



Ministry of Agriculture
of the Republic of Azerbaijan



Executive power
of Ganja city



Azerbaijan State
Agricultural University

INNOVATIVE DEVELOPMENT OF AGRICULTURAL SCIENCE AND EDUCATION: WORLD EXPERIENCE AND CURRENT PRIORITIES

MATERIALS OF THE INTERNATIONAL SCIENTIFIC - PRACTICAL CONFERENCE



VOLUME I

DEDICATED TO THE ANNOUNCEMENT OF 2015 AS "THE
YEAR OF AGRICULTURE" IN THE REPUBLIC OF AZERBAIJAN

23-24 OCTOBER 2015
GANJA | AZERBAIJAN



**AQRAR ELMİN VƏ TƏHSİLİN İNNOVATİV İNKİŞAFI: DÜNYA
TƏCRÜBƏSİ VƏ MÜASİR PRIORİTETLƏR**

**2015-ci ilin Azərbaycan Respublikasında “Kənd təsərrüfatı ili” elan edilməsinə
həsr olunmuş beynəlxalq elmi – praktik konfransın materialları
23 – 24 oktyabr 2015-ci il, Gəncə, Azərbaycan**

**INNOVATIVE DEVELOPMENT OF AGRICULTURAL SCIENCE AND
EDUCATION: WORLD EXPERIENCE AND CURRENT PRIORITIES**

**Materials of the International Scientific Practical Conference,
Dedicated to the announcement of 2015 as “The Year of Agriculture” in
Azerbaijan, 23-24 october 2015, Ganja, Azerbaijan**

**ИННОВАЦИОННОЕ РАЗВИТИЕ АГРАРНОЙ НАУКИ И
ОБРАЗОВАНИЯ: МИРОВАЯ ПРАКТИКА И СОВРЕМЕННЫЕ
ПРИОРИТЕТЫ**

**Материалы международной научно-практической конференции,
посвященной объявленному в 2015 г. «Году сельского хозяйства» в
Азербайджане**

23 -24 октября 2015 г., Гянджа, Азербайджан

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗОВ В ЛАБОРАТОРИИ МОЛОКА ВО ФРАНЦИИ

к. вет. н., доцент, докторант Зажарская Надежда Николаевна
Сумский национальный аграрный университет, Украина
E-mail: zzharskayan@gmail.com

ORGANIZATION OF WORK AND ANALYSIS AT THE MILK LABORATORY IN FRANCE

k. vet. n., Associate Professor, PhD Zzharskaya Nadezhda Nikolaevna
Sumy National Agrarian University, Ukraine

Аннотация. Проанализирована организация работы и проведение анализов в лаборатории молока (LILCO) города Сюржер, Франция. LILCO гарантирует объективные результаты анализов молока для фермеров и молокоперерабатывающих предприятий. На основании результатов анализов молока лаборатория формирует цену, которую перерабатывающее предприятие заплатит фермеру. В LILCO анализируется до 16 тысяч проб молока в день. Для контроля работы очень дорогих и современных приборов применяется много методов проверки точности анализов, в том числе: повторяемость и воспроизводимость, трасаж, референс-методы. Молоко исследуют на возбудителей паразитарных и инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: лабораторная практика, оплата молока, анализ молока, обеспечение качества анализов

Abstract. The organization of work and analysis in the milk laboratory (LILCO) in Surgères, France was analyzed. LILCO guarantees the objective impartiality test results of milk for farmers and dairy companies. Based on the results of milk analysis laboratory forms the price, that the dairy company has to pay to the farmer. To 16 thousand samples of milk per day is analyzed in the laboratory. Many methods of verification of the accuracy of analyzes, including repeatability and reproducibility, trackage, reference methods used to control the operation of very expensive and modern apparatuses. Milk is tested for parasitic and infectious diseases.

Key words: laboratory practice, payment of milk, milk analysis, quality assurance testing

Исследования, сбор данных и анализ проведены во время профессиональной стажировки (сентябрь-октябрь 2014 года) в Межпрофессиональной лаборатории молока центра и запада (LILCO – Laboratoire Interprofessionnel Laitier du Centre Ouest), г. Сюржер, Франция.

LILCO – одна из 16 профессиональных лабораторий по контролю качества молока во Франции. LILCO обслуживает приблизительно 3500 фермеров, содержащих коров и 1700 фермеров, занимающихся козоводством в 10 областях, 30 районах, 6 молочных бассейнах. Лаборатория LILCO создана в 1970 году в Центральной ассоциации молочных кооперативов Пуату (куда входят фермеры и перерабатывающие предприятия) для выполнения закона Годефроя (3.01.1969) про оплату молока по химическому и бактериологическому составу. Во Франции не существует государственных стандартов на молоко. По каждому критерию установлен требуемый показатель [1, 2]. Если результаты анализа молока удовлетворяют требованиям или лучше их, тогда молокоперерабатывающее предприятие платит фермеру установленную в это время цену за молоко. Если показатели хуже заданных нормативов, тогда цена снижается – фермер «штрафуется» (таблицы 1, 2).

