. Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.
4. Ветеринарно- санитарное исследование солонины и солено- копченых изделий на свежесть

2.11.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Спектрофотометр
2. Мультимедиапроектор, интерактивная доска, компьютер

2.11.4 Описание (ход) работы:

Принцип метода. Метод основан на деструкции анализируемой пробы смесью азотной и серной кислот в присутствии этилового спирта и дальнейшем определении ртути колориметрическим способом или при помощи тонкослойной хроматографии.

Колориметрическое определение основано на осаждении ртути йодидом меди или на экстракции ее дитизоном и последующем визуальном колориметрическом определении в виде тетраиодомеркуроата меди путем сравнения со стандартной шкалой.

Диапазон определения концентраций 0,25-2,00 мкг в колориметрируемом объеме. Предел обнаружения 0,25 мкг, или 0,125 мг/кг.

Метрологическая характеристика колориметрического метода определения общей ртути, основанного на осаждении ее из деструктата йодидом меди

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В склянку с деструктатом добавляют при помешивании раствор марганцовокислого калия в количестве, обеспечивающем полное окисление исследуемого образца (от 15 до 20 см³), или примерно 1 г порошка (раствор должен приобрести коричневую окраску) и оставляют пробу на 5-10 мин.

Для удаления избытка марганцовокислого калия к пробе добавляют не менее 5 см³ раствора или несколько кристаллов гидроксиламина гидрохлорида (раствор должен стать совершенно прозрачным).

Если при анализе происходит вспенивание образца, для гашения пены перед добавлением двухлористого олова в склянку вносят одну каплю силиконового масла.

В склянку приливают 5 см³ раствора двухлористого олова и сразу вводят барботер (аэратор). Ртуть, испаряясь, циркулирует по системе аэратора. Количество ее определяется по шкале прибора при длине волны 253,7 нм.

ПОДГОТОВКА ПРОБ. 200-250 г исследуемого продукта тщательно измельчают (зерновые размалывают) и перемешивают. Пиво перед деструкцией освобождают от двуокиси углерода, для чего 250-300 см³ пива наливают в коническую колбу вместимостью 1000 см³, доводят до температуры (20±1) °С на водяной бане, закрывают пробкой с одним отверстием, через которое пропущена трубка для выхода газа, закрепляют в аппарате для встряхивания и встряхивают в течение 20-30 мин.

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ. В колбу с охлажденным деструктатом, приготовленным добавляют взвеси йодида меди. Содержимое колбы перемешивают три раза с интервалом 5 мин и оставляют до полного осаждения осадка. Если образующийся осадок окрашен в ярко-розовый или кирпично-красный цвет, что свидетельствует о содержании ртути в образце более 25 мкг, добавляют еще 15 см³ и продукты пищевые йодида меди или анализ повторяют, уменьшив навеску образца, соответственно уменьшают и количество реактивов для деструкции.

Через 1 ч максимально возможную часть надосадочной жидкости сливают, стараясь не взмутить осадок, и отбрасывают. К осадку добавляют 15 см³ раствора сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³, взбалтывают и переносят на увлажненный водой однослойный бумажный фильтр ("синяя лента"), плотно уложенный в воронку диаметром не более 35 мм. Края фильтра должны выступать из воронки не более чем на 5 мм. Колбу из-под осадка несколько раз ополаскивают раствором сернокислого натрия концентрации 10 г/дм³ и сливают на тот же фильтр с тем, чтобы весь осадок был перенесен на фильтр.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Цвет осадка	Примерное содержание ртути в образце, мкг	Объем раствора йода концентрации 3,5 г/дм для растворения ртути, см	Аликвотный объем, взятый для колориметрирования, см
Белый	0,0-0,5	6,0	6,0
Белый	0,5-5,0	10,0	3,0 и 6,0

Белый розовым оттенком	с	5,0-15,0	15,0	0,5; 1,0 или 2,0
Бледно- розовый		15,0-25,0	25,0	0,5; 1,0 или 2,0
Ярко-розовый		Более 25,0	25,0	0,5 и 1,0

Место определения фосфорорганических пестицидов с помощью тонкослойной хроматографии

Поиск оптимальных методов анализа пестицидов – одна из важнейших проблем аналитической химии. С современных позиций к ним, в первую очередь, относятся капиллярная газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). Эти методы обладают высокой разделяющей способностью, необходимой при анализе многокомпонентных образцов, и высокой чувствительностью, позволяющей определять пестициды на уровне концентраций 1 мкг/дм^3 и ниже.

