

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ**

Спеціальність 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза».

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
В.о. зав. кафедри фізіології та біохімії
с.-г. тварин
доцент _____ Владислав ЧУМАК
« » _____ 2022 р.

ДИПЛОМНА РОБОТА

**ІНТЕГРАТИВНИЙ ПІДХІД У ВИЗНАЧЕННІ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ
ТА БЕЗПЕЧНОСТІ НАПІВФАБРИКАТІВ М'ЯСНИХ В УМОВАХ
НАУКОВО-ДОСЛІДНОГО ЦЕНТРУ БІОБЕЗПЕКИ ТА
ЕКОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ РЕСУРСІВ АГРОПРОМИСЛОВОГО
КОМПЛЕКСУ ДНІПРОВСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО АГРАРНО-
ЕКОНОМІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

26.06 – ДР. 0761 22 04 15. 001. ПЗ

Здобувач вищої освіти _____	Вікторія ГОЛОВАНЕНКО
Керівник дипломної роботи д. вет. наук, проф.. _____	Дмитро МАСЮК
Консультанти: з охорони праці канд. с.-г. наук, доц. _____	Валентина САПРОНОВА
з економічних питань канд. вет. наук, доц. _____	Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

Дніпро – 2022

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	4
АНОТАЦІЯ.....	6
ВСТУП.....	8
1.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Класифікація напівфабрикатів м'ясних.....	10
1.2. Показники якості напівфабрикатів м'ясних.....	13
1.3. Показники безпечності напівфабрикатів м'ясних.....	19
2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	23
2.1. Матеріали і методи.....	23
2.2. Характеристика підприємства.....	36
2.3. Результати власних досліджень.....	40
2.3.1. Органолептичний та мікроструктурний аналіз напівфабрикатів м'ясних.....	40
2.3.2. Ідентифікувати видовий склад напівфабрикатів м'ясних.....	48
2.3.3. Мікробіологічні показники напівфабрикатів м'ясних.....	52
2.3.4. Розрахунок економічної ефективності.....	55
3. ОХОРОНА ПРАЦІ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ	62
3.1. Аналіз стану охорони праці у науково-дослідному центрі біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового	

комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету	62
3.2. Аналіз небезпечних та шкідливих виробничих	
факторів.....	64
3.3. Пожежна	
безпека.....	66
4. ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ	
ВИРОБНИЦТВУ.....	68
5. СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ	
ЛІТЕРАТУРИ.....	70
6. ДОДАТКИ.....	76

Реферат

Дипломна робота викладена на 80 сторінках комп'ютерного тексту і містить вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень та їх аналіз, розрахунок економічної ефективності, охорону праці, висновки та пропозиції, список використаної літератури та додатки. Робота виконана на 80 сторінках та включає в себе 17 рисунків, 12 таблиць та 3 додатки, список використаної літератури налічує 49 джерел.

Тема дипломної роботи: “Інтегративний підхід у визначенні показників якості та безпечності напівфабрикатів м'ясних в умовах Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету”.

Метою роботи нашої роботи було встановити інтегративний підхід у визначенні показників якості та безпечності напівфабрикатів м'ясних.

Дослідження проводили в умовах науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Матеріалом дослідження були обрані 3 зразки фаршу та 2 зразки ковбасок з фаршу надані замовником що реалізуються у торговій мережі м. Дніпро. Дослідження включало в себе визначення органолептичних показників, мікроструктурний аналіз, вивчення видової ідентифікації напівфабрикатів методом полімеразної ланцюгової реакції та бактеріологічне дослідження. У дипломній роботі узагальнені отримані результати щодо проведених досліджень.

За результатами досліджень було запропоновано використовувати у профільних лабораторіях Держпродспоживслужби окрім класичних методів дослідження показників якості та безпечності, ще молекулярний

метод дослідження видової ідентифікації напівфабрикатів м'ясних , як сучасний та високоспецифічний вид дослідження.

Апробація дипломної роботи. Доповідь на VII Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи», яка відбулася 16-17 червня 2022 року, за результатами якої була надрукована наукова публікація на тему «Ідентифікація тваринних тканин у напівфабрикатах м'ясних методом qPCR».

АНОТАЦІЯ

Дипломна робота Голованенко В.С. на тему “Інтегративний підхід у визначенні показників якості та безпечності напівфабрикаті м’ясних в умовах наукового- дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету”. У дипломній роботі розкрито вирішення завдань та узагальнено отримані результати щодо визначення показників якості та безпечності напівфабрикатів м’ясних.

Органолептичними та мікробіологічними дослідженнями було встановлено, що всі зразки відповідають нормативним вимогам, тоді як за мікроструктурним аналізом було виявлено, що у зразку №1 та 5 м’ясо з ознаками тривалого зберігання та заморожування та по співвідношенню складових компонентів всі зразки не відповідають нормативним вимогам. Видовою ідентифікацією тканин з’ясовано, що у виробках м’ясних (зразок № 1 і 3), у складі містяться не зазначені у рецептурі компоненти – тканини курки та свинини відповідно.

Економічна ефективність за проведеним мікроструктурним аналізом складає 352,53 грн, методом ПЛР –за двома позиціями 513,88 та 228,88 та за мікробіологічним дослідженням складає 111,72 грн. Тому у профільних лабораторіях НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ проведення досліджень за показниками якості та безпечності у харчовій продукції є економічно обґрунтованими.

Ключові слова: напівфабрикати, показники якості та безпечності, ПЛР, діагностика, мікроструктурний аналіз, мікробіологічне дослідження.

ANNOTATION

Thesis Golovanenko V.S. on the topic "Integrative approach in determining the quality and safety of meat semi-finished products in the research center of biosafety and environmental control of resources of the agro-industrial complex of the Dnieper State Agrarian and Economic University." The thesis reveals the solution of problems and summarizes the results of determining the quality and safety of semi-finished meat products.

Organoleptic and microbiological studies have shown that all samples meet regulatory requirements, while microstructural analysis found that samples №1 and 5 meat with signs of long-term storage and freezing and the ratio of components, all samples do not meet regulatory requirements. Species identification of tissues revealed that meat products (samples № 1 and 3) contain components not specified in the recipe - chicken and pork tissues, respectively.

The economic efficiency of the microstructural analysis is 352.53 UAH, the PCR method - for two positions 513.88 and 228.88 and the microbiological study is 111.72 UAH. Therefore, in the specialized laboratories of the Research Center for Biosafety and Environmental Control of Resources of the State Agrarian University of Ukraine, research on quality and safety in food products is economically justified.

Key words: semi-finished products, quality and safety indicators, PCR, diagnostics, microstructural analysis, microbiological research

Вступ

Проблема забезпечення населення безпечною продукцією агропромислового комплексу надзвичайно актуальна. Вона носить глобальний характер, адже дефіцит якісної сировини існує в більшості країн, Україна не виключення, а попит на продукцію навпаки зростає [8,17]. Тому питання безпечності та якості харчових продуктів дуже важливе не лише для Уряду нашої країни, а й для кожного громадянина як споживача. [35].

М'ясні напівфабрикати, що представляють собою повністю готовою продукцією до термічної обробки, досить часто присутні у раціоні людини.

Тому важливо, щоб на прилавках супермаркетів та магазинів була тільки якісна та безпечна продукція. З цією метою стандарти встановлюють регламентовані вимоги до м'ясної сировини, інгредієнтів, якості продукту, приймання, методів випробувань, маркування, пакування, транспортування і зберігання, які забезпечують випуск безпечних напівфабрикатів м'ясних гарантовано високої якості. Саме тому важливим завданням у лабораторній діагностиці є комплексна оцінка показників якості та безпечності продукції.

На даний момент використовуються методи органолептичного, мікробіологічного контролю, що дають можливість визначити якість та безпеку конкретної партії м'ясної сировини. Мікроструктурний аналіз у ряді випадків дозволяє виявити використання субпродуктів, соєвих білкових та вуглеводні добавки. Але за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції можна вирішити не менш важливе завдання, що виникає в практиці визначення якості м'ясної продукції - встановлення видової приналежності м'ясних та рослинних інгредієнтів.

З огляду на це особливої актуальності набувають сучасні лабораторні методи дослідження показників якості та безпечності напівфабрикатів.

Об'єкт дослідження – інтегративна оцінка якості та безпечності напівфабрикатів м'ясних.

Предмет дослідження - м'ясний фарш та ковбаски з м'ясного фаршу, мікроструктурний склад і видова ДНК ідентифікація, мікробіологічні показники безпечності напівфабрикатів м'ясних.

Мета дослідження: встановити інтегративний підхід у визначенні показників якості та безпечності напівфабрикатів м'ясних.

Завдання роботи:

- дослідити м'ясні напівфабрикати за органолептичними показниками;
- визначити мікроструктурний склад напівфабрикатів м'ясних;
- ідентифікувати видовий склад напівфабрикатів м'ясних методом полімеразної ланцюгової реакції;
- оцінити показники безпечності напівфабрикатів м'ясних мікробіологічним методом;
- розрахувати економічну ефективність досліджень напівфабрикатів м'ясних.

1.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Класифікація напівфабрикатів м'ясних

М'ясо та м'ясні продукти є найбільш цінними в харчовому відношенні та користуються попитом серед продуктів харчування, оскільки постачають організму людини необхідними для його функціонування білками. Висока біологічна цінність білків м'ясних продуктів обумовлена практично повною перетравлюваністю їх ферментами шлунково-кишкового тракту, значним утриманням та оптимальним співвідношенням незамінних амінокислот. Саме м'ясні продукти є основним джерелом надходження білка та мають велике значення у харчуванні людини. Тому ринок м'ясних виробів в Україні є одним із великих секторів продовольчого ринку [7].

На сьогоднішній день виробники м'ясних виробів дозволяють споживачеві вибирати продукти, що цікавлять його не лише з економічних міркувань, а й враховуючи смакові уподобання, релігійні погляди та віяння «моди» на харчові продукти. Сучасний ринок насичений широким спектром м'ясної продукції, що характеризує галузь м'ясної промисловості по виробництву м'ясних напівфабрикатів, як найдинамічнішу. [17,31].

Відповідно до діючих нормативних документів в Україні на сьогодні м'ясними напівфабрикатами називають продукти, що зазнали первинної обробки, такої як порційне оброблення, очищення від кісток, плівок, часткової теплової або парової обробки, тощо. Слід зауважити, що напівфабрикати є повністю готовими до термічної обробки. Що й обумовлює високий попит у споживачів на даний вид продукції.

Класифікація напівфабрикатів м'ясних. Наразі асортимент напівфабрикатів в Україні є надзвичайно різноманітним. М'ясні напівфабрикати мають 3 основні класифікації:

-залежно від способу їх виготовлення;

-залежно від виду сировини;

-за термічним [24].

Залежно від способу виготовлення напівфабрикатів м'ясних, вони бувають натуральні, паніровані, рубані, а також пельмені, м'ясний фарш, ковбаси сири; від виду сировини - з м'яса худоби (яловичина, свинина), м'ясо птиці, субпродукти; за термічним станом - охолоджені (0...+4°C) та заморожені (не вище мінус 8°C).

До натуральних напівфабрикатів відносяться частини м'ясної м'якоті різної маси, очищені від сухожилля та грубих поверхневих плівок. За розміром натуральні напівфабрикати поділяються на крупношматкові, порційні, порційно паніровані та дрібношматкові.

Крупношматкові напівфабрикати в залежності від сорту м'яса поділяються на чотири групи(табл. 1.1.)

Таблиця 1.1.

Класифікація крупношматкових напівфабрикатів

Група	Сорт м'яса		
	Яловичина	Свинина	Баранина
Перша група	Найдовша м'яз спини, вирізка	Корейка, вирізка	Тазостегнова частина
Друга група	Лопаткова, підлопаткова та грудна частина	Тазостегнова, шийно- підлопаткова частини	Лопаткова частина, корейка
Третя група	Котлетне м'ясо та крайка від яловичини 2-ї категорії	Грудинка	Грудинка, котлетне м'ясо
Четверта група	-	Котлетне м'ясо	-

Порційні напівфабрикати виготовляють із крупношматкових напівфабрикатів, нарізаючи вручну або на спеціальних апаратах перпендикулярно м'язових волокон. Серед широкого спектру порційних напівфабрикатів найбільш поширеними є біфштекс, лангет, ромштекс, ескалоп та шницель [7].

Серед дрібношматкових напівфабрикатів найбільшим попитом користуються гуляш, м'ясо для шашлику, азу, суповий набір та інші вироби [4].

Панірувальні напівфабрикати являють собою порції м'яса з твердих частин туші, які в залежності від виду паніровки покриті панірувальним борошном (сухе панірування) або льезоном (мокре панірування). Панірування оберігає від втрати соку при зберіганні або тепловій обробці. До асортименту панірувальних напівфабрикатів відносять котлети, відбивні, тощо [31].

Рубаними напівфабрикатами є вироби з фаршу, основними компонентами якого є подрібнене м'ясо (котлетне або знежилване). Такі вироби можуть бути як з паніруванням так і без нього [17].

При виробництві напівфабрикатів використовується тільки м'ясо від здорових та вгодованих тварин. Також не використовується як сировина для напівфабрикатів м'ясо бугаїв, кнурів, баранів; або інших сільськогосподарських тварин [26]. Виробництво напівфабрикатів повинно відповідати вимогам, проводитися відповідно до технологічної інструкції та технічних описів, з дотриманням правил ветеринарного контролю забійних тварин та ветеринарно-санітарного обстеження м'яса або м'ясопродуктів, санітарно-гігієнічних вимог до виробництва м'яса і м'ясопродуктів, також санітарно-епідеміологічних правил і стандартів.

Серед широкого спектру напівфабрикатів м'ясних найбільш поширеним є фарш м'ясний. Його отримують з м'яса сільськогосподарських тварин шляхом подрібнення за допомогою

м'ясорубки, діаметр отворів решітки, якої не перевищує 2-3 мм. Приготовлений у магазині фарш реалізують лише охолодженим.

За видом сировини фарш поділяють на:

-м'ясний – вміст м'ясної частки у складі фаршу не менше 75% (яловичий, свинячий, баранячий, з м'яса птиці);

-м'ясо-рослинний - вміст м'ясної частки у складі фаршу не менше 60%.

Новим напрямом у виготовленні фаршів є додавання до них кухонної солі, цибулі, прянощів, води, хліба, тощо.

Фарш використовують для виготовлення широкого спектру продукції як міжнародної, так і української кухні.

Отже, на сьогодні сучасний ринок України насичений широким спектром м'ясної продукції, серед яких найбільш розповсюдженим та поширеним є напівфабрикати м'ясні .

1.2. Показники якості напівфабрикатів м'ясних

Продукти харчування завжди були однією з найважливіших складових життя людей. Споживачі зацікавлені в отриманні якісних та безпечних для здоров'я продуктів, а виробники прагнуть максимально задовольнити бажання споживача.

Підвищення якості продукції є важливим для автоматизації виробничих процесів у всіх галузях. Для того щоб виготовити окрему продукцію необхідно здійснити цілу низку операцій та підготовчих робіт. Відповідно, кінцева якість залежить від ефективності виконання роботи на кожному з етапів.