Цена на коровье молоко меняется в зависимости от сезона и экономических факторов. Средняя цена коровьего молока 385 €/1000 литров, в октябре 2014 года была 360 евро. Козье молоко во Франции почти в 2 раза дороже, чем коровье – 687 €/1000 литров.

Таблица 1

Условия оплаты молока коров в зависимости от качества

Критерий анализа молока, количество анализов, единицы измерения	Классификация по среднему арифметическому между результатами	Оплата или штраф, евро
Микробная обсемененность, 2 анализа/месяц, тыс./мл	Реф. < 50	Высшая цена (референс-молоко)
	A 51-100	-9,147€/1000 л
	B > 100	-24,392€/1000 л
Количество соматических клеток, 3 анализа/месяц, тыс./мл	Реф. ≤ 250	Высшая цена (референс-молоко)
	A 251-300	-3,049 €/1000 л
	B 301-400	-9,147€/1000 л
	C > 400	-18,294€/1000 л
Количество маслянокислых бактерий (кlostридий), 18 анализов/год, спор/л	Реф. ≤ 1000	Высшая цена (референс-молоко)
	A 1001-2000	-3,049 €/1000 л
	B 2001-5000	-6,097€/1000 л
	C > 5000	-12,195€/1000 л
Липолиз, минимум 3 анализа/месяц, мг эквивалент/100 г жира	Реф. ≤ 0,89	Высшая цена (референс-молоко)
	A > 0,89	-3,049 €/1000 л
Ингибиторы, 3 анализа/месяц или в случае позитивного анализа цистерны	негативный	Высшая цена (референс-молоко)
	позитивный	Штраф (130% стоимости всего молока за день «положительной пробы»)
Криоскопия, 3 анализа/месяц, °C	≤ -0,502	Высшая цена (референс-молоко)
	> -0,502	Штраф (76,225€/1000 л всего объема молока доставленного за день)

За работу лаборатории фермер платит в зависимости от объема производимого молока: 0.6 € за 1000 литров коровьего и 1.6 € за 1000 литров козьего.

В комплекс анализов коровьего молока (3 пробы в месяц) входит определение таких показателей: жир, белок, соматические клетки, криоскопия, липолиз, микробная обсемененность (2 р/месяц), ингибиторы, маслянокислые бактерии (18 анализов в год). Комплекс исследований козьего молока (3 пробы в месяц) включает следующие показатели: жир, белок, соматические клетки, криоскопию, микробную обсемененность, ингибиторы, IgG, маслянокислые бактерии (18 анализов в год).

Больше всего проб на химический анализ и количество соматических клеток поставляет «Молочный контроль» (частная организация), заключающая с фермерами долгосрочные договоры на обслуживание. Они отбирают индивидуальные пробы молока от животных, проводят мониторинг жира, белка, соматических клеток, дают рекомендации по формированию стада. Анализ индивидуальных проб от животных стоит 0.28€ от козы или коровы. Минимальные требования по содержанию жира в коровьем молоке 3,8%, белка 3,2%, в козьем молоке – жира 3,3%, белка 2,8%.

Кроме перечисленных анализов в лаборатории молоко исследуют на колиформы, псевдомоны, стафилококки, Escherichia coli, стронгилятоз, гиподерматоз, фасциолез, бруцеллез, инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота, вирусную диарею крупного рогатого скота, лейкоз, паратуберкулез. На возбудителей заболеваний молоко исследуют методом ELISA, хотя при положительном результате диагноз не является окончательным, информация передается в ветеринарную службу.

Официальные часы работы LILCO с 6.00 до 20.00, но водители лаборатории могут и ночью приехать, и поставить пробы с сопроводительной в холодильник. После всех

проведенных анализов за день пробы хранятся еще 48 часов в холодильнике для контроля, потом выливаются.

В лаборатории действует электронная система прихода и ухода персонала. Вся лаборатория имеет единую сеть, поэтому на каждом этапе исследований информация о номере корзины и какие исследования нужно сделать, считывается с чипа. После анализов данные попадают в сеть, фермеры и переработчики молока могут по своим кодам зайти и посмотреть результаты анализов.

Таблица 2

Условия оплаты молока коз в зависимости от качества

Критерий анализа молока, количество анализов, единицы измерения	Классификация по среднему арифметическому между результатами	Оплата или штраф, евро
Микробная обсемененность, 3 анализа/месяц, тыс./мл	Реф. < 50	Высшая цена (референс-молоко)
	A 51-100	-9,147€/1000 л
	B 101-200	-60,980€/1000 л
	C > 200	-152,449€/1000 л
Количество соматических клеток, 3 анализа/месяц, тыс./мл	Реф. ≤ 1000	Высшая цена (референс-молоко)
	A 1001-1250	-
	B 1251-1500	-3,049 €/1000 л
	C 1501-2000	-12,196€/1000 л
	D 2001-3000	-21,343€/1000 л
Иммуноглобулины G1, 1-3 анализов/месяц, г/л	Реф. ≤ 0,6	Высшая цена (референс-молоко)
	A 0,6-0,8	-
	B 0,8-1	-30,490€/1000 л
	C > 1	-152,449€/1000 л
Липолиз, 1 анализ/месяц с сентября по март, мг эквивалент/100 г жира	Реф. ≤ 1,77	Высшая цена (референс-молоко)
	A > 1,77	-15,245 €/1000 л
Ингибиторы, 3 анализа/месяц или в случае позитивного анализа цистерны	негативный	Высшая цена (референс-молоко)
	позитивный – первый раз за год	-24,392€/1000 л
	позитивный – второй раз за год	-48,784€/1000 л
	позитивный – третий раз за год	-228,674€/1000 л