Выбор конкретного метода анализа во многом определяется самой аналитической задачей. К типичным задачам можно отнести следующие:

- определение пестицидов на разных стадиях их производства, приготовления готовых форм, при их хранении;
- определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, в почве и в природных водах;
- определение пестицидов в биологических образцах;
- определение пестицидов в продуктах питания, в атмосфере, в питьевой воде.

Две последние задачи являются наиболее сложными, так как они требуют одновременного определения не заведомо известных веществ, а набора соединений из всего списка применяемых на практике пестицидов, количество которых превышает 1000 названий. Задачи такого типа иногда называют скриннинговыми. Их решают, главным образом, с помощью метода ГХ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС), когда идентификация пестицидов осуществляется по заранее созданной библиотеке масс-спектров.

Учитывая большое разнообразие пестицидов при выборе методов их определения предпочтение, очевидно, надо отдавать «универсальным» методикам. Лаборатория, работающая по принципу «для каждого вещества свой метод анализа», может обеспечить высокую производительность лишь только по отношению к относительно малому количеству веществ. Переход от одной группы пестицидов к другой требует больших затрат времени на перестройку и калибровку приборов, приготовление стандартов и пр. Рассматривая химико-аналитические методы с точки зрения их «универсальности» по отношению к анализу пестицидов, можно сделать следующие замечания.

Метод ТСХ достаточно чувствительный и простой в исполнении, однако в силу своей относительно невысокой разрешающей способности «универсальным» быть не может.

Метод ГХ обладает очень высокой разрешающей способностью, но его применение ограничивается термической лабильностью ряда пестицидов и необходимостью привлекать различные способы химической дериватизации многих пестицидов для повышения их летучести.

Метод капиллярного электрофореза, имея высокую разрешающую способность, не обеспечивает приемлемую концентрационную чувствительность и требует весьма высокую степень концентрирования образца, что часто нельзя осуществить из-за ограниченной растворимости пестицидов.

Метод ВЭЖХ обеспечивает для решения многих задач достаточное разрешение, не требует, как правило, предварительной дериватизации и пригоден для анализа термолабильных пестицидов. В сочетании с ГХ он позволяет решить практически все задачи, и именно эти два метода нашли наибольшее распространение в современной экологической аналитической химии.

Пестициды, как уже говорилось, отнесены к приоритетным экотоксикантам, и поэтому, должны находиться под постоянным контролем в объектах окружающей среды. Мониторинг пестицидов предусматривает их количественное определение в широком интервале концентраций, включающем уровень фона. Среди методов анализа, которые применимы к определению пестицидов, в первую очередь относятся высокоэффективные варианты газовой и жидкостной хроматографии.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых информативных аналитических методов. Он широко используется во всех развитых странах, но, по сравнению с другими физико-химическими методами анализа, требует весьма высокой квалификации персонала, а стоимость одного анализа достигает нескольких десятков и даже сотен долларов США. Таким образом, упрощение самой процедуры ВЭЖХ-анализа и снижение ее стоимости предоставляется важной задачей.

Указанные недостатки ВЭЖХ обусловлены тем, что для каждого пестицида (или группы пестицидов) нормативные документы регламентируют свой «уникальный» вариант ВЭЖХ-анализа. Это приводит к необходимости часто перестраивать хроматограф, что занимает много времени и требует определенного опыта. Кроме того, аналитическая лаборатория, выполняющая анализы с привлечением многих разных методик, вынуждена содержать целый склад дорогостоящих колонок, органических растворителей и стандартных образцов пестицидов.

К пестицидам, определяемым в мировой практике методом ВЭЖХ, относятся труднолетучие и термолабильные соединения. К ним относятся атразин, симазин, хлорпрофам, линурон, хлортолурун, алахлор, трифлюоалин.

В анализе пестицидов используются особые методы пробоподготовки, которые представляется полезным рассмотреть более подробно.