Запорукою якості виробів м'ясних є відповідність їх характеристик певним вимогам, стандартам чи системам [9,12]. Якість визначається дією багатьох випадкових, місцевих і суб'єктивних факторів. Для попередження впливу цих факторів на стан продукції необхідна система управління

якістю, яка допоможе контролювати відповідність національним стандартам [37].

Для контролю якості і безпеки напівфабрикатів було створено національний стандарт ДСТУ 4437:2005 “Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні січені”, в якому розроблені технічні вимоги за органолептичних, фізико-хімічних, мікробіологічних та токсикологічних параметрів продукції, а також пакування товару, правила транспортування та зберігання [4]. У першу чергу увага приділяється органолептичним та фізико-хімічним показникам.

Перші визначаються за допомогою органолептичного методу визначення показників якості продукції на основі аналізу сприйняття органів чуття – зору, нюху, слуху, дотику, смаку [26].

Одним з головних показників якості м'яса є органолептичні, вони легко сприймаються органами чуттів є доступними навіть для споживача. До таких показників відносять зовнішній вигляд, колір, запах, консистенція, тощо [26].

За результатами дослідження встановлюється органолептична оцінка продукції, тобто узагальнений результат оцінки його якості, визначеної за допомогою органів чуття людини.

За органолептичної оцінки напівфабрикатів визначають зовнішній вигляд, колір, запах консистенцію досліджуваного матеріалу. Згідно ДСТУ 4437:2005 “Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні січені” є стандартні показники якості, що наведені у таблиці 1.2.

Таблиця 1.2.

**Органолептичні показники якості напівфабрикатів м'ясних
відповідно до ДСТУ 4437:2005 [33]**

Показники	Фарш	Ковбасний виріб з фаршу
Зовнішній вигляд	Однорідна маса без кісток, хрящів, жилок, грубої сполучної тканими, кров'яних згустків	Оболонка суха, міцна, еластична, без нальотів плісняви, слизу, щільно прилягає до фаршу
Колір	Рівномірний, специфічний для кожного виду	Рівномірний, сірі плями відсутні.
Запах	Приємний м'ясний, без наявності затхлості і кислуватості	Приємний м'ясний, без наявності затхлості і кислуватості
Консистенція	Мазка	На розрізі щільна як на периферії, так і в центрі

Колір напівфабрикатів є одним із основних показників, за яким оцінюється вигляд продукту, а також наявність деяких хімічних перетворень, які можуть відбуватися у м'ясі. На інтенсивність забарвлення м'яса впливають вид, порода, стать, вік тварини та тип годівлі. Також слід зауважити, що мікроорганізми можуть сприяти зміні кольору м'яса. У нормі м'ясо великої рогатої худоби має яскраво-червоне забарвлення, молодняка великої рогатої худоби до 1,5 року – блідо-червоне, а свиней – рожеве [15].

Запах напівфабрикатів – важливий показник якості. У свіжого м'яса запах приємний м'ясний, специфічний для кожного виду. Під час псування з'являється кислий або затхлий запах. Тому, запах натуральних напівфабрикатів має відповідати доброякісному м'ясу певного виду [15].

Консистенція напівфабрикатів. Цей показник визначають легким натисканням пальцями на поверхню та розріз виробів або шляхом розрізання [11]. Під час визначення консистенції оцінюють такі параметри, як щільність, пухкість, ніжність, жорсткість. Консистенція напівфабрикатів має бути пружною, а фаршу - мазкою, готових виробів - м'якою, соковитою, некрошливою; у панірованих виробів має бути хрумка скоринка. Після варіння консистенція фаршу має бути пружною, щільною.

Поряд з органолептичними властивостями напівфабрикати м'ясні характеризуються рядом фізико-хімічних показників, таких як вміст вологи, жиру, кухонної солі, температури у товщі продукції, тощо. [4,15].

За фізико-хімічними показниками напівфабрикати мають відповідати вимогам ДСТУ 4437:2005 "Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні січені"(табл. 1.3).

Таблиця 1.3

**Фізико-хімічні показники якості напівфабрикатів м'ясних
відповідно до ДСТУ 4437:2005 [33]**

Показники	Фарш				Ковбаски
	Яловичий	Свинний	Комбінований (1:1)	М'ясо-рослинний	
Масова частка вологи, %	>70	>45	>55	>60	>65
Масова частка жиру, %	>17	>45	>34	>30	>25
Масова частка кухонної солі, %	-	-	-	-	>1,2-1,5
Температура у товщі напівфабрикату, °С					
оохолоджених	<8	<8	<8	<8	<8
заморожених	<-10	<-10	<-10	<-10	<-10

Окрім, вищеперелічених стандартизованих методів дослідження для контролю якості напівфабрикатів м'ясних часто використовують більш складні лабораторні методи, такі як мікроструктурний аналіз та полімеразну ланцюгову реакцію.

Мікроструктурний аналіз на сьогодні досить поширений як в Україні, так і за кордоном [6]. На тлі накопичення достатньої кількості знань у середині минулого століття виник новий напрямок науки – «Мікроструктура м'яса та м'ясопродуктів», який відокремився від загальної гістології у зв'язку з технологічним впливом на процес виробництва готового продукту.

Методи мікроструктурного аналізу дозволяє виявити локальні зміни у сировині, що впливають на якість готового продукту. Вони можуть бути використані для вивчення різних видів м'ясної сировини, напівфабрикатів та готових продуктів з метою визначення складових компонентів та технології виробництва [23]. За допомогою цього методу можна визначити свіжість м'яса, ступінь (етап) його дозрівання, тощо.

Для оцінювання якості напівфабрикатів зазвичай виготовляють гістологічні зрізи, які фарбують гематоксиліном та еозином, після чого проводять морфометрію [23]. Морфометрія - це розрахунок відсоткового вмісту компонента в продукті. Результат виражають у об'ємних відсотках (об.%). Морфометрія буває ручна та автоматизована. За ручної морфометрії вимірювання проводять з використанням різних поєднань об'єктивів та окулярів відповідно до розмірів аналізованих структур. Однак у цьому випадку робота вимагає великих трудових витрат за меншої точності результатів [19]. При автоматизованій морфометрії використовуються комп'ютерні системи аналізу зображення, що являють собою модульні системи обробки та аналізу, тим самим система дозволяє суттєво скоротити час дослідження, одночасно надаючи можливість значно розширити набір параметрів, що визначаються.

Важливе місце в оцінці якості м'ясних продуктів займає контроль за дотриманням науково обґрунтованих рецептур та визначення сировинного складу готових м'ясопродуктів [21].

На теперішній час метод мікроструктурного аналізу за дослідження харчових продуктів дозволяє виявити використання субпродуктів, соєвих білкових та вуглеводні добавки. Проте цей метод не дає можливості визначити видовий склад м'яса у напівфабрикатах м'ясних. Тому для вирішення цього завдання оптимальним є метод, заснований на дослідженні ДНК- полімеразна ланцюгова реакція, з детекцією продуктів ампліфікації у режимі реального часу [29,36]. До переваг даного методу відносяться ідентифікація тканин за допомогою ДНК, яка володіє високою

стійкістю до різних фізичних, хімічних та механічних чинників. Все це робить цей метод універсальним по відношенню до продуктів, вироблених за різними технологіями. До недоліків належить необхідність проведення аналізу тільки в сучасних спеціально обладнаних лабораторіях, із застосуванням коштовних реактивів [13].

Отже, на сьогодні у світі існує безліч методів оцінювання показників якості напівфабрикатів м'ясних, які мають свої переваги та недоліки, проте не всі вони регламентуються законодавством. В умовах сучасного світу, більш ефективними та специфічними методами дослідження харчових продуктів є мікроструктурний аналіз та видова ідентифікація методом полімеразної ланцюгової реакції, які за результатами застосування яких контроль якості продуктів харчування є значно ефективнішим.

1.3. Показники безпечності напівфабрикатів м'ясних

Безпека продуктів харчування, це незалежність від неприйняттого ризику і відсутність шкоди, як для споживача, так і суспільству загалом. Поняття безпека включає всі етапи життєвого циклу продукції та враховує вплив на всі елементи: людей, споживачів продукції, довкілля.

Безпека продукції є необхідною умовою забезпечення відповідності продукції певним стандартам. Показники безпеки встановлюються відповідними службами, нормативними документами, в даному випадку ДСТУ 4437:2005 2005 “Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні січені [4]. До показників безпечності напівфабрикатів відносяться мікробіологічні та токсикологічні методи дослідження.

Мікробіологічні показники безпечності напівфабрикатів відображають стан досліджуваної продукції, оскільки останні контаміновані різними мікроорганізмами. [27,43].

Прийнято диференціювати мікрофлору, що обсіменяє продукти харчування, на специфічну та неспецифічну. До першої відносять мікроорганізми, що штучно вносяться в продукт для надання йому певних властивостей [43]. До неспецифічних відносяться мікроорганізми, що обсіменяють органи та тканини тварин у разі захворювання або порушення бар'єрних функцій кишечника при травмах, голодуванні, перегріванні чи переохолодженні організму тварин [48]. Також, контамінація мікроорганізмами виникає при недотриманні санітарних умов отримання продуктів харчування на етапах виготовлення, переробки, транспортування та зберігання, а також на тлі вторинного забруднення їх мікроорганізмами [27].

У таблиці №4.1. наведені нормативні мікробіологічні показники напівфабрикатів, згідно ДСТУ 4437:2005 “Напівфабрикати м’ясні та м’ясо-рослинні січені.

Таблиця 1.4.

Мікробіологічні показники напівфабрикатів м'ясних

Показники	Норма	Метод контролю
КМАФАМ, КУО. у 1 г продукту	$> 1 \times 10^6$ - 1×10^7	Відповідно до ГОСТ 4288
Патогенні мікроорганізми, також роду <i>Salmonella</i> , у 25 г продукту	Не дозволено	Відповідно до ГОСТ 4288 або ДОТУЄМ 12824
Бактерії групи кишкових паличок (БГКП)	Не дозволено	Відповідно до ГОСТ 4288
<i>L. Monocytogenes</i> , у 25 г продукту	Не дозволено	Відповідно до 11290-1, ДСТУ ISO11290-2 або 11.6

Отже, визначення безпечності напівфабрикатів м'ясних проводиться за чотирма показниками. До яких відносяться визначення патогенних (*Salmonella*, БГКП, *L. Monocytogenes*) та санітарно-показових мікроорганізмів (КМАФАМ). Згідно нормативної документації напівфабрикати м'ясні у яких були виявленні патогенні мікроорганізми не допускаються до реалізації та вживання [43].

Токсичні елементи (зокрема деякі важкі метали) становлять досить велику і дуже небезпечну в токсикологічному відношенні групу речовин. До найпоширеніших токсичних елементів, які можуть бути присутніми в харчових продуктах та продовольчій сировині, відносяться: ртуть (Hg), свинець, кадмій (Cd), миш'як (As) [34].

Вживаючи в їжу продукти, що містять підвищену кількість важких металів, люди наражають на небезпеку своє здоров'я. Можуть бути гострі

та хронічні інтоксикації організму тим чи іншим токсичним елементом, а також можуть виникати канцерогенні та ембріотоксичні ефекти [35,17]. У зв'язку з цим виникає необхідність контролю вмісту токсичних елементів у продуктах харчування та встановлення відповідності виявлених кількостей відповідно до гранично-допустимого рівня, який офіційно встановлений як безпечний у існуючих нормативних документах, у тому числі для напівфабрикатів, які наведені у таблиці 1.5 [4].

Таблиця 1.5.

Токсикологічні показники напівфабрикатів м'ясних

Назва токсичного елемента	Гранично допустимі рівні, мг/кг	Метод контролю
Свинець	0,50	Відповідно до ГОСТ 26932
Кадмій	0.05	Відповідно до ГОСТ 26933
Миш'як	Не дозволено	Відповідно до ГОСТ 26930
Ртуть	0.03	Відповідно до ГОСТ 26927
Цинк	70,00	Відповідно до ГОСТ 26934

Отже, згідно нормативної документації вміст токсикологічних елементів у напівфабрикатах має гранично допустимі рівні, окрім миш'яку, його вміст не допускається у харчовій продукції.

Отже, визначення показників безпечності напівфабрикатів м'ясних є надзвичайно актуальним у зв'язку з чим потребує більше детального розгляду та пошуку інтегративних підходів оцінки. Математичний контроль безпечності продуктів харчування стане поштовхом для вдосконалення системи та забезпечить виготовлення якісних та безпечних м'ясних напівфабрикатів.

2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали і методи

Дипломна робота виконана в умовах НДЦ біобезпеки та екологічного контролю агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Дослідження проведені у рамках науково-технічного договору Б/20/08/029 від 07.08.2020р, головною умовою якого є заборона розголошення інформації про замовника, яка була отримана виконавцем у зв'язку з виконанням ним робіт за даним договором.

Для проведення досліджень матеріал у кількості 3 зразки фаршу (Своя лінія Домашній охолоджений; Глобино Домашній; Глобино Яловичий) та 2 зразки ковбасок (М'ясна весна Альпійські охолоджені, Своя лінія Баварські охолоджені) були надані замовником масою по 1 кг до науково-дослідного центру.

Зразки відібрали згідно договору поставок №А-88710 з метою дослідження продукції на показники якості та безпечності відповідно до вимог ДСТУ 4437:2005 “Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні січені”.

Зразок №1. Фарш 0.5 кг. Своя лінія Домашній охолоджений. ТУ У 15.8-33262497-009:2005. Виробник: ТОВ “Глобинський м'ясокомбінат”, вул. Володимирівська , 228, м. Глобіне, Полтавська обл., 39000, Україна .
Виготовлено на замовлення ТОВ “АТБ-МАРКЕТ” (рис.2.1.).



Рис.2.1. Зразок Фаршу 0.5 кг. Своя лінія Домашній, охолоджений
Склад продукту: сировина м'ясна 100 % (свинина знежилowana напівжирна, яловичина знежилowana 2-го сорту).

Зразок №2. Фарш 0.5 кг. Глобино Домашній. ТУ У 15.8-33552827-009:2005. Виробник: ТОВ "Глобинський м'ясокомбінат" (рис.2.2.).



Рис.2.2. Зразок Фаршу 0.5 кг. Глобино Домашній

Склад продукту: сировина м'ясна 100 % (свинина знежилowana напівжирна, яловичина знежилowana 2-го сорту).

Зразок №3 Фарш 0.5 кг. Глобино Яловичий. ТУ У 10.1-34485173-009:2013. Виробник: ТОВ "Глобинський м'ясокомбінат" (рис 2.3.).



Рис.2.3. Зразок Фаршу 0.5 кг. Глобіно Яловичий

Склад: сировина м'ясна 100% (яловичина знежилowana першого і другого сорту)

Зразок №4. Ковбаски для гриля 0.6 кг. М'ясна вена Альпійські охолоджені. ТУ У 15.1-34626750-005. Виробник: ПрАТ "АПК-ІНВЕСТ", вул. Шопена, 1а, с. Рівне, Покровський район, Донецька область, 05325, Україна (рис 2.4.).



Рис.2.4. Зразок Ковбаски для гриля 0.6 кг. М'ясна вена Альпійські охолоджені

Склад: м'ясна сировина 80.9% (свинина напівжирна знежилowana, свинина жирна знежилowana), вода питна, сіль кухонна харчова, прянощі (в т.ч. селера), рослинний білок (соє), екстракт дріжджів, лимонний порошок, консерванти (E234, E235), регулятори кислотності (E262, E331), антиоксиданти (E300, E3), загусник (E407), стабілізатори (E451, E450), підсилювач смаку та аромату (E621), ароматизатори (в т.ч. коріння селери).