В лаборатории почти во всех помещениях, в каждом термостате, холодильнике, водяной бане контролируется температура, ее показатели тоже можно посмотреть в сети. При всех анализах, где нужно засекают время, всегда используется хронометр с сигналом, т.к. сотрудник может быть занят другими действиями и отвлечься. После окончания работы каждый сотрудник проводит чистку и мойку оборудования, посуды, приводит рабочее место в порядок. В LILCO используют смену активности для персонала (сотрудник, выполняющий один анализ, через несколько дней выполняет другой). Качество и количество проведенных анализов, дорогостоящее оборудование лаборатории плохо соотносится с оплатой труда сотрудников. Зарплата – небольшая – 1200 евро у простого персонала. У ответственного (в подчинении у которого 1-2 сотрудника), имеющего большой стаж работы, зарплата 1500 евро. В лаборатории нет ни одного врача ветеринарной медицины. Большинство сотрудников после лицеза закончили «Молочную школу», где учатся 2 года как раз для того, чтобы делать анализы молока.

В лаборатории не определяют плотность молока, разбавление молока показывает точка замерзания, определяемая на криоскопе. Кислотность молока тоже не определяется. На всех фермах обязательны танки-холодильники, температура молока не больше 5 градусов. Молоко температурой выше 6 градусов не принимается на молокоперерабатывающие предприятия во Франции. Все молоковозы в стране оборудованы системой забора проб, и, каждый раз при перекачивании молока из танка-охладителя фермера в цистерну, в 2

пластиковых флакона (60 мл) автоматически набираются пробы «капельным методом». Шоферы привозят уже маркированные пробы от фермеров в сумках-холодильниках на молокозаводы. Водители лаборатории собирают пробы с молокоперерабатывающих предприятий. Каждый производитель молока проверяется 3 раза в месяц, остальные пробы просто выливаются в лаборатории.

На регистрации с 6 утра вводят коды привезенных проб в сеть. Все флаконы распределяются по металлическим корзинам, максимум 60 проб в каждой. В этой корзине проба имеет свое место и уже в ней «двигается» по лаборатории, проходя все необходимые анализы. Корзинам с пробами присваивают номера, и в сеть вводятся анализы, которые нужно сделать с той или иной корзиной. В каждой корзине существует контрольная проба, она служит для проверки правильности места проб.

Номера корзин при исследованиях считываются сканером. Сначала роботом-дистрибьютером MultiPROBE молоко распределяется из флаконов в ячейки микропланшетов для определения ингибиторов, возбудителей болезней. Микропланшеты также идентифицируются (на них наклеиваются коды).

Выявляют антибиотики в молоке с помощью Delvo-test и Charm-test. Если получен положительный результат в первом тесте, дальше делается подтверждение в Charm-test: сначала проверяется на наличие беталактаминов и тетрациклинов, потом – на неомицин и стрептомицин, и третье – на сульфаниламиды. Если на каком-то этапе получен положительный ответ, то дальше подтверждение не проводят. Если подтверждение было, то посылается факс о позитивном анализе на антибиотики на молокоперерабатывающее предприятие (секретарю) и дублируется звонком на автоответчик в конце дня.

Определение иммуноглобулинов G в козьем молоке проводится с помощью пластин фирмы IDBiotech методом преципитации.

В молоке определяют количество спор *Clostridia* методом посева в жидкую среду и определения наиболее вероятного числа. В методику входит автоматический розлив жидкой питательной среды, у каждой новой порции которой измеряется pH. Бульон готовят в передвижном автоклаве, внутреннюю часть которого после каждой порции моют. Автоклав после приготовления каждой порции питательной среды «выдает чек», где указаны время, температура. Эту бумажную ленту прикрепляют к листу анализа, где указаны коды исследованных корзин, время постановки в водяную баню.

Микробную обсемененность молока определяют эпифлюоресцентным микроскопированием (FOSS Integrated Milk Testung VactoScanFC), стоимость прибора приблизительно 200 000 евро. Таких приборов в лаборатории два, как правило, работают оба одновременно. После тщательного перемешивания пробы молоко набирается в аппарат отборником, ядра бактерий окрашиваются флюоресцентным энзимом, затем происходит избавление пробы от жира, белка, соматических клеток, и после этого подсчитываются бактерии методом лазерной цитометрии. Потом аппарат пересчитывает количество индивидуальных клеток