Жидко-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) – классический способ извлечения пестицидов из водных образцов. Обычно проводят повторяющуюся несколько раз экстракцию из 500–1000 мл водного образца в делительной воронке. Наиболее популярным растворителем является дихлорметан. Он способен экстрагировать соединения с различной полярностью и легко упаривается. Методы Агентства по охране окружающей среды США (EPA US) 8120 и 8140 используют ЖЖЭ с помощью дихлорметана для определения в воде 15 хлорорганических и 21 фосфорорганических пестицидов. Для извлечения гербицидов – производных карбоновых кислот – исходную воду подкисляют до $pH < 2$ и затем экстрагируют неионизованные молекулы диэтиловым эфиром или дихлорметаном.

Классическая ЖЖЭ трудно автоматизируется, требует больших объемов токсичных растворителей и весьма продолжительна по времени. Разделению слоев растворителей при анализе сильно загрязненных вод часто мешает образование устойчивых эмульсий. В таких случаях рекомендуют одиночную длительную ЖЖЭ делительной воронке объемом 1 л с растворителем, тяжелее воды.

Хотя классическая ЖЖЭ имеет много недостатков, она продолжает совершенствоваться. Так появилась микроЖЖЭ, разработанная как альтернативный метод для определения гербицида алахлор и двух его метаболитов. Принцип микроЖЖЭ – экстракция из большого объема воды (400 мл) очень маленьким объемом растворителя (500 мкл толуола) – может быть применена в качестве подготовки пробы для анализа методом ГХ без стадии испарения, что важно для определения высоколетучих соединений. В сравнении с твердофазной экстракцией этот метод подготовки пробы быстрее и дешевле.

Большое число разных гербицидов (фенилмочевины, триазины, динитроанилины, хлорацетамиды и урацилы) экстрагируют из пищевых продуктов механическим встряхиванием или гомогенизацией с органическими растворителями, такими как метанол, ацетонитрил, часто смешанными с водой дихлорметаном или этилацетатом, иногда при кислотном значении pH.

Высокополярные гербициды, такие как глифосат, нерастворимы в большинстве органических растворителей и их экстрагируют водой или водой с хлороформом, иногда при кислотном значении pH. При этой процедуре другие растворимые в воде компоненты (аминокислоты, аминокислоты и др.) экстрагируются также. Их присутствие мешает определению глифосатов и делает необходимой очистку экстрактов, которая чаще всего осуществляется на ионообменных хроматографических колонках.

Бипиридиновые пестициды (дикват и паракват – четвертичные аммониевые соединения) обычно экстрагируют из матриц дефлегмацией или нагреванием с серной или с соляной кислотами, после чего проводят твердо-фазную экстракцию и хроматографию.

Твердофазная экстракция (ТФЭ) как метод подготовки образцов известна уже 50 лет. Ее преимущества: экономия времени и растворителей, исключение опасности образования эмульсий, возможность выделения следовых количеств аналита, возможность автоматизации. Особенно часто ТФЭ применяют при анализе природных вод.

ТФЭ активно применяют для определения триазиновых пестицидов и продуктов их распада – гидроксидов-с-триазинов, гербицидов – производных мочевины, *N*-метилкарбаматов и их полярных метаболитов, хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов, полярных пестицидов пиретроидов, триазольных и пиримидиновых пестицидов. Разработаны методы ТФЭ многокомпонентных смесей, включающие большое число пестицидов различных классов. Для повышения эффективности экстракции полярных пестицидов иногда применяют колонки со смесью двух сорбентов, например фаз C18 и Фенил.

При ТФЭ кислот на фазах C18 для уменьшения потерь раствор образца целесообразно подкислить до pH<2. Для ТФЭ неионных соединений иногда применяют графитированные сорбенты и фазы, представляющие собой макросетчатые стирол-дивинилбензолные полимеры. Для пестицидов триазиновой группы, производных мочевины и группы феноксикислот успешно используют картриджи с активированной графитированной сажей *Carborack B*, ионообменные смолы в ацетатной форме и фазу пропилен-NH₂. Для ТФЭ фосфорорганических пестицидов применяют мембранные диски из полистирол-дивинилбензола типа «XAD».