Зразок №5. Ковбаски 0.5 кг. Своя лінія Баварські охолоджені. ТУ У 15.1- 34485173-001:2013. Виробник: ТОВ М'ясна фабрика "Фаворит плюс", вул. Василя Сухомлинського, 76, смт. Слобожанське, Дніпровська обл., 52005, Україна (рис 2.5).



Рис.2.5. Зразок Ковбаски 0.5 кг. Своя лінія Баварські охолоджені.

Склад: сировина м'ясна 100% (свинина знежилowana напівжирна, жирна і нежирна), вода питна, сіль кухонна харчова, томати в'ялені 1,6%; клітковина пшенична; суміш пряних трав прованс (базилік, розмарин, тим'ян, лаванда 0,4%); спеції (часник, перець червоний гострий); консерванти (E234, E235), регулятори кислотності (E262, E331), антиоксиданти (E300, E3), загусник (E407, E415, E417), стабілізатори (E451, E450), підсилювач смаку та аромату (E621).

У дослідній продукції визначали органолептичні показники, мікроструктуру, видову приналежність тваринних тканин у напівфабрикатах та мікробіологічні показники.

Органолептичне дослідження напівфабрикатів проводили на відповідність ДСТУ 4437:2005 “Напівфабрикати м’ясні та м’ясо-рослинні січені” [12].

Органолептичне дослідження проводили методом огляду, при денному світлі (300,0 до 1100 ЛК), кімнатній температурі (21⁰С) та вологості (60-75%), кожний зразок окремо [26]. При проведенні органолептичних досліджень звертали увагу на зовнішній вигляд, колір, запах та консистенцію продукції.

В першу чергу оцінювали цілісність упаковки. Потім визначали зовнішній вигляд, колір та запах напівфабрикатів, виявляючи зміни кольору або вміст зайвих домішок у складі продукту. Консистенцію досліджуваних зразків з’ясували шляхом натискування пальцем руки на центральну та периферійну частину продукції [15].

Мікроструктурний аналіз проведений гістологічним методом з подальшою морфометрією гістозрізів. Досліджували окремі тваринні і рослинні компоненти напівфабрикатів м’ясних і визначали співвідношення м’язової, сполучної та жирової тканини [19].

Процес мікроструктурного аналізу складався з таких етапів:

1. Відбір проб;
2. Фіксація досліджуваного матеріалу;
3. Підготовка матеріалу до мікротомування та виготовлення гістозрізів;
4. Фарбування зрізів та їх фіксація покривним склом;
5. Мікроскопія та фотофіксація за допомогою цифрового мікроскопа Leica DM 1000;
6. Морфометрія за допомогою програмного забезпечення для обробки матеріалу, адаптований для гістологічних досліджень.

Зразки відбирали розміром 1-2 см³ і поміщали в марлеві мішечки, які маркували номером проби і датою відбору. Фіксували відібрані проби за допомогою 10% водного розчину формаліну.[21] Після цього заливали досліджувані зразки парафіном, та виготовили мікрорізи товщиною 5-7 мкм на санному мікроскопі МС-2.

Для визначення мікроструктури напівфабрикатів м'ясних використовували методику забарвлення зрізів гематоксиліном та еозином [19]. Мікроскопію гістологічних препаратів та їх фотофіксацію здійснювалось за допомогою цифрового мікроскопа Leica DM 1000, який інтегрований з комп'ютером оснащений для морфометричного аналізу.

Видову ідентифікацію напівфабрикатів м'ясних проводили методом полімеразної ланцюгової реакції, суть якого полягає у розпізнаванні, синтезі специфічної ділянки ДНК та багатократному її копіюванню. Детекція результатів ампліфікації відбувається за рівнем флуоресценції у режимі реального часу з використанням каналів детекції ROX, R6G, FAM [20,29].

Процес полімеразної ланцюгової реакції складався з трьох етапів:

1. Відбір зразків та їх первинна обробка;
2. Екстракція нуклеїнових кислот з досліджуваного матеріалу;
3. Приготування реакційної суміші та проведення ампліфікації.

Для відбору зразків та їх первинної обробки використовували такий лабораторний посуд та устаткування:

1. Скальпель та ножиці хірургічний;
2. Порцелянова ступка з товкачем;
3. Стерильний фізіологічний розчин;
4. Мікропробірки типу «епіндорф» на 1,5 мл та 2,0 мл;
5. Штативи для мікропробірок та накінцівників;
6. Одноканальний дозатор змінного об'єму;
7. Одноразові накінцівники (з аерозольними бар'єрами) різного об'єму;

8. Медичний халат;
9. Одноразові рукавички не припудрені;
10. Паперові рушники або серветки;
11. Дезрозчин для обробки рук;
12. Ємкість для скидування використаного витратного матеріалу;
13. Холодильник з морозильною камерою;
14. Гомогенізатор “Fastprep 24”(Франція).

Екстракція нуклеїнових кислот проводили на автоматичному приладі шляхом сорбції генетичного матеріалу на магнітних кульках із використанням додаткових засобів:

1. Ламінарний бокс біологічної безпеки 2 класу;
2. Мікропробірки типу «епіндорф» на 1,5 мл;
3. Центрифуга для мікропробірок “Eppendorf MiniSpin ;
4. Автоматичний прилад Thermo Scientific™ KingFisher™ Duo Prime (США) (рис.2.6);

Для приготування реакційної суміші та проведення ампліфікації використовували наступні прилади:

1. Ампліфікатор “BioRad CFX 96” (США) (рис.2.8);
2. ПЛР-бокс з УФ-лампкою;
3. Мікропробірки типу «епіндорф» на 0,2 мл;
4. Одноканальні дозатори змінного об’єму (100-1000, 20-200;)
5. Штативи для мікропробірок та накінцівників;
6. Одноразові рукавички не припудрені;
7. Паперові рушники або серветки;
8. Дезрозчини для обробки рук та знешкодження генетичного матеріалу;



Рис.2.6. Прилад для екстракції нуклеїнових кислот автоматичний Thermo Scientific™ KingFisher™ Duo Prime (США)

Від досліджуваних проб відібрали зразки вагою 5-10 г і поміщали в ступку, подрібнювали ножицями, потім розтерали товкачем до гомогенного стану. Потім наважку масою 200 мг поміщали у пробірку з кварцевими скляними кульками та 0,9% розчин NaCl, який додавали з розрахунку 1:10, і гомогенізували за допомогою приладу “Fastprep 24” Надосадову рідину перенесли в чисті пробірки об’ємом 1,5 мл [39].

Для екстракції НК з досліджуваного матеріалу використовували комерційний набір реактивів: лізуючий розчин - розчин, який використовується в етапі виділення ДНК, для руйнування клітинних та ядерних мембран; сорбент; розчин для очистки сорбованих НК; ТЕ-буфер на основі Тріс-НСІ і ЕДТА (рис.2.7.)

Для постановки реакції необхідно мати відповідний тестовий набір, в даному випадку ми використовували R-Biofarm. Тест-система складається з таких компонентів: позитивний та негативний контрольні зразки, внутрішній позитивний зразок, готова реакційна суміш (*master*

mix), ферменти Таq-полімераза та ML-ревертаза, специфічні праймери до комплементарної ДНК свинини, яловичини та інше.



Рис.2.7. Додавання лізуючого розчину до досліджуваних зразків

Ампліфікацію та детекцію результатів проводили за допомогою приладу “BioRad CFX 96” із встановленим відповідним програмним забезпеченням до нього (рис.2.9).

Облік результатів ампліфікації ПЛР проводили за допомогою порогового методу, суть якого базується на визначенні порогового циклу реакції – Threshold Cycle (Ct). Останній є точкою перетину графіку флуорисценції, що характеризує накопичення ДНК/кДНК у дослідній пробірці, з пороговою лінією і виражається у циклах ампліфікації. Слід зазначити, що реєстрація флуорисценції приладом відбувається за умови синтезу певної кількості копій ДНК, яка є однаковою умовою для всіх зразків [36,39].

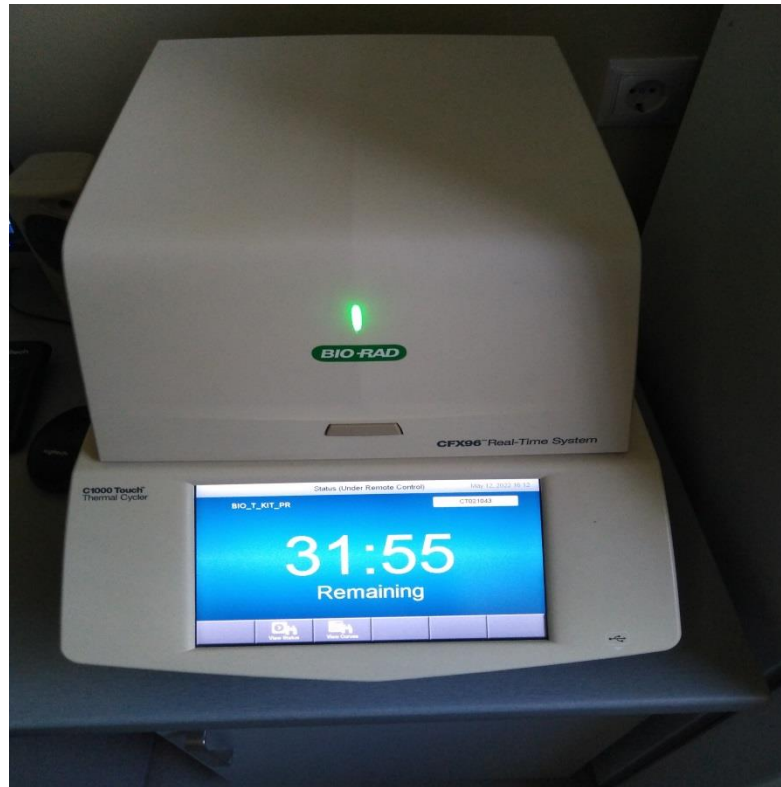


Рис.2.8. Ампліфікатор “BioRad CFX 96”

Мікробіологічні дослідження проводили за такими показниками:

1. КМАФАнМ, згідно ДСТУ 8446:2015;
2. БГКП, згідно ДСТУ ГОСТ 30726-2002;
3. *Salmonella*, згідно ДСТУ EN 12824:2004;
4. *L. Monocytogenes*, згідно ДСТУ 8446:2015.

Суть методі полягає у визначенні кількості колоній через розведенні наважки продукції, інкубуванням посівів, підрахуванням всіх видимих колоній, що вирости [15,27]

Для проведення випробування використовують таке устаткування, реактиви та лабораторний посуд:

1. Ваги лабораторні;
2. Термостат електричний ;
3. Колби К-1-50-1 ТС;
4. Бокс біологічної безпеки;
5. ВаgМixer;

6. Лічильник колоній Scan-100 (рис.16);
7. Пробірки бактеріологічні;
8. Механічний дозатор;
9. Середовище Кесслера, МакКонкі, та інші (рис.2.9)



Рис.2.9. Поживні середовища для культивування мікроорганізмів: 1- Nutrient Agar, 2- буферо-пептонна вода, 3- середовище Кесслера.

Для визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів ми використовували середовище Nutrient Agar, буферо-пептонну воду використовували для виявлення *Salmonella* середовище Кесслера з метою виявлення бактерій з групи кишкової палички.

Мікробіологічне дослідження проводиться за наступною схемою, наприкладі визначення показника БГКП:

1. Приготування вихідного середовища (середовище Кесслера);
2. Розведення фізіологічним розчином та нагрівання до повного розчинення сухого залишку.

3. Інкубування за температурою 36 °С протягом 24-48 годин

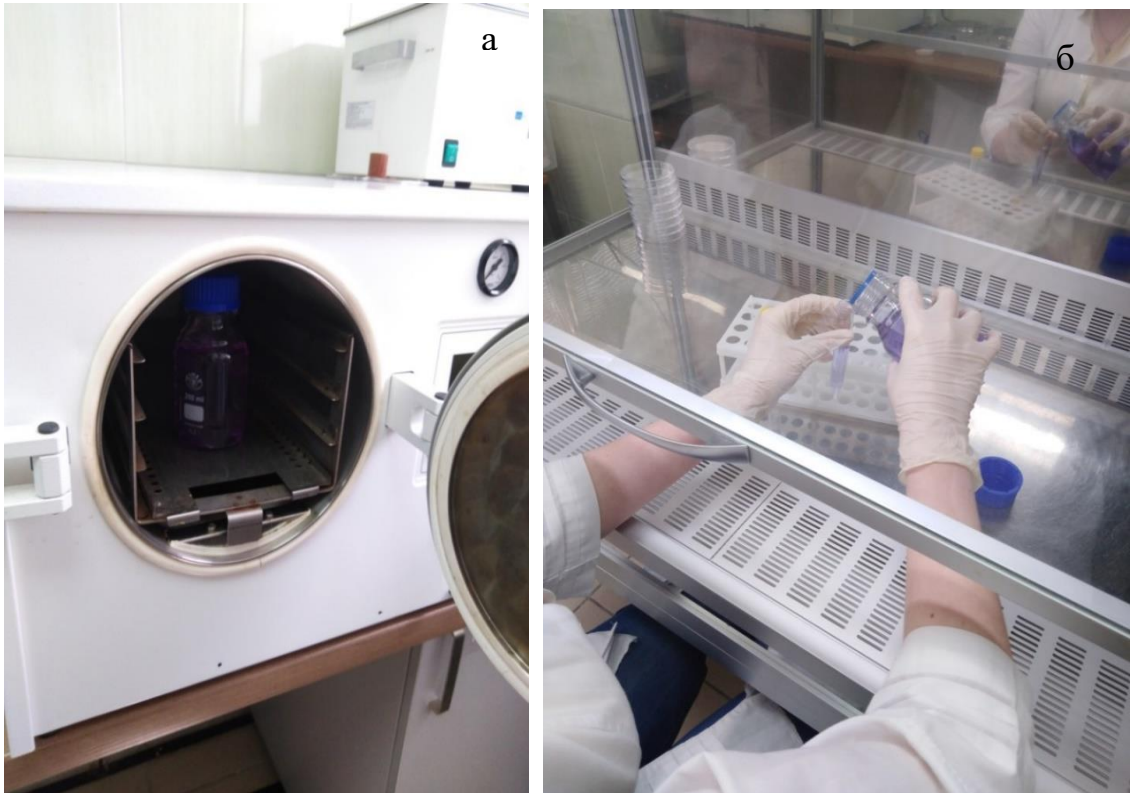


Рис. 2.10. Стерилізація поживного середовища у автоклаві (а) та розливання середовища у пробірки (б)

4. Посів на агаризоване поживне середовище Ендо (рис.2.11).



Рис.2.11. Посів у чашки Петрі

5. Інкубування за температурою 36°С протягом 24 годин.