Сверхкритическая жидкостная экстракция (СКЖЭ) является относительно новым методом, применяемым для извлечения веществ с помощью специальных экстрагентов – «сверхкритических» жидкостей. Такими экстрагентами могут быть жидкие CO₂, NH₃, пропан, бутан и др. Перечисленные газы переходят в жидкое состояние при высоких давлениях, поэтому СКЖЭ проводят в автоклавах. После окончания экстракции давление в автоклавах сбрасывают до атмосферного, газ-экстрагент улетает, и в автоклаве остаются только экстрагированные вещества. Их растворяют в подходящих растворителях и растворы анализируют.

СКЖЭ используется главным образом для анализа различных классов пестицидов в почвах, тканях животных и растений. Регулируют эффективность экстракции путем добавок к экстрагенту других растворителей. Наиболее распространенный соразтворитель, добавляемый к углекислоте – метанол. Его добавление позволяет преодолеть матричные эффекты, когда пестициды, прочно связанные с матрицей, чистой углекислотой не экстрагируются. Кроме этого, добавка метанола или ацетона повышает растворимость в углекислоте полярных соединений.

Прямая СКЖЭ редко используется для экстракции аналитов из водной матрицы. Ограничение метода связано с проблемой образования льда и с проблемой удаления воды

По окончании пробоподготовки количественное определение пестицидов осуществляют методом ВЭЖХ и часто с УФ-детектором.

Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.

Продукты не равнозначны по своей пищевой ценности. Описание пищевой ценности продукта в целом дает наиболее полное представление о всех полезных свойствах пищевого продукта, в том числе и о его энергетической и биологической ценности.

Энергетическая ценность пищевого продукта характеризует его усвояемую энергию, то есть ту долю суммарной энергии химических связей белков, жиров и углеводов, которая может высвободиться в процессе биологического окисления и использоваться для обеспечения физиологических функций организма. Величина этой энергии зависит главным образом от степени усвоения питательных веществ данного пищевого продукта. Усвоение питательных веществ из продуктов животного происхождения выше, чем из растительных продуктов.

Усвояемость питательных веществ (в %) из разных пищевых продуктов. Из смешанной пищи белки усваиваются в среднем на 92%, жиры – на 95%, углеводы – на 98%. Установлены расчетные энергетические коэффициенты питательных веществ - для белков и углеводов – 4 ккал/г, для жиров – 9 ккал/г.

Пищевые продукты	Питательные вещества		
	белки	жиры	углеводы
Животная пища	97	95	98
Злаки и хлебные культуры	85	90	98
Сушеные овощи	78	90	97
Свежие овощи	83	90	95
Фрукты	85	90	90
Смешанная пища	92	95	98

Мерой пищевой ценности продукта служит интегральный скор, который представляет собой ряд расчетных величин, выраженных в процентах, характеризующих степень соответствия оцениваемого продукта оптимально сбалансированному суточному рациону с учетом энергосодержания и наиболее важных качественных показателей. Интегральный скор определяют обычно в расчете на такую массу продукта, которая обеспечивает 10% энергии суточного рациона (например, 300 ккал при суточном рационе в 3000 ккал). Для определения интегрального сора, на первом этапе, по соответствующим таблицам находят энергосодержание 100 г оцениваемого продукта, после чего вычисляют его массу, обеспечивающую 300 ккал энергии. Затем в найденном количестве продукта рассчитывают содержание важнейших питательных веществ. Полученные по каждому из этих веществ величины представляют в виде процента от общего количества соответствующего вещества, содержащегося в оптимально сбалансированном суточном рационе.

Определение интегрального сора пищевых продуктов существенно расширяет информацию об их химическом составе. Исследование способствует количественной оценке преимуществ или недостатков отдельных продуктов питания.

Интегральный скор некоторых продуктов питания:

Показатели	Говядина	Свинина	Треска	Молоко	Хлеб	из
химического состава и категории	жирная			коровье	пшеничной	КартофельСахар
энергосодержания					муки 1 сорта	
Белки	3360	814	78146	1628	110	8,00
Жиры	220	330	30	190	15	0,42

Углеводы				5	15	16,0	18
Натрий	2	1	6	5	13	2,0	
Калий	14	3	36	19	5	55,0	
Кальций	2		17	70	4	4,0	
Фосфор	25	6	71	38	9	17,0	
Железо	28	5	16	1	14	21,0	2
Витамин С				9		90,0	
Витамин В1	6	14	21	9	12	25,0	
Витамин В2	11	3	28	30	5	8,0	
Энергосодержание	10	10	10	10	10	10,0	10

Ветеринарно- санитарное исследование солонины и солено- копченых изделий на свежесть

Исследование солонины проводят при нарушении технологии ее изготовления, при подозрении на использование недоброкачественного сырья или порчу продукта, при нарушении режима и срока хранения, а также по требованию органов ветеринарного и санитарного надзора.