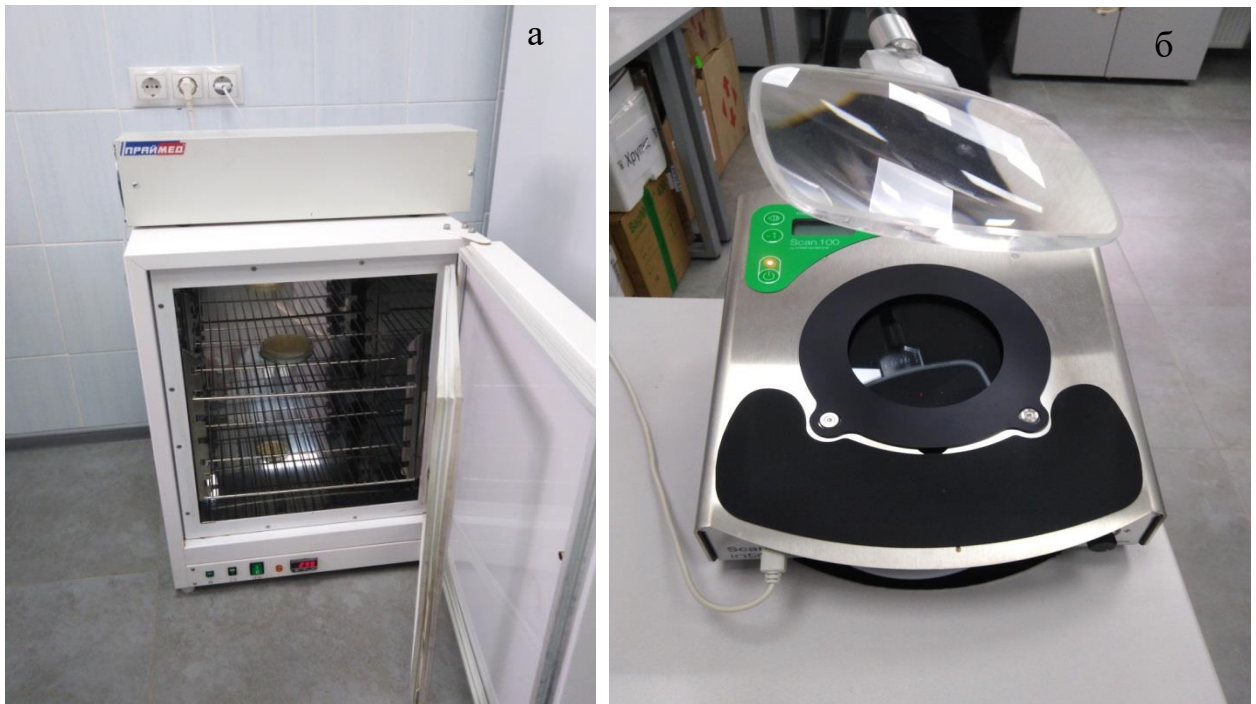


Рис.2.12. Чашку Петрі ставимо у термостат (а), підраховуємо кількість колоній на лічильнику колоній Scan-100 (б)

б. Підраховуємо кількість виявлених колоній за допомогою лічильника колоній Scan-100

Для подальшого підтвердження, що вирости колоній групи кишкової палички, то відбираємо по три колонії кожного типу. Готуємо мазки та фарбуємо за Грамом. Проводимо мікроскопію.

Згідно ДСТУ 4437:2005 “Напівфабрикати м’ясні та м’ясо-рослинні січені” продукція з мікроорганізмами групи БГКП, *Salmonella*, *L. Monocytogenes* не допускаються до вживання та реалізації, КМАФАнМ $1 \cdot 10^6$ - $1 \cdot 10^7$ допустимий вміст у продукції напівфабрикатів м’ясних.

2.2 Характеристика підприємства

Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету відкритий на факультеті ветеринарної медицини. Розташований за адресою: м. Дніпро, вул. Мандриківська, 276.

Директор науково-дослідного центру –доктор ветеринарних наук, професор кафедр фізіології та біохімії с.-г. тварин Масюк Дмитро Миколайович.

НДЦ складається з п'яти відділів:

- Відділ фізіології, біохімії та хіміко-токсикологічного аналізу;
- Відділ морфологічних досліджень;
- Відділ імунохімічних та молекулярно-генетичних досліджень;
- Відділ бактеріології та біотехнології;
- Інформаційно-аналітичний відділ.

Робота Науково-дослідного центру розпочинається з інформаційно-аналітичного відділу, бо він координує роботу структурних підрозділів НДЦ та сприяє ефективній взаємодії спеціалістів центру з науковими установами та аграрними підприємствами України та зарубіжжя.

Відділ фізіології, біохімії та хіміко-токсикологічного аналізу складається з трьох секторів: клінічної фізіології та біохімії, фізико-хімічних методів досліджень та інструментальних методів досліджень. Відділ оснащений сучасним обладнанням (КФК-3, спектрофотометр «Spectrometer T 60 U», атомно-абсорбційний спектрофотометр Selmi - 115 FCM, Флюорат 02 – 2М, мікроскоп Olympus CH 20, газовий хроматограф «Цветхром-500», два рідинні хроматографи «Agilent Technologies 1260 Infinity», роторний випарювач РИ 2, автоматичними біохімічними «Biochem 200» і «Miura 200», та гематологічними аналізаторами, тощо.) за допомогою яких проводиться визначення крові, сечі та інших біологічних

рідин; дослідження якості продуктів харчування, кормів, кормових добавок і преміксів; встановлення відповідності харчових продуктів і кормів для тварин за вмістом токсикантів [25]

Відділ морфологічних досліджень має декілька напрямків роботи: патоморфологічні, паразитологічні та імуногістологічні та імуноцитологічні дослідження.

До патоморфологічних досліджень відносяться:

- встановлення патологоанатомічного діагнозу;
- визначення причини загибелі тварин (основне захворювання, супутнє, конкуруюче, фонове та ін.);
- співставлення клінічного і патологоанатомічного діагнозу для призначення адекватного лікування або його корекції;
- встановлення патоморфологічних змін в окремих органах тварин;
- патоморфологічний моніторинг стану органів і систем продуктивних тварин за промислових технологій вирощування;
- патолого-гістологічний діагноз новоутворення;
- визначення свіжості, якості заморожування і посолу м'яса, а також кількісного та якісного складу м'ясних продуктів, їх фальсифікацій та порушень рецептури (мікроструктурні дослідження).

До паразитологічних досліджень відносять:

- виявлення інвазійних елементів;
- встановлення видів збудників, які є причиною ряду функціональних порушень органів чи систем організму або й загибелі тварин;

До імуногістохімічних та імуноцитохімічних досліджень відносять:

- виявлення (якісне і кількісне) антигенів збудника, їх розподіл в органах і тканинах хворих тварин;
- виявлення виду патологічного процесу в досліджуваних тканинах та встановлення патогістологічного діагнозу;

- цитологічна та гістологічна оцінка характеру і ступеня ураження органів і тканин для діагностування новоутворень та для оптимізації відбору зразків для ПЛР-аналізу та імуноблотингу;

- визначення свіжості, заморожування, посолу, кількісного та якісного складу м'яса і м'ясних продуктів, фальсифікації та порушення рецептури (мікроструктурні дослідження).

Цей відділ забезпечений: термостатами ТМ – 80 на 37°C, та 56 °C, санними мікротомами МС 2, ротаційним мікротом МРС, мікротомом-кріостатом, мікроскопами: МБС 10, Leica DM1000 та ін.

Відділ імунохімічних та молекулярно-генетичних досліджень

Відділ складається з двох лабораторій - лабораторії ПЛР-діагностики та лабораторії імунохімії та виконує роботи з діагностики інфекційних хвороб тварин, проводить дослідження продуктів харчування і кормів для тварин з використанням сучасних молекулярних лабораторних методів.

В лабораторії імунохімії проводяться дослідження, спрямовані на виявлення антигенів та антитіл до збудників хвороб с.- г. та домашніх тварин. Лабораторія оснащена сучасним устаткуванням (термо-шейкером Biosan, універсальним рідером для мікропланшет Biotek EL*800, вошер Biotek, мікродозатори змінного об'єму (0,5-10 мкл. 10-20 мкл. 20-200 мкл. 100-1000 мкл.) "Biohit Proline" та інше).

В лабораторії ПЛР-діагностики проводиться низка напрямків роботи: діагностика і диференціація збудників інфекційних хвороб тварин (більше 30 вірусних та 65 бактеріальних патогенів); генотипування вірусів; диференціація епізоотичних ізолятів збудників хвороб тварин від вакцинних варіантів; визначення нуклеотидної послідовності геному збудників інфекційних хвороб тварин (секвенування); контроль лікувально-профілактичних заходів; скринінг ГМО у продуктах харчування та кормах для тварин за регуляторними послідовностями 35S; NOS; FMV; Pat; EPSP із подальшою ідентифікацією модифікованої лінії

організму та визначення кількості ГМО; визначення фальсифікації продуктів харчування та кормів для тварин рослинною (соя, ріпак, кукурудза, тощо) та твариною (свинина, яловичина, баранина, курятина, індичатина, тощо) сировиною.

Лабораторія ПЛР-діагностики складається з двох умовних зон – “чистої” і “брудної”. Робочі приміщення молекулярно-генетичного аналізу є не прохідними, розташовані в окремих кімнатах і побудовані за принципом боксів та перед боксів.[44] Для повного виключення обміну повітря між приміщеннями ПЛР-лабораторія обладнана припливно-витяжною вентиляцією, яка є окремою для “чистої” та “брудної” зон.

Відділі бактеріології та біотехнології

У відділі бактеріології та біотехнології за допомогою класичних бактеріологічних методів проводиться моніторинг бактеріальних інфекцій с.-г. та свійських тварин, вивчаються біологічні властивості ізолятів, формуються бази даних щодо резистентності штамів до антибіотиків тощо. Цей відділ обладнаний наступним устаткуванням: термостати ТС-80 та ТСО-80, шафа ламінарна II класу біобезпеки «ШЛВ-2а», стерилізатор ВК-75, автоклав «Нарсо», ваги електронні лабораторні PS 210 та ін.[27]

Таким чином, Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК є конкретним прикладом впровадження ланцюга між освітою, наукою і виробництвом

2.3. Результати власних досліджень

2.3.1. Органолептичний та мікроструктурний аналіз напівфабрикатів м'ясних

За результатами органолептичних досліджень встановлено окремі показники якості фаршу (табл. 2.1) за зовнішнім виглядом, запахом, консистенцією визначено, що зразки відповідають стандарту якості. За показником кольору зразки фаршу Домашнього (№1,2) і фарш Яловичий (№3) відрізняються, що обумовлено властивістю використаного м'яса, яке специфічне для певного виду тварин.

Таблиця 2.1

Органолептичні показники зразків фаршів

Показники	Зразок №1	Зразок № 2	Зразок № 3
Зовнішній вигляд	Однорідна маса без зайвих включень	Однорідна маса без зайвих включень	Однорідна маса без зайвих включень
Колір	Темно-рожевий, рівномірний	Темно-рожевий, рівномірний	Червоний, рівномірний
Запах	Приємний м'ясний	Приємний м'ясний	Приємний м'ясний
Консистенція	Мазка	Мазка	Мазка

У таблиці 2.2 представлені результати дослідження органолептичних показників ковбасок з фаршу Альпійських та Баварських (зразки №4 та 5). Всі визначені показники знаходяться у межах характеристик, зазначених у стандартах якості [4].

Таблиця 2.2

Органолептичні показники зразків ковбасок з фаршу

Показники	Зразок №4	Зразок № 5
Зовнішній вигляд	Оболонка суха, міцна, еластична, щільно прилягає до фаршу	Оболонка суха, міцна, еластична, щільно прилягає до фаршу
Колір	Сірий, рівномірний	Сірий, рівномірний
Запах	Специфічний для кожного виду	Специфічний для кожного виду
Консистенція	На розрізі щільна як на периферії, так і в центрі	На розрізі щільна як на периферії, так і в центрі

Підсумовуючи вище наведене можна зробити висновок, що дослідженні проби фаршів та ковбасок з фаршу повністю відповідають нормативним вимогам [4], що до зовнішнього вигляду, кольору, запаху та консистенції.

Для контролю за відповідністю м'ясних продуктів на сьогодні широко використовують мікроструктурний аналіз. Цей метод дозволяє досліджувати окремі тваринні і рослинні компоненти напівфабрикатів м'ясних та визначали співвідношення м'язової, сполучної та жирової тканини.

За результатами мікроструктурного аналізу у пробі фаршу №1 було ідентифіковано м'язову, сполучну і жирову тканини, кількість яких склала відповідно 43%, 12% та 7,6 %, а також гомогенізовану безструктурну масу з вакуолями і неідентифіковані компоненти, доля яких становила 34,0% та 3,4% відповідно (рис.2.13) Розрахувавши співвідношення сполучної тканини до жирової встановлено збільшення цього показника на 1,58 од. порівняно до значень регламентованих чинним законодавством [4].

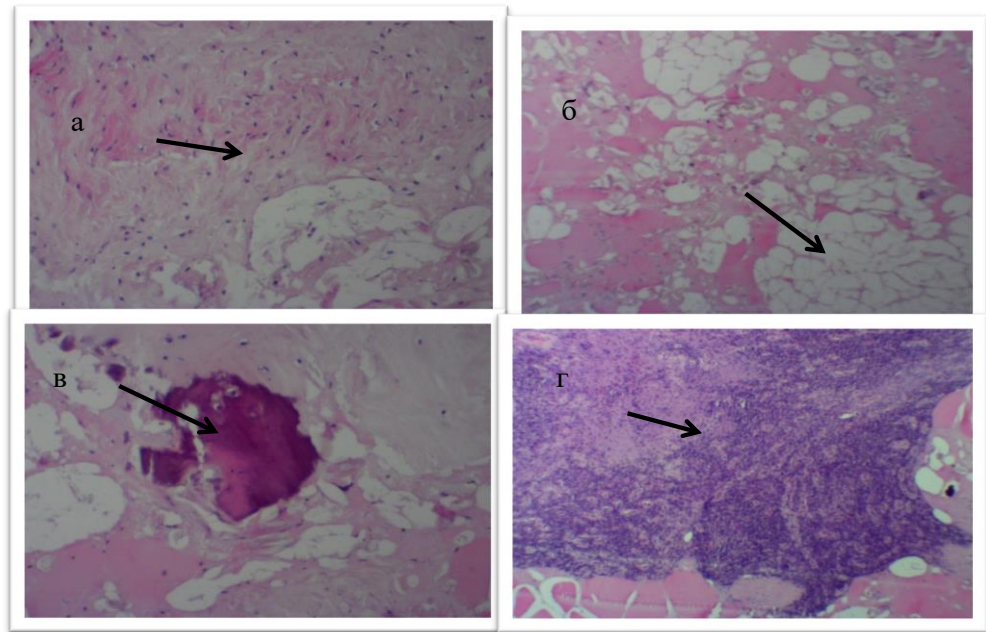


Рис.2.13. Гістологічний зріз зразка №1: сполучна тканина – щільна сполучна тканина (а), жирова тканина – адипоцити (б), кісткова тканина (в), лімфоїдна тканина (г) Leica,×100

Слід відзначити, що у зразку №1 м'язова тканина представлена пучками м'язових волокон з вираженими ядрами, але з відсутньою поперечною і повздожньою посмугованістю, волокна деформовані, забарвлені нерівномірно, містять поперечні тріщини, що вказує на тривале зберігання та заморожування м'яса. Сполучна тканина представлена щільною сполучною тканиною у вигляді зв'язки, а жирова тканина – скупченнями адипоцитів. Також, нами були ідентифіковані дрібні шматочки кісткової тканини і лімфоїдної тканини лімфатичного вузла.

Отже, проба фаршу №1 не відповідає нормативним вимогам за показником співвідношення сполучної до жирової тканини.

В наступному зразку фаршу №2 були виявлені м'язова, сполучна, жирова тканини, кількість яких склала 52,9%, 9,1%, 16,2 %, а також гомогенізовану безструктурну масу з вакуолями і неідентифіковані компоненти, доля яких становила 20,8% та 1,0% (рис.2.14) Розрахувавши співвідношення сполучної тканини до жирової встановлено збільшення

показника на 0,56 од., що не відповідає нормативній документації[52].

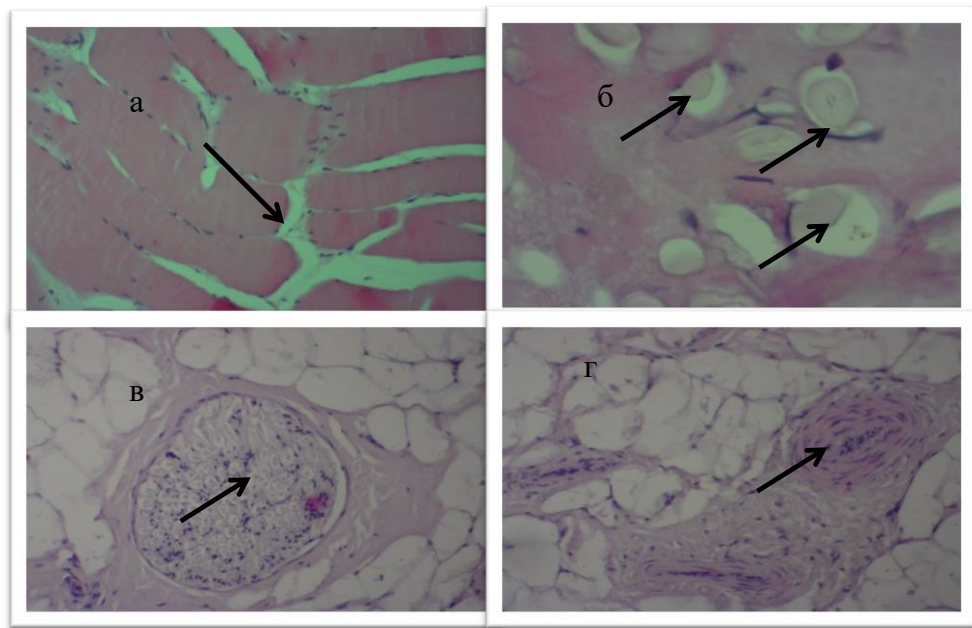


Рис.2.14. Мікропрепарат зразка №2: м'язові волокна (а), неідентифіковані компоненти (б), елементи нервових (в) і кровоносних судин (г).Leica, ×100

В результаті проведеного дослідження було виявлено, що м'ясо без ознак тривалого зберігання і замороження. На це вказує м'язова тканина, що представлена пучками чітко контурованих м'язових волокон з вираженими ядрами і повздовжньою посмугованістю. М'язові волокна забарвлені нерівномірно, містять поперечні тріщини. Як і у першому зразку сполучна тканина представлена щільною сполучною тканиною, а жирва тканина – скупченням адипоцитів. Також, були виявлені неідентифіковані компоненти у вигляді блідо забарвлені округлі структури з отвором в центрі, оточенні світлим обідком, що розміщені в гомогенній масі. Елементи нервових та кровоносних судин

Таким чином, проба фаршу №2 згідно до нормативної документації [3] має не відповідність за співвідношенням сполучної до жирової тканини.

У досліджуваній пробі фаршу №3, були виявлені м'язова, сполучна жирова тканини, кількість яких склала 55,8%, 5,1%, 22,0 %, а також

гомогенізовану безструктурну масу з вакуолями і неідентифіковані компоненти, доля яких становила 11,3% та 5.8% (рис.2.15.) Розрахувавши співвідношення сполучної тканини до жирової встановлено збільшення показника на 0,23, за нормативними вимогам, цей показник не відповідає стандартам якості [3].

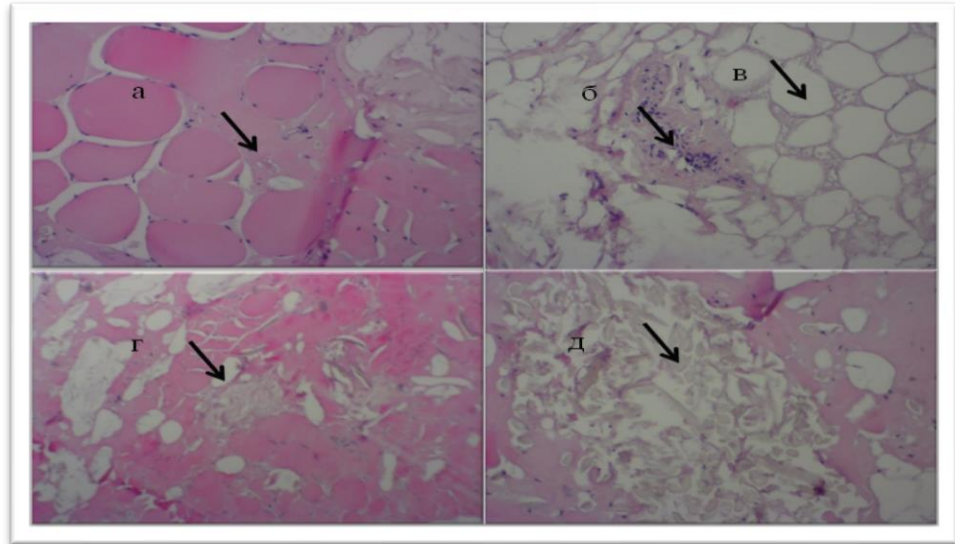


Рис.2.15. Гістологічний зріз зразка №3: м'язові волокна (а), пухка сполучна тканина з кровоносними судинами (б), адипоцити (в), гомогенізована оксифільна безструктурна маса з порожніми вакуолями (г), неідентифіковані компоненти (д).Leica, $\times 100$

Слід відзначити, що мікроструктурно даний фарш, виглядає однорідною масою з представленими пучками м'язових волокон з добре вираженими ядрами і повздовжньою посмугованістю, не вираженою поперечною посмугованістю. Сполучна тканина представлена пухкою сполучною тканиною із кровоносними судинами, жирова тканина – скупченнями адипоцитів. Гомогенізована оксифільна безструктурна маса з порожніми вакуолями, або заповнені дрібнозернистою масою, а неідентифіковані компоненти – блідо- забарвлені волокнисті структури в оточенні гомогенізованої маси, ймовірно білково-жирова емульсія внесена згідно технічної рецептури для поповнення вмісту жиру у складі продукту.

Отже, проба фаршу №3 не відповідає нормативним вимогам за показником співвідношення сполучної до жирової тканини.

При детальному дослідженні інших зразків, також було виявлено розбіжності у показниках. Так, наприклад, у пробі Альпійських ковбасок (зразок № 4) були виявлені м'язова, сполучна, жирова тканини, кількість яких склала 18,4, 22,0%, 37,6 %, а також гомогенізовану безструктурну масу з вакуолями, неідентифіковані компоненти та рослинні компоненти, доля яких становила 16,8%, 3,6% та 1,6%. (рис.2.16) Розрахувавши співвідношення сполучної тканини до жирової встановлено збільшення показника на 0,59 од., що не відповідає нормативній документації [4].

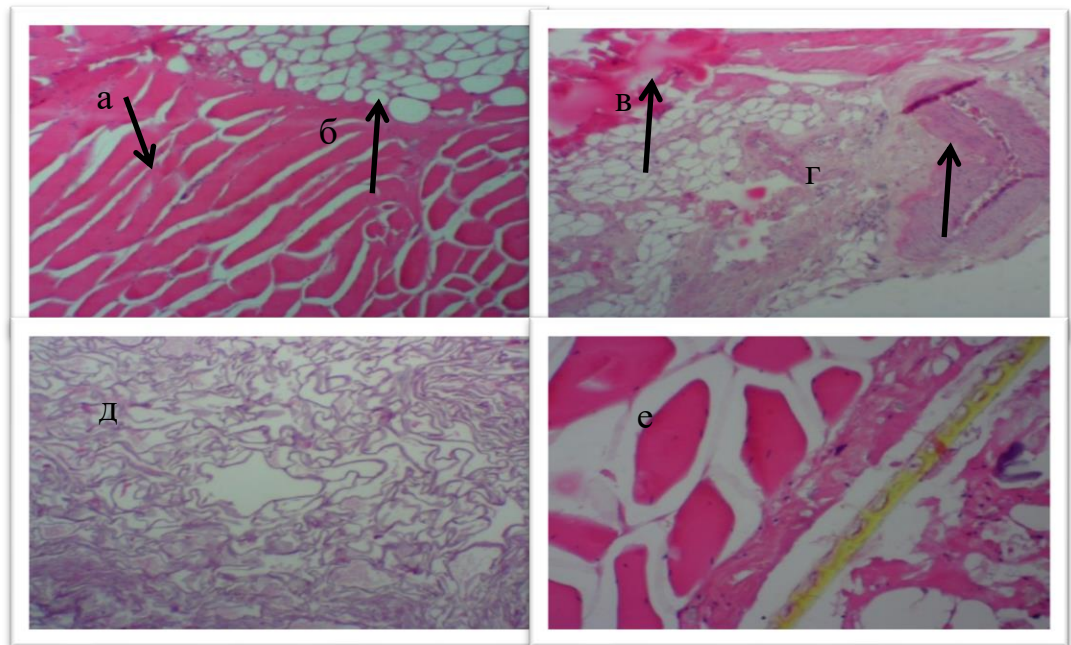


Рис.2.16. Гістологічний зріз зразка № 4: м'язові волокна (а), жирова тканина (б), пухка сполучна тканина з кровоносними судинами (в), гомогенізована оксифільна безструктурна маса (г), рослинні компоненти (д,е). Leica, ×100

Зразок №4 містить великі суцільні шматочки м'язової тканини із часточками жирової тканини. М'язові волокна рівномірної товщини і забарвлення, зі збереженими ядрами, вираженою поперечною і повздовжньою посмугованістю, що вказує на те, що у даній продукції

використовували свіже м'ясо без ознак тривалого зберігання і замороження. Сполучна тканина представлена щільною волокнистою сполучною тканиною (зв'язка), пухкою сполучною тканиною з кровоносними судинами. Гомогенізована оксифільна безструктурна маса, ймовірно білково-жирова емульсія внесена згідно технічної рецептури для поповнення вмісту жиру у складі продукту. Рослинні компоненти представлені рослинними клітинами (цибуля, часник, спеції, томати).

Таким чином, проба ковбасок №4 згідно до нормативної документації [3] має не відповідність за співвідношенням сполучної до жирової тканини.

За результатами мікроструктурного аналізу у пробі ковбасок №5 було ідентифіковано м'язову, сполучну і жирову тканини, кількість яких склала відповідно 55,1%, 9,0% та 21,6 %, а також гомогенізовану безструктурну масу з вакуолями і неідентифіковані компоненти, доля яких становила 12,5% та 0,7% відповідно (рис.2.17) Розрахувавши співвідношення сполучної тканини до жирової встановлено збільшення показника на 0,42 , що не відповідає нормативній документації[4].

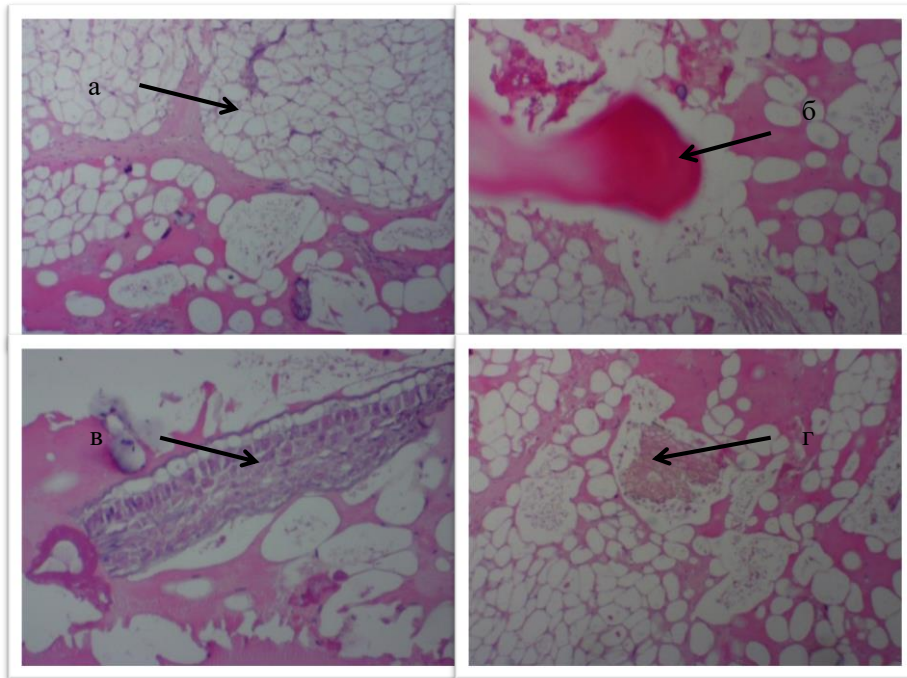


Рис.2.17. Гістологічний зріз зразка №5: жирова тканина (а), гомогенізована маса (б), соєвий концентрат (в), рослинні клітини (г) Leica, x100.

Слід відзначити, що зразок № 5 у своєму складі в основі має жирову тканину, що представлена адипоцитами розміщених переважно групами, утворюючи часточки. М'язова тканина представлена окремими пучками м'язових волокон. Не виражені ядра, відсутня поперечна і повздовжня посмугованість, волокна деформовані, фрагментовані, забарвлені нерівномірно, ендомізій набряклий, потовщений, містить пустоти різних розмірів і форми, це може свідчити на тривале зберігання м'яса та його заморожування. Сполучна тканина представлена переважно щільною волокнистою сполучною тканиною. Гомогенізована маса – оксифільна безструктурна маса з порожнинами заповненими дрібнозернистою чи гомогенною масою, ймовірно білково-жирова емульсія внесена згідно технічної рецептури для поповнення вмісту жиру у складі продукту. Неідентифіковані компоненти представлені волокнистими структурами, між якими розміщена дрібнозерниста маса. Рослинні компоненти – у вигляді стовпчиків прямокутних клітин (соєвий концентрат) чи рослинних клітин (цибуля, часник).

Таким чином, проба ковбасок №5 згідно до нормативної документації [4] має не відповідність за співвідношенням сполучної до жирової тканини

Отже, за результатами органолептичного дослідження всі зразки відповідають нормативним вимогам, тоді як за мікроструктурним аналізом було виявлено, що у фарші Домашньому (зразок№1) та Баварських ковбасках (зразок№ 5) м'ясо з ознаками тривалого зберігання та заморожування та по співвідношенню складових компонентів всі зразки не відповідають нормативним вимогам [52].