При длительном хранении и при нарушении режима температуры и влажности соленые мясопродукты под воздействием микроорганизмов начинают портиться (образование слизи, плесневение, прогоркание жира, гниение). Наиболее распространенный вид порчи—плесневение. Поскольку плесени — аэробы, они растут и развиваются преимущественно на поверхности продукта (белая плесень). Существует зеленая и черная плесени, которые могут прорасти в глубокие слои мяса. В отличие от гнилостных микроорганизмов плесени могут развиваться в кислой среде, сравнительно низкой влажности воздуха (75 %) и низких температурах (—6—+14°C). Плесневение солонины создает благоприятные условия для развития в ней гнилостных микроорганизмов.

Для лабораторного исследования отбирают отдельные куски солонины из верхних, средних и нижних рядов. Общий вес пробы не должен превышать 300 г и включать участки, прилегающие к кости. Если солонину готовили мокрым или смешанным способом, то для анализа отправляют и рассол — 200 мл. Пробу заворачивают в пергаментную бумагу или целлофан и вместе с сопроводительным документом доставляют в лабораторию.

В сопроводительном документе указывают вид продукта, его принадлежность, перечень пересылаемых проб, время и причину взятия материала, органолептические показатели и предмет исследования. Этот документ составляется в произвольной форме, подписывается ветеринарным специалистом. Печать необязательна.

План работы:

- 1) исследовать солонину органолептически;
- 2) определить содержание поваренной соли;
- 3) определить содержание нитритов;
- 4) определить содержание влаги (для солено-копченых изделий);
- 5) дать заключение.

Оборудование и реактивы: образцы солонины или солено-копченых мясных изделий; цилиндры; колбы мерные на 100 мл; химические стаканы; колориметр Дюбоска; пробирки на 12 мл; бюксы с песком и палочками; азотнокислое серебро — 0,1 н. раствор; хромовокислый калий — 5 %-ный раствор; реактив Карреза 1 и реактив Карреза 2.

По степени свежести эти продукты подразделяют на три категории: свежие, сомнительные и несвежие. При санитарном исследовании указанных продуктов применяют органолептический и лабораторные методы. Одновременно устанавливают доброкачественность рассола.

Задание. Определить доброкачественность солонины и рассола органолептическим и лабораторным методами. План работы. Исследование рассола:

1) определить органолептические показатели: цвет, прозрачность, запах;

2) определить pH и поставить реакцию на пероксидазу. Исследование солонины:

1) определить органолептические показатели; цвет с поверхности и на разрезе, консистенцию, запах;

2) исследовать солонину с применением стандартных лабораторных методов: бактериоскопия, содержание летучих жирных кислот, реакция с медным купоросом в бульоне;

3) исследовать солонину с применением упрощенных и качественных методов: определить pH, поставить реакцию на пероксидазу, сероводород, аммиак по Эберу, провести люминесцентный анализ;

4) дать заключение о санитарном качестве солонины.

Оборудование и реактивы: образцы рассола и солонины различных категорий свежести, а также все то, что предусмотрено для определения свежести мяса (см. стр. 82).

Органолептическое исследование. Внешне осматривают все бочки или чаны с солониной, а затем и сам продукт. Органолептическое исследование солонины начинают с исследования рассола. Устанавливают цвет, запах и прозрачность. Для этого его наливают в стеклянный цилиндр. Анализ проводят при комнатной температуре и дневном освещении.

У доброкачественной солонины рассол красного или розовато-красного цвета, без пены, хлоньен и постороннего запаха, прозрачный.

У несвежей солонины рассол грязно-красного или бурого цвета, пенистый, с хлопьями и посторонним запахом, мутный.

Если органолептические показатели рассола вызывают подозрение, то при возможности необходимо осмотреть все содержимое бочки или чана.