2.3.2. Ідентифікувати видовий склад напівфабрикатів м'ясних

На сьогодні найбільш перспективними для визначення видової приналежності тканин тваринного походження в складі м'ясної сировини та продуктів, в тому числі які зазнали термічної обробки є молекулярно-генетичні методи, серед яких найбільш розповсюдженим є полімеразна ланцюгова реакція [49]. У порівнянні з традиційними способами ідентифікації видової приналежності тканин метод ПЛР відрізняється універсальністю застосування, високим рівнем чутливості та специфічності, високою відтворюваністю і можливістю кількісної оцінки отриманих результатів [47,49].

У результаті проведеного ПЛР-дослідження встановлено видовий склад тканин у різних зразках м'ясного фаршу (табл. 2.3).

Таблиця 2.3.

**Видовий склад компонентів м'ясного фаршу ідентифікованих
методом ПЛР**

Досліджувані проби		Зразок №1	Зразок №2	Зразок №3	
Показники	Заявле ний виробником	Яловичина	+	+	+
		Свинина	+	+	-
		Курка	-	-	-
	Фактич ний вміст, Сt	Яловичина	23,34	22,69	22,30
		Свинина	20,70	21,04	28,12
		Курка	26,99	-	-

Примітка: "+" вказує на наявність тканин відповідного виду тварин;
«-» вказує на відсутність тканин відповідного виду тварин

Встановлено, що зразок № 1 у своєму складі містить ДНК тканин яловичини, свинини та курки. Порівнюючи між собою значення показнику Сt, слід зауважити, що у фарші № 1 найбільше ДНК свині, а найменше – курки. На це вказує відповідно мінімальне і максимальне значення Сt. Так, значення Сt за показником свинини є на 2,64 од. меншим, а курки – на 3,65 од. більшим за значення показнику яловичини. Зважаючи на те, що різниця між значеннями Сt за досліджуваними показниками у 3,33 од. характеризує відповідне співвідношення як 1:10, а збільшення цієї різниці у 2 рази вказує на зміну рівня співвідношення до значень 1:100. Враховуючи вище наведене, отримані нами значення Сt вказують на те, що кількість ДНК яловичини у фарші № 1 є майже у 10 меншою за кількість генетичного матеріалу свині, а курки – у 10 разів меншою за кількість ДНК яловичини та у 100 разів меншою за кількість ДНК свині.

Порівнюючи отримані результати із тканинним складом заявленим виробником виявлено невідповідність за тканинами курки, про що свідчить наявність ДНК останньої у м'ясному виробі. Це може бути обумовлено контамінацією обладнання для виготовлення фаршу тканинами курки.

Дослідження фаршу № 2 вказують на те, що у його складі містяться лише тканини яловичини та свинини. При цьому значення C_t за цими показниками суттєво не відрізняються (менше за 3,33), що вказує на рівну кількість ДНК яловичини та свинини.

У фарші № 3 виявлено генетичний матеріал свинини та яловичини, співвідношення яких складає близько 1:100 відповідно, на що вказують значення C_t за цими показниками.

Порівнюючи отримані результати із заявленим складом слід відмітити наявність у фарші № 3 ДНК свинини, кількість якої складає близько 1 % від загальної кількості екстрагованого генетичного матеріалу, що не відповідає рецептурі, та може бути обумовлено контамінацією обладнання для виготовлення фаршу тканинами свинини.

Отже, фарш № 1 і 3 не відповідають рецептурі, оскільки містять генетичний матеріал тканин тих тварин, що не зазначені у рецептурі виготовлення продукту. Фарш № 2 за видовою ідентифікацією відповідає заявленій виробником рецептурі.

У таблиці 2.4 відображено результати генетичного дослідження видової ідентифікації тканин ковбасок з фаршу.

Встановлено, що досліджені обидва види ковбасок з фаршу (зразок № 4 та 5) у своєму складі містять лише генетичний матеріал свинини.

Порівнюючи отримані результати із рецептурою можна зробити висновок, що зразки № 4 і 5 за видовим складом тканин тварин повністю відповідають заявленому виробником складу.

Таблиця 2.4

**Видовий склад компонентів ковбасок з фаршу ідентифікованих
методом ПЛР**

Досліджувані проби			Зразок №4	Зразок №5
Показники	Заявлений виробником	Яловичина	–	–
		Свинина	+	+
		Курка	–	–
	Фактичний вміст, Ст	Яловичина	–	–
		Свинина	20,12	19,82
		Курка	–	–

Примітка: “+” вказує на наявність тканин відповідного виду тварин; «–» вказує на відсутність тканин відповідного виду тварин

Отже, за результатами видової ідентифікації тканин у виробках м'ясних виявлено два фарші м'ясні – зразок № 1 і 3, які у своєму складі містять не зазначені у рецептурі компоненти – тканини курки та свинини відповідно. Зразок № 1 у своєму складі містить близько 90 % ДНК свинини, 9 % ДНК яловичини та ДНК курки 1 %, а зразок № 3 на 99 % складається з тканин яловичини і 1 % свинини. Зразки № 2, 4 і 5 за тканинним складом тварин повністю відповідають рецептурі. Зразок № 2 містить майже рівні долі ДНК яловичини та свинини, а у зразках № 4 і 5 100 % тканин свинини.

2.3.3. Мікробіологічні показники напівфабрикатів м'ясних

У сучасному світі однією з важливих питань є зниження і ліквідація мікробіологічних ризиків виникнення захворювань харчового походження. Бактеріальні токсини забруднюють харчові продукти і є причиною виникнення гострих харчових інтоксикацій [44]. Найбільш сприятливими для росту і розвитку хвороботворних бактерій є сире молоко, м'ясо і продукти його переробки. З огляду на це оцінка показників безпеки полягає у виявленні небезпечного агента, оцінки ризику та запобігання мікробіологічному забрудненню у подальшому [43]. Тому мікробіологічний аналіз є одним з основних показників безпеки молочної і м'ясної продукції як в умовах виробництва, так і на стадії її реалізації [48].

Досліджуючи показники безпеки зразків фаршу та ковбасок було виявлено, що колоній бактерій групи кишкової палички в досліджених зразках відсутні. Проте за показником КМАФАМ у всіх досліджуваних зразках фаршу та ковбасок виявлені мезофільні аеробні і факультативні анаероби у кількості, що не перевищує гранично допустимого рівня у зразку №1 та 4, кількість цих бактерій знаходиться на верхній межі гранично допустимих значень за кількістю КУО в 1г продукту. Це може бути обумовлено не дотриманням температурних умов під час транспортування або зберіганні продукції (рис.2.5)

Отже, у досліджуваних зразках за показниками КМАФАМ та БГКП суттєвих відхилень від регламентованих ДСТУ значень не виявлено. У зразках № 1 та 4 показник КМАФАМ знаходиться на верхній межі гранично допустимих значень.

Таблиця 2.5

**Мікробіологічні показники БГКП та КМАФАМ у
напівфабрикатах м'ясних**

Матеріал	(КМАФАМ), КУО в 1 г	Норма	БГКП	Норма
зразок №1	1×10^7	1×10^6 - 1×10^7	Не виявлено	Не допускається
зразок № 2	1×10^6		Не виявлено	
зразок № 3	1×10^6		Не виявлено	
зразок №4	1×10^7		Не виявлено	
зразок №5	1×10^6		Не виявлено	

Все частіше виникають шпитальні інфекції, спричинені патогенними або умовно патогенними мікроорганізмами. Все це вимагає вдосконалення існуючих методів лабораторного дослідження мікрофлори харчових продуктів. Тому, окрім дослідження зразків напівфабрикатів м'ясних на наявність санітарно-показових мікроорганізмів, було проведено мікробіологічне дослідження на патогенні мікроорганізми (табл.2.6).

Таблиця 2.6

**Мікробіологічні показники у напівфабрикатах м'ясних
Salmonella та L. monocytogenes**

Матеріал	Salmonella	Норма	L.monocytogenes	Норма
зразок №1	Не виявлено	Не допускається	Не виявлено	Не допускається
зразок № 2	Не виявлено		Не виявлено	
зразок № 3	Не виявлено		Не виявлено	
зразок №4	Не виявлено		Не виявлено	
зразок №5	Не виявлено		Не виявлено	

Встановлено, що за мікробіологічного дослідження фаршів м'ясних та ковбасок з фаршу бактерій роду *Salmonella* та *L. monocytogenes* не виявлено, що відповідає нормативній документації та вказує на безпечність досліджених виробів для людини.

Отже, результати мікробіологічного дослідження вказують на те, що напівфабрикати м'ясні за мікробіологічними показниками (КМАФАМ, БГКП, *Salmonella* та *L. monocytogenes*) відповідають державному законодавству та можуть бути реалізовані у мережі продуктових маркетів.

2.3.4. Розрахунок економічної ефективності

Розрахунок економічної ефективності проведеного мікроструктурного аналізу, ПЛР та мікробіологічного дослідження зразків м'ясних напівфабрикатів. Розрахунок ведеться за такими показниками: витрати на одиницю часу роботи провідного спеціаліста лабораторії, вартість електроенергії на дослідження, вартість витрачених матеріалів та амортизація залученого обладнання.

Розрахунки економічної ефективності були проведені для вивчення трьох основних показників:

- Економічна ефективність проведеного мікроструктурного аналізу;
- ПЛР-тестування для виявлення ДНК тварин;
- Проведення мікробіологічних досліджень;

Виходячи з вищезазначених пунктів, розраховуємо вартість цих досліджень.

2.3.4.1 Розрахунок економічної ефективності мікроструктурного аналізу

Розрахунок вартості одиниці спеціаліста відділу морфології:

Заробітна плата провідного спеціаліста відділу морфології – 6500,00 грн., середня кількість робочих днів за календарний місяць – 21, з урахуванням тривалості робочого дня – 7 годин, кількість хвилин за один час – 60. хвилин, а кількість годин, необхідних для дослідження - 40 годин, можна розрахувати вартість часу, витраченого на мікроструктурний аналіз.

За умовами роботи можна розрахувати одиницю витрат часу на мікроструктурний аналіз: $6500/21/7$

Таким чином, витрати часу провідного спеціаліста на дослідження становлять 44,22 грн., а на дослідження 5 зразків $44,22 * 40/5 = 353,76$ грн.

В середньому на електроенергію витрачається 120 грн. Амортизаційні відрахування від використання приладів (мікроскоп,

мікротом) для мікроструктурного аналізу залежно від їх вартості 418692 грн., термін 5 років, час використання в дослідженні 40 год.

Отже, амортизаційні відрахування становлять: $(418692 \text{ грн.} / 5/12/21/7) * 40/5 = 380 \text{ грн.}$

Загальна вартість реактивів для експерименту 35,95 грн.

За розрахунками тариф на послугу $353,76 + 120 + 380 + 35,95 = 889,71$ грн, а в науково-дослідній лабораторії коштує 1150,0 грн / 1 зразок.

Виходячи з вищесказаного, ми можемо розрахувати економічну ефективність мікроструктурного аналізу:

$$E_e = V_d - V_{всоб}$$

де:

V_d – вартість дослідження одного зразку за одним показником;

$V_{всоб}$ – собівартість дослідження одного зразку за одним показником.

$$1) E_{e1} = 1150 - 889,71 = 260,29 \text{ грн.}$$

Таким чином, проведення мікроструктурного аналізу в Науково-дослідному центрі біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державний аграрно-економічного університету України є економічно вигідним і становить 260,29 грн. чистого прибутку.

2.3.4.2. Розрахунок економічної ефективності ПЛР дослідження для виявлення ДНК тварин

Розрахунок вартості одиниці спеціаліста ПЛР-лабораторії:

Заробітна плата провідного спеціаліста ПЛР-лабораторії – 6500,00 грн., середня кількість робочих днів за календарний місяць – 21, з урахуванням тривалості робочого дня – 7 годин, та кількості годин, необхідних для проведення дослідження – 5. годин. розрахувати вартість часу, витраченого на ПЛР-дослідження.

За умовами роботи можна розрахувати одиницю витрат часу на ПЛР-аналіз: $6500/21/7 \times 5$. Таким чином, витрати часу провідного спеціаліста ПЛР-лабораторії на дослідження становлять 221,08 грн.

В середньому на електроенергію витрачається 20 грн.

Амортизаційні відрахування від використання приладів для ПЛР-аналізу (ампліфікатор, гомогенізатор, екстрактор) залежно від їх вартості 1694000 грн., термін 5 років, час використання в дослідженні 7 год, можлива кількість тестових зразків на один аналіз – 92 проби (за умови повного завантаження пристрою).

Амортизаційні відрахування становлять:

$$16940000/5/12/21/7/92 \times 2 = 41,75 \text{ грн / зразок}$$

Так, амортизаційні витрати на дослідження однієї проби становлять 41,75, а на дослідження 5 зразків -208,75 грн.

Вартість вилучення нуклеїнової кислоти з одного зразка – 88,55 грн.

Вартість тест-системи «Rbiofarm» для виявлення ДНК яловичини та баранини на 100 реакцій становить 50 400 грн, а тест-системи «Рбіофарм» для виявлення ДНК свинини та курки на 100 реакцій — 45 850 грн. Таким чином, за допомогою одного діагностичного набору можна дослідити 70 зразків.

Так, вартість реагентів для ПЛР для виявлення ДНК яловичини та баранини становить 720 грн, а для виявлення ДНК свинини та курки – 650 грн.

Відрахування до центру зайнятості, пенсійного фонду та на медичного страхування разом складає близько 36,2% від заробітної плати провідного фахівця. З огляду на це сума нарахувань буде складати:

$$(6500,00 \times 36,2 / 100) / 21 / 7 \times 5 \text{ (необхідна кількість часу для проведення дослідження)} = 80,03 \text{ грн.}$$

Так, державні відрахування до центру зайнятості за проведені дослідження на виявлення ДНК тварин методом ПЛР становить 80,03 грн.

Підсумовуючи вищезазначені витрати, можна розрахувати вартість ПЛР-досліджень для виявлення ДНК яловичини та баранини:

$$221,08 + 20 + 208,75 + 720 + 80,03 = 1249,86 \text{ грн.}$$

Підсумовуючи вищевказані показники вартості, можна розрахувати вартість ПЛР-дослідження на виявлення ДНК свинини та курки:

$$221,08 + 20 + 208,75 + 655 + 80,03 = 1184,86 \text{ грн.}$$

Так, вартість ПЛР-тестування на виявлення ДНК яловичини та баранини становить 1186,12 грн., а на виявлення ДНК свинини та курки 1121,12 грн.

Відповідно до прайсу Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу вартість ПЛР-тестування на виявлення ДНК яловичини та баранини становить 1700 грн, а виявлення ДНК свинини та курки – 1350 грн.

Виходячи з вищесказаного, ми можемо розрахувати економічну ефективність ПЛР-тестування для виявлення ДНК тварин (1 - яловичина і баранина, 2 - свинина і курка):

$$E_e = V_d - V_{всоб}$$

де:

V_d – вартість дослідження одного зразку за одним показником;

$V_{всоб}$ – собівартість дослідження одного зразку за одним показником.

$$1) E_{e2} = 1700 - 1249,86 = 450,14 \text{ грн.}$$

$$2) E_{e3} = 1350 - 1184,86 = 165,14 \text{ грн.}$$

Так, проведення ПЛР-дослідження для виявлення ДНК тварин у харчових продуктах у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК є економічно вигідним за двома позиціями і становить 450,14 та 165,14 грн чистого прибутку.

2.3.4.3. Розрахунок економічної ефективності проведеного мікробіологічного дослідження

Розрахунок вартості одиниці часу фахівця у відділі бактеріології та біотехнології:

Оплата праці провідного фахівця відділу бактеріології та біотехнології: становить 6500,00 грн., середня кількість робочих днів за календарний місяць – 21, враховуючи тривалість робочого дня, яка складає 7 годин, кількість хвилин в одному часі- 60 хвилин, а також кількість годин, що необхідна для проведення дослідження – 24 години, можна розрахувати вартість затраченого часу на проведення мікробіологічного дослідження

За умовами праці можна розрахувати вартість одиниці часу для проведення мікробіологічного дослідження: $(6500 / 21 / 7) \times 24/5. = 212$ грн.

На електроенергію витрачається в середньому 20 грн

Амортизаційні відрахування від використання приладів для проведення мікробіологічного дослідження (термостат, лічильник) в залежності від їх вартості 35300 грн., строку 10 років, часу використання при дослідженні 24 години.

Амортизаційні відрахування складають:

$$35300 / 10 / 12 / 21 / 7 * 24 = 48,02 \text{ грн/пробу}$$

Отже, амортизаційні витрати на проведення дослідження однієї проби складають 48,02 грн.

Вартість реактивів використаних на дослідженні наведені у таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Вартість витрачених реактивів для мікробіологічних досліджень напівфабрикатів м'ясних

Назва хімічного реактиву	Кількість витраченого реактиву	Вартість витрачених реактивів (грн.)
Фізіологічний розчин	85,5 мл	15
МПА	30 мл	427,10
Середа Ендо	15мл	155
96% етиловий спирт	10мл	21
Кесслера	10мг	80,8
Буфери-пептонна вода	10 мг	80,8
Генціан фіолетовий	5мл	15
Всього		794,70

Загальна вартість реактивів для проведення дослідів 794,70 грн.

По розрахункам тариф на послугу складає $212 + 20 + 48,02 + 794,70 = 1074,72$ грн., а в лабораторії дослідження на:

- КМАФАМ-225 грн/проба;
- БГКП-145 грн/проба;
- Salmonella-430 грн./проба;
- L.Monocytogenes-416 грн/проба

Всього: $225 + 145 + 430 + 416 = 1216$ грн

Виходячи з вище наведеного, можна розрахувати економічну ефективність бактеріологічного дослідження:

$$Ee = V_d - V_{\text{всоб}}$$

де:

V_d – вартість дослідження одного зразку за показниками;

$V_{\text{всоб}}$ – собівартість дослідження одного зразку за показниками.

$$1) Ee_4 = 1216 - 1074,72 = 141,28 \text{ грн}$$

Отже, проведення мікробіологічного дослідження за показниками безпеки у харчовій продукції в НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідним складає 111,28 грн чистого прибутку на одну пробу

Підсумовуючи вище наведені розрахунки можна зробити висновок, що економічний ефект від проведеного мікроструктурного аналізу складає 260,29 грн, методу ПЛР – за двома позиціями 450,14 та 165,14 та мікробіологічного дослідження складає 141,28 грн. Тому проведення досліджень за показниками якості та безпеки у харчовій продукції в НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідним.

3. ОХОРОНА ПРАЦІ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ

3.1. Аналіз стану охорони праці в науково-дослідному центрі біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Сьогодні охорона праці є однією з основних систем на підприємствах. Охорона праці включає комплекс заходів, до них належать організаційно-технічні, соціально-економічні, санітарно-гігієнічні та лікувально-профілактичні [1,5].

Таким чином, охорона праці містить не тільки правові норми, що регулюють певну сторону трудових відносин, а й включає комплекс фактичних заходів, спрямованих на реалізацію права кожного на працю в певних умовах.

Метою цих заходів є створення умов праці, що відповідають вимогам збереження життя і здоров'я працівників у процесі трудової діяльності.

Безпечні умови праці значною мірою забезпечуються технічним прогресом, удосконаленням обладнання та технології виробництва. Але якщо на рівні розвитку техніка і технологія виробництва цієї продукції самі по собі не виключають загрози здоров'ю та життю людей, то для їх усунення слід застосовувати заходи, передбачені трудовим законодавством про охорону праці та спрямовані на запобігання чи нейтралізацію загрози. вплив на працівників небезпечних і шкідливих виробничих факторів [33]

Дипломну роботу виконано на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрного університету. Охорона праці в НДЦ забезпечується відповідно до наказу Держпраці від 20.04.99 р. N 67,

затвердженого та зареєстрованого Міністерством юстиції України від 11 жовтня 1999 р. за N 695/3988 [18].

Відповідно до цього наказу особи, які досягли 18-річного віку, пройшли попередній медичний огляд, відповідну спеціальну підготовку та ретельно ознайомлені з правилами роботи з інфікованими чи підозрілими матеріалами, хімічними речовинами, навчені експлуатації лабораторного обладнання. Усі працівники лабораторії мають санітарні книжки, періодично проходять медичні огляди.

Тривалість робочого часу та право на відпустку працівників лабораторії відповідає вимогам кодексу законів України про працю ..

Відповідно до Положення про службу охорони праці в лабораторії, відповідальність за дотримання вимог чинного законодавства покладається на директора Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю аграрних ресурсів Дніпровського державного аграрного економічного університету - Масюка Дмитра Миколайовича, а контроль за дотриманням вимог охорони праці від травматизму та захворюваності на підприємстві здійснюють завідувачі відділами. Усі працівники лабораторії проінструктовані, ознайомлені з чинним трудовим законодавством про охорону праці: Законом України «Про охорону праці», Законом України «Про загальнообов'язкове державне соціальне страхування від нещасних випадків на виробництві, що спричинили втрату працездатності», знання правил, норм та інструкцій з охорони праці в порядку і строки, встановлені для виконання окремих робіт.

Інструктаж з охорони праці організовується відділом охорони праці підприємства з метою навчання працівників правильному та безпечному для себе та навколишнього середовища виконання своїх обов'язків. Відповідальність за організацію навчання та перевірки знань з питань охорони праці в науково-дослідному центрі покладається на завідувачів відділами.

Під час первинного інструктажу на робочому місці роз'яснюються основні вимоги безпеки при виконанні та завершенні роботи. Факт проведення інструктажу реєструється в журналі обліку інструктажу на виробництві [18].

Повторний інструктаж проводиться не менше ніж через півроку. Його мета – підтримувати рівень знань з техніки безпеки та праці.

Позаплановий інструктаж відбувається при зміні правил техніки безпеки або коли працівники порушують інструкції з охорони праці.

Планування організаційно-технічних заходів з охорони праці є однією з важливих функцій управління. У планах покращення умов праці та оздоровчих заходів; створюються найкращі побутові та соціальні умови на роботі

Колективний договір є важливим документом у регулюванні відносин між роботодавцем і працівниками. Він укладається у письмовій формі та містить основні положення про працю та заробітну плату, положення у сфері робочого часу, відпочинку, матеріального заохочення, охорони праці.

Робота з охорони праці фінансується роботодавцем. Фінансування профілактичних заходів з охорони праці, виконання загальнодержавних, галузевих та регіональних програм з покращення безпеки, гігієни праці та виробничого середовища, спрямованих на попередження нещасних випадків та професійних захворювань

3.2. Аналіз небезпечних та шкідливих виробничих факторів

Робота в лабораторії організована відповідно до ДСП 9.9.5.-080-02 [33], що регламентує правила облаштування та техніки безпеки в лабораторіях мікробіологічного профілю. Лабораторія має дозвіл на роботу з мікроорганізмами 3-4 груп патогенності (свідоцтво №02-18 від 19.01.2018, термін дії до 19.01.2023).

Оскільки працівники мають безпосередній контакт з матеріалами та речовинами, а також приладами, небезпечними для здоров'я та життя людини, тому для нормальної роботи в науковому центрі враховують ряд важливих аспектів:

- Стан виробничих умов;
- Організаційно-технічні заходи;
- Пожежна безпека;
- Характеристики речовин та обладнання;
- Вплив на навколишнє середовище.

Вимоги до приміщень відділень НДЦ:

- 1) Приміщення має бути забезпечене вентиляцією.
- 2) Освітлення приміщення має бути рівномірним.
- 3) Приміщення необхідно утримувати в чистоті.
- 4) Підлога та стіни кімнати, а також робоча поверхня меблів повинні легко митися.
- 5) Місце для підготовки проб має бути відокремлено від місця розташування аналітичних приладів.

За кожним співробітником відділів, де проводяться дослідження, закріплюється певне робоче місце. Кожна зона лабораторії забезпечена окремим обладнанням для прибирання та обробки робочого місця. Робочий халат кожної зони обробляється окремо.

Електрична мережа лабораторії заземлена, яка підключена до кожного приладу та електричних розеток. Перед початком роботи працівник повинен одягнути спеціальний одяг - халат, медичну шапочку, а при вході до бактеріологічного або молекулярно-генетичного відділень, додатково - спеціальне взуття. Працівник також повинен перевірити безпеку робочого місця та справність обладнання. У разі виявлення несправностей або порушень повідомляти завідувачому відділу.

Матеріал для дослідження направляється до відділів НДЦ, заноситься через окремий вхід, передбачений для цього.

У кожному відділі НДЦ є бактерицидні лампи, які вмикаються поза опромінюваною зоною на 1-2 години на 30 хвилин. перед роботою. Під час роботи двері боксу повинні бути щільно закриті. У цей час забороняється залишати бокс, а також входити бокс іншим працівникам лабораторії.

Після закінчення роботи працівник прибирає робоче місце: дезінфікує робочу поверхню ламінарного або ПЛР-боксу, столу, тощо приладів. Проводить вологе прибирання, після чого протирає підлогу, стіни та меблі дезінфікуючим розчином. Приміщення один раз на тиждень миють гарячою водою з дезінфікуючими засобами.

Усі хімічні реагенти та шафи, а також холодильники та морозильні камери, що використовуються для зберігання реагентів та досліджуваних зразків, маркуються та чітко ідентифіковані.

Відпрацьований та непотрібний матеріал знезаражують шляхом автоклавування у автоклаві.

3.3. Пожежна безпека

Основним нормативним документом, що регулює вимоги до пожежної безпеки, є Закон України «Про пожежну безпеку» [2].

Пожежна безпека в науково-дослідному центрі забезпечується проведенням організаційно-технічних та інших заходів відповідно до Закону України «Про пожежну безпеку». Щоб уникнути пожежі потрібно дотримуватися наступних правил пожежної безпеки:

- регулярно перевіряти справність електроприладів та електрообладнання; ізоляція ліній електропередач;
- у виробничих приміщеннях заборонено палити;
- не допускати перегрів приладів;
- вільний доступ працівників до пожежних щитків ;

Науковий центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу ДДАЕУ має план евакуації, у кожному приміщенні лабораторії є порошкові вогнегасники «ВП-5», які систематично перевіряються та перереєструються.

З метою запобігання пожежі в лабораторії регулярно перевіряють стан електроприладів та ізоляції проводів.

Відповідальність за пожежну безпеку покладено на директора науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету - Масюка Дмитра Миколайовича.

4. ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

У магістерській роботі наведено інтегративний підхід до визначення показників якості та безпечності напівфабрикатів м'ясних.

1. Органолептичними дослідженнями встановлено, що всі зразки відповідають нормативним вимогам, тоді як за мікроструктурним аналізом було виявлено, що у зразку №1 та 5 м'ясо з ознаками тривалого зберігання та заморожування та по співвідношенню складових компонентів всі зразки не відповідають нормативним вимогам.

2. Видовою ідентифікацією тканин з'ясовано, що у виробках м'ясних (зразок № 1 і 3), у складі містяться не зазначені у рецептурі компоненти – тканини курки та свинини відповідно. Зразок № 1 у своєму складі містить близько 90 % ДНК свинини, 9 % ДНК яловичини та ДНК курки 1 %, а зразок № 3 на 99 % складається з тканин яловичини і 1 % свинини. Зразки № 2, 4 і 5 за тканинним складом тварин повністю відповідають рецептурі. Зразок № 2 містить майже рівні долі ДНК яловичини та свинини, а у зразках № 4 і 5 100 % тканин свинини.

3. Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що напівфабрикати м'ясні за мікробіологічними показниками (КМАФАМ, БГКП, *Salmonella* та *L. monocytogenes*) відповідають державному законодавству та можуть бути реалізовані у мережі продуктових маркетів.

4. Економічна ефективність за проведеним мікроструктурним аналізом складає 352,53 грн, методом ПЛР – за двома позиціями 513,88 та 228,88 та за мікробіологічним дослідженням складає 111,72 грн. Тому у профільних лабораторіях НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ проведення досліджень за показниками якості та безпечності у харчовій продукції є економічно обґрунтованими.

Пропозиція виробництву

Одержані за результатами досліджень дані пропонуємо використовувати у профільних лабораторіях Держпродспоживслужби окрім класичних методів дослідження показників якості та безпеки, ще молекулярний метод дослідження видової ідентифікації напівфабрикатів м'ясних, як сучасний та високоспецифічний вид дослідження.

5. СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Закон України "Про охорону праці" від 21.11.2002 р. № 229-IV. // "Охорона праці" № 1, 2003 р.
2. Закон України "Про пожежну безпеку". К.: Основа, 2007. 56 с.
3. Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні посічені. Технічні умови. ДСТУ 7063:2009. [Чинний від 2010-01-01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2009. 21 с
4. Напівфабрикати м'ясні та м'ясо-рослинні посічені. Технічні умови. ДСТУ 4437:2005. [Чинний від 2005-15-07]. Київ: Держспоживстандарт України, 2006. 21 с.
5. НПАОП 85.20-1.03-99 «Правила охорони праці в лабораторіях ветеринарної медицини», Затверджено наказом Держнагпядохоронпраці від 20.04.1999р. №67.).
6. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Рукопис. М: Медицина, 2010., 384 с
7. Антипова, Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов/Л.В. Антипова, И.А. Глоткова, И.А. Рогов. -М.: Колос, 2011.- 570 с.
8. Баль-Прилипко Л. В. Актуальні проблеми м'ясопереробної галузі: підручник. Київ: КВІЦ, 2011. С. 34–36.
9. Білик Р. І., Яценко І. В. Розроблення елементів системи управління безпечністю харчових продуктів за ISO 22000:2005 та необхідність впровадження стандартів ISO серії 22000 в Україні. *Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії*. 2014. Вип. 28. Ч. 2. С. 44–49.
10. Богатко Н. М., Сахнюк Н. І., Богатко Д. Л. Застосування мікробіологічних критеріїв в Україні за встановлення безпечності харчових продуктів. *Збірник наукових праць Харківської державної*

зооветеринарної академії. Проблеми зооінженерної та ветеринарної медицини. 2013. Вип. 26. Ч. 2. С. 254–259.

11. Богатко Н. М., Сахнюк Н. І., Голуб О. Ю. Ступінь бактеріального обсіменіння м'ясного фаршу залежно від термічного стану за реалізації в супермаркетах. Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2012. Вип. 1 (32). Т. 3. Ч. 1. С. 117–120.