При органолептическом исследовании солонины определяют внешний вид и цвет с поверхности и на разрезе, консистенцию и запах.

Доброкачественная солонина с поверхности чистая, без плесени и слизи, темно-красного или ярко-красного цвета, цвет на разрезе красный, без пятен, окраска равномерная, консистенция плотная, запах приятный, характерный для свежей солонины.

Солонина подозрительной свежести с поверхности более темного цвета, иногда слегка ослизнена, на разрезе окраска равномерная, но по периферии куска заметен темноватый ободок, консистенция менее плотная, запах легкого закисания или незначительной затхлости.

У несвежей солонины поверхность темного цвета, ослизнена, иногда покрыта плесенью, цвет на разрезе неравномерный — серый, темно-красный или коричневый, консистенция дряблая, запах резко кислый, гнилостный или аммиачный.

Свиные окорока должны иметь чистую поверхность, без загрязнений, слизи и плесени; считают дефектами выхваты мяса и шпика, наличие остатков щетины или бахромок. Консистенция солено-копченых окороков плотная, вареных — упругая. Цвет поверхности разреза окороков розово-красный, равномерный, жир белого цвета или с розоватым оттенком. Запах приятной копчености — у копченых окороков и ветчинности — у вареных; вкус ветчинный, в меру соленый — у вареных окороков и солений, острый — у копченых.

Доброкачественные копченые продукты из свинины, такие как корейка, грудинка, бекон, шейка, карбонад и филей, должны соответствовать по органолептике таким же показателям.

Отклонение от этих признаков свидетельствует о той или иной недоброкачественности продуктов. Несвежие солено-копченые продукты снаружи обычно покрыты плесенью, проникшей в мышечную ткань. Беконные полутушки ослизнены, в особенности в местах выемки лопаток и тазовых костей; в мышечной ткани, прилегающей

к костям, отмечают позеленение, запах гнилостный. Вкус неприятный, кислый. Жир грудинок, кореек и бекона желтоватый, прогорклый.

Определение pH рассола. Около 40—50 г рассола наливают в широкую пробирку или колбу и выдерживают в водяной бане при температуре 70 °С до свертывания белков. Затем фильтруют через бумажный фильтр. Определение pH проводят с помощью набора Михаэли-са или потенциометрически так же, как и в экстракт-фильтрате из мяса (см. стр. 77).

Рассол доброкачественной солонины имеет pH не более 6,2, солонины сомнительной свежести — 6,3—6,8 и несвежей — 6,9 и выше.

Реакция на пероксидазу с рассолом. Реакцию на пероксидазу применяют как дополнительный метод исследования, она дает четкий результат при постановке с неразведенным рассолом. Техника постановки реакции такая же, как и при исследовании мясного экстракта-фильтрата (см. стр. 80). Рассол из доброкачественной солонины окрашивается в сине-зеленый цвет; в рассолах из солонины начальных стадий порчи сине-зеленый цвет появляется с большой задержкой, а в рассолах несвежей солонины не появляется вообще. С пробами рассола положительная реакция на пероксидазу отмечается при pH до 6,4—6,5; при pH рассола 6,6 реакция бывает сомнительной, а при pH 6,6 и выше — отрицательной.

Лабораторное исследование солонины и солено-копченых мясных изделий на свежесть проводят при сомнительных органолептических показателях. Оно включает весь комплекс методов, предусмотренный стандартом для неконсервированного мяса; бактериоскопия, определение летучих жирных кислот, постановка реакции с сернокислой медью в бульоне. В малооснащенных лабораториях (помимо бактериоскопии и реакции с медным купоросом в бульоне) определяют pH, наличие аммиака по Эберу, а также ставят бензидиновую пробу, и проводят люминесцентный анализ. Техника постановки всех этих определений такая же, как и для неконсервированного мяса. Водную вытяжку готовят в соотношении 1:4.

Бактериоскопия. Мазки-отпечатки готовят по общепринятой методике. При бактериоскопии обращают внимание на густоту окрашивания препарата, а также количественный и качественный состав микрофлоры.

Мазки-отпечатки из доброкачественной солонины или солено-копченых мясных изделий окрашиваются слабо. В одном поле зрения препарата из поверхностного слоя обнаруживают единичные микробные тела; в мазках из глубоких слоев микроорганизмы отсутствуют.