12. Ветеринарне правознавство України: Підручник. Яценко І.В., Кам'янський В.В., Бондаревський М.М., Бібен І.А., Богатко Н.М., Фотіна Г.А., Бінкевич В.Я., Зажарський В.В. Харків : РВВ ХДЗВА, 2015. – 392 с.

13. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології істандартизації продуктів тваринництва / О. М. Якубчак, В. І. Хоменко, С. Д. Мельничук та ін.; За ред. О. М. Якубчак, В. І. Хоменка. - Київ, 2010. - 800 с.

14. Ветеринарно-санітарна експертиза сировини та продуктів тваринного походження / В. В. Власенко, Р. Й. Кравців, В. І. Хоменко та ін. -Вінниця, 2009. – 325с.

15. Ветеринарно-санітарна експертиза. Практикум : Навч. посіб. / Н. М. Зажарська [та ін.]. Харків: Бровін О. В., 2014. 190 с/

16. Влияние комплекса соевых белков и клетчаток (балластных веществ) на функционально-технологические свойства мясных фаршей / А. В. Ильтяков // «Инновационные технологии переработки сельскохозяйственного сырья в обеспечении качества жизни: наука, образование и производство»: материалы Международной научнотехнической конференции. - Воронеж, 2008. - С. 198 - 202.

17. Возіанов О. Ф. Харчування та здоров'я населення України. Журнал Академії медичних наук України. 2012. Т. 8, №4. С. 645–657.

18. Войналович О.В. Охорона праці у ветеринарній медицині. /Т.О. Білько, Є.І. Марчишина. Навч. посіб. К.: Основа, 2010, 2016. 344 с.

19. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: підручник. Житомир: Полісся, 2011. 288 с.

20. Дубініна І.П. / Застосування методу ПЛР в клініко-діагностичних лабораторіях. // Лабораторія-2006 №4. -С. 4-6.

21. Єсіна Е. В. Марценюк І. В. Застосування мікроструктурного аналізу для визначення якості м'ясних фаршів торгівельної мережі м. Дніпропетровська. Вісник Дніпропетровського ДАУ. 2009. №1. С. 119–122.

22. Калинова Ю. Е. Структурные изменения мышечной ткани под действием различных концентраций лактата кальция / Ю. Е. Калинова, Л.С.68 Кудряшов, Т. Г. Кузнецова // Хранение и переработка сельхоз сырья. - 2009. -№5, - с. 37 - 38.

23. Коцюмбас Г. І. Мікроструктурне дослідження сировини у м'ясних фаршах: методичні рекомендації. Львів. 2010. 49 с.

24. Ложкіна О. В. Меженська Н. А., Калиновська І. Г. Методичні вказівки з визначення складників всіх видів м'ясної сировини, напівфабрикатів та готової продукції із м'ясної сировини. К., ДНДІЛДВСЕ, 2010. 28

25. Методичні рекомендації до виконання і захисту дипломних робіт (для студентів факультету ветеринарної медицини освітнього ступеня «Магістр» спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза») / Дніпровськ. держ. аграрно-економ. ун-т. Дніпро, 2018. – 54 с. (2,49 д.а.)

26. Методичні рекомендації щодо проведення органолептичних досліджень м'яса та м'ясопродуктів при визначенні їх ветеринарно – санітарної оцінки: ВВ Касьянчук, П. Д. Константинов, Н.М. Богатко. – Біла Церква, 2013 – с. 47.

27. Мікробіологія м'яса та м'ясних продуктів (практикум) / [В. В. Власенко, В. Г. Скибіцький, І. Г. Власенко та ін.]. – Вінниця, 2008. – 308 с

28. Основи охорони праці. Підручник. 4-е вид. За ред. М.П.Гандзюка.– К.:Каравела, 2008. – 384 с.).

29. Павлова В.А., Титаренко Л.Д., Залигіна В.Д. Ідентифікація та фальсифікація продовольчих товарів. - К.: 2013, 189 с.

30. Производство полуфабрикатов из мяса птицы по современным технологиям [Текст] / А. В. Ильтяков, В. В. Прянишников, П. М. Микляшевски, Й. Тонауэр // Все о мясе. – 2013. – № 1. -С. 32-36.

31. Рынок мяса и мясных продуктов Украины //Мясное дело. –2009. – № 2. –С. 5–12.

32. Салухіна Н.Г., Язвінська О. М. Стандартизація та сертифікація товарів та послуг: Підручник. – К.: Центр учбової літератури, 2013. – 426 с.

33. Сапронова В.О. Методичні рекомендації до проведення практичних занять з дисципліни «Охорона праці у галузі» для студентів факультету ветеринарної медицини ОС «Магістр» Дніпро, ДДАЕУ, 2019. 38 с.

34. Сенченко Б.С. Ветеринарно-санитарная профилактика пищевых токсикоинфекций и токсикозов //Мясной бизнес. –2015. –№ 1 (30). –С. 58–59.

35. Сизенко Е. И. Экологическая безопасность технологий комплексной переработки сельхозсырья для создания продуктов повышенной пищевой ценности / Пища. Экология. Человек: Доклады Четвертой международной научно-практической конференции. - М.: МГУПБ. -2011. -С. 112-116.

36. Смирнов А. М., Туник А. Н. Светличкин В. В. Определение видовой принадлежности мяса и мясопродуктов. Ветеринария. 2009

37. Стандартизація и сертифікація : учеб. пособие / В. Б. Дулепова, И. И. Зырянова, Л. Н. Пфаненштиль, И. А. Соколова; под. ред. Л. Н. Пфаненштиль; Краснояр. гос. техн. ун-т. - Красноярск: ИПЦ КГТУ, 2014. - 129 с

38. Гішкіна Н. М., Дубська Х. Л. Ветеринарно-санітарна експертиза м'ясного фаршу різних товаровиробників. Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2015. Т. 3, № 4. С. 113–116. URL: https://cgitrbis-nbu.gov.ua/cgitrbis_64.exe...2015_3_4.. № 5. С. 5–54.

39. Чепурной И.П. Идентификация и фальсификация продовольственных товаров. М.: Дашков и К°, 2012. - 460 с.

40. Чернуха И. М. Модификация низкосортного сырья ферментами животного происхождения при производстве мясопродуктов / И. М. Чернуха, Л. Б. Сметанина, Т. Г. Кузнецова // *Technologija mesa Meat technology*. - 2010.-№ 5-6. - с. 271-276.

41. Якубчак О.М. Методи визначення якості м'яса. // *Ветеринарна медицина України*.-2003.-№12.-С.27-29.

42. Barros Márcia de Aguiar Ferreira, Nero Luís Augusto, Monteiro Alexandre Amorim, Beloti Vanerli. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. *Food Science and Technology*. 2007. Vol. 27 (4). P. 856–862. URL: <https://doi:10.1590/S0101-20612007000400028>.

43. Bogatko N. *Listeria monocytogenes* – microbiological criteria indicate the acceptability of safety meat raws. XIX Middle-European Buiatrics Congress «Veterinary medicine in the health of ruminants» (22–25 May). *Біологія тварин*. Львів. 2019. Т.21, №2. Р. 85. URL:http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_2_29.

44. Bogatko, N. (2019). The effects of falsification of meat of slaughtered animals with sodium hydrocarbonate on their quality and safety. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. Series: Veterinary Sciences, 21(95), 66-74

45. Doosti A., Ghasemi D. P., Rahimi E. J. Technol Molecular assay to fraud identification of meat products. *Food Sciences Technology*. 2014. Vol. 51 (1). P. 148–152. URL: <http://doi:10.1007/s13197-011-0456-3>.

46. Kenneth W. McMillin, Advancements in meat packaging, *Meat Science*, Volume 132, 2017, Pages 153-162.

47. Seryogin, I. G., Nikitchenko, V. E., & Rystsova, E. O. (2015). Identification of meat and other products of slaughter animals at veterinary-sanitary examination. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*, (4), 94-100.

48. Stefania Quintavalla, Loredana Vicini, Antimicrobial food packaging in meat industry, *Meat Science*, Volume 62, Issue 3, 2002, Pages 373-380.

49. Strategies to improve meat quality and safety / A. Sevi, R. Marino, J. M. Lorenzo [et al.] // *The Scientific World Journal*. – 2016. – Article ID 9523621. doi: 10.1155/2016/9523621.

6. ДОДАТКИ

Додаток 1 А

CONGEN

SureFood® ANIMAL ID 4plex Beef/Horse/Pork+IAAC

Art. No. S6126
100 rxn
User Manual



February 2019

SureFood® ANIMAL ID 4plex Beef/Horse/Pork+IAAC
(100 React.)

Art. No. S6126

February 2019

1 General Information

1.1 Description

The test detects beef (*Bos taurus*), horse (*Equus caballus*) and pork (*Sus scrofa*) DNA. Each reaction contains an internal amplification control and an internal detection assay for vertebrates DNA (IAAC). The real-time PCR assay can be used with established real-time PCR instruments, equipped for detection of four fluorescence emissions at 522 nm, 533 nm, 610 nm and 670 nm (FAM, VIC, ROX and Cy5) at the same time. The technical validation of instruments was performed on Roche LightCycler® 480 II/Roche cobas z 480 Analyzer¹, Applied Biosystems 7500, Bio-Rad CFX96, BMS MIC, Agilent Mx3005P and Agilent AriaDx.

1.2 Limit of Detection

The SureFood® ANIMAL ID 4plex Beef/Horse/Pork+IAAC real-time PCR is developed so that bovine DNA is detectable from 0.1 %, horse DNA from 0.1 % and pig DNA from 0.5 % relative amount in a muscle meat mixture. The assay limit of detection depends on sample matrix, processing grade, DNA preparation and DNA content.

Note: In mixed samples, inconsistent mixing ratios (e.g. 99.9 % beef and 0.1 % horse) may cause a loss of sensitivity in the low concentration channel.

1.3 DNA-preparation

For DNA-preparation the use of SureFood® PREP Basic and for highly processed food and feed the use of SureFood® PREP Advanced is recommended.

1.4 Kit components and storage

Kit Code	Reagent	Amount	Lid Color
1	Reaction Mix	2 x 1100 µl	Yellow
2	Taq Polymerase	1 x 11 µl	Red
3	Positive Control	1 x 200 µl	Light Blue

Store all reagents at -20°C and protected from light.

1.5 Additionally required equipment and materials

- DNA-Extraction kit (e.g. SureFood® PREP Basic or SureFood® PREP Advanced)
- real-time PCR instrument with four detection channels (522 nm, 533 nm, 610 nm and 670 nm)
- real-time PCR consumable (plates, tubes, capillaries, foils, caps) pipettes with filter tips
- unpowdered disposable gloves
- Vortex mixer
- micro centrifuge with a rotor for the reaction tubes

¹ note: For the use of the Roche LightCycler® 480 II a Color Compensation is necessary. The SureCC Color Compensation Kit 1 (Art. No. F4009) must be used for the color compensation of such devices.

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

page 6/9

Додаток 1 Б

SureFood® ANIMAL ID 4plex Beef/Horse/Pork+IAAC
(100 React.)

Art. No. S6126

February 2019

1.6 Setup

	Blockcytler/MIC/RIDA [®] CYCLER/LightCycler® 480
Initial Denaturation (HOLD)	5 min, 95°C
Cycles	35
Denaturation	15 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/Ramp Rate	Maximum
Fluorescence Detection Setup (exemplary)	Detection: End of Extension Phase
Detection System beef:	Various devices: FAM-channel, Quencher: BHQ LightCycler 480 II: 465 nm - 510 nm
Detection System vertebrates and internal amplification control (IAAC):	Various devices: VIC/HEX-channel, Quencher: BHQ LightCycler 480 II: 533 nm - 580 nm
Detection System horse:	Various devices: ROX-channel, Quencher: BHQ LightCycler 480 II: 533 nm - 610 nm
Detection System pork:	Various devices: Cy5-channel, Quencher: BHQ LightCycler 480 II: 618 nm - 660 nm

Detailed information on the setup of several real-time PCR devices is available at the CONGEN homepage:
<http://www.congen.de/en/company/downloads>

2 Qualitative Analysis

2.1 Protocol

2.1.1 Preparation of the master-mix

Calculate the total number of reactions needed (samples and control reactions). Recommended control reactions: negative control, positive control and extraction control. The master-mix includes an internal amplification control (inhibition control) for each reaction.

It is also recommended to prepare the master-mix with 10 % additional volume in order to compensate reagent loss. Allow the reagents to thaw, mix by vortexing and centrifuge before opening and use. The tube of the Taq Polymerase should be kept at -20°C and not be mixed by vortexing.

Example for the calculation and preparation of 10 reactions:

Components for master-mix	Amount per reaction	10 reactions (with 10% excess)
Reaction Mix	19.9 µl	218.9 µl
Taq Polymerase	0.1 µl	1.1 µl
Total volume	20 µl	220 µl

Mix each master-mix well and centrifuge shortly before use.

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

page 7/9

SureFood® ANIMAL ID 4plex Beef/Horse/Pork+IAAC
(100 React.)

Art. No. S6126

February 2019

2.1.2 Preparation of the real-time PCR-mix

- Pipette 20 µl of the master-mix into appropriate tubes/wells or capillaries.
- Close the tube of the negative control (the negative control is ready for PCR without any addition).
- Pipette 5 µl of sample DNA into the designated tubes/wells or capillaries.
- Pipette 5 µl of the Positive Control into the designated tubes/wells or capillaries.
- Centrifuge all tubes/wells or capillaries shortly at low speed.
- Place tubes/wells or capillaries into the real-time PCR instrument and start the run according to the setup.

2.2 Interpretation of results

The evaluation has to be made according to the usual analysis program recommended by the real-time PCR instrument manufacturer.

The results of the control reactions have to be correct.

Beef DNA is detected in the FAM-channel, horse DNA is detected in the ROX-channel and pork DNA is detected in the Cy5-channel. In the VIC-channel it is possible to detect vertebrates DNA in the sample as well as the amplification control (IAC) in a sample with no vertebrates DNA inside.

A sample is stated **positive** for the respective parameter (beef/horse/pork), if the sample DNA shows amplification in the respective channel. A sample is stated **negative** for the respective parameter (beef/horse/pork), if the sample DNA shows no amplification in the respective channel and the internal signal (VIC-channel) of the sample is **positive** (see also table below).

result in the respective channel				result
FAM - channel beef	VIC/HEX - channel ¹ vertebrates + IAC	ROX - channel horse	Cy5 - channel pork	
positive	positive	negative	negative	beef DNA detected
negative	positive	negative	negative	vertebrates DNA ² detected
negative	positive	positive	negative	horse DNA detected
negative	positive	negative	positive	pork DNA detected
negative	negative	negative	negative	Invalid ³

¹ If the signal of the internal control (VIC-channel) of the sample DNA is detected significantly before the signal of the negative control (master-mix without DNA) the sample contains vertebrates DNA.

² Is the C_p-value of the internal control (VIC-channel) in the range of the negative control the sample contains no PCR-inhibiting substances but only a low amount or no vertebrates DNA.

³ In the case of a negative result in all channels including the VIC-channel the sample contains PCR inhibiting substances. Under these circumstances an evaluation of the sample is not possible. DNA isolation and purification for the sample need to be improved.

Notes: If the sample contains more than one animal species the DNA mixture can have a competitive influence on the absolute fluorescence. The lower the concentration of the determined DNA is in a mixture of animal DNAs the lower is the fluorescence level of the amplification curve.

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

page 8/9