Мазки из продукта сомнительной свежести окрашиваются более отчетливо. В поле зрения препаратов из поверхностных и глубоких слоев находят 10—20 палочек и кокков.

При недоброкачественности продукта мазки окрашиваются густо, в полях зрения находят более 20 микроорганизмов, преимущественно палочек.

Реакция с сернокислой медью в бульоне. Заключение о доброкачественности солонины по этой реакции делают так же, как и при исследовании неконсервированного мяса (см. стр. 88). В некоторых случаях в бульоне из солонины, допустимой в немедленную реализацию, образуется желеобразный осадок.

Определение pH. Величина pH водных вытяжек (1:4) из солонины или солено-копченых мясных изделий закономерно изменяется в зависимости от степени свежести: доброкачественные продукты — 5,8—6,4; сомнительной свежести — 6,5—6,6 и несвежие — 6,7 и выше.

Реакция на пероксидазу. Постановку этой реакции см. на стр. 80. Вытяжка из свежей солонины или солено-копченых мясных изделий окрашивается в сине-зеленый цвет в течение первой минуты, в сомнительных случаях слабое позеленение наступает в течение одной-двух минут и сразу же переходит в бурый цвет. Цвет вытяжки из несвежих продуктов не изменяется. Положительный результат бензидиновой пробы обнаруживают

в вытяжках, имеющих рН до 6,4; при рН от 6,4 до 6,5 реакция слабо положительна и выше 6,5 — отрицательна.

При отсутствии гнилостной порчи отрицательная реакция на пероксидазу дает основание предполагать, что солонина приготовлена из мяса больных животных. * Определение аммиака (по Эберу). Необходимо приготовить реактив Эбера. Для этого берут 1 часть концентрированной соляной кислоты, 1 часть эфира и 3 части этилового спирта. Основной реагент — хлористый водород; эфир способствует быстрому испарению жидкости. Газообразный аммиак, выделяющийся из продукта, соединяется с хлористым водородом, образуя нашатырь (белое облачко).

Нельзя исследовать охлажденные продукты, так как возможна конденсация воды и появление ложного облачка.

Порядок выполнения работы. В пробирку наливают приблизительно 1 мл реактива Эбера. Пробирку встряхивают и закрывают пробкой с пропущенной через нее проволокой или стеклянной палочкой, заканчивающейся крючком. На крючок надевают маленький кусочек исследуемой солонины. Расстояние между кусочком солонины и поверхностью реактива должно быть приблизительно 1 см. При наличии в солонине газообразного аммиака в пробирке появляется белое облачко нашатыря. Облачко более заметно при движении палочки вверх и вниз, особенно в момент извлечения кусочка продукта из пробирки.

Интенсивность реакции отмечают следующим образом: отрицательная или слабо положительная — быстро исчезающее облачко, появляющееся в момент извлечения кусочка продукта из пробирки; положительная — устойчивое облачко, появляющееся через несколько секунд после внесения кусочка в пробирку с реактивом; резко положительная — облачко появляется немедленно при внесении кусочка в пробирку.

Определение сероводорода. Постановка этой реакции и оценка санитарного качества солонины и солено-копченых мясных изделий по ее результатам такие же, как и при определении доброкачественности мяса (см. стр. 203).

Люминесцентный анализ. Визуальную люминесценцию мясной вытяжки (1 :4), свободной от белков, проводят с помощью флюороскопа и аппарата «Ультрасвет».

Вытяжки из доброкачественной солонины не флуоресцируют или излучают бледно-розовый цвет, из солонины сомнительной свежести — молочно-голубой и из несвежей — голубой цвет.

Санитарная оценка. Заключение по результатам исследования солонины и солено-копченых мясных изделий делают на основании органолептической оценки и данных лабораторного анализа. Продукты сомнительной свежести подлежат санитарной обработке, которая заключается в зачистке кусков и замене испорченного или подозрительного рассола вновь приготовленным или доброкачественным маточным рассолом. Окончательный вопрос об использовании такой солонины решают после повторного органолептического и лабораторного исследований. При необходимости проводят бактериологическое исследование. Для этого в лабораторию отправляют два кусочка мышц из разных мест, уцелевшие лимфатические узлы, рассол, а при наличии и трубчатую кость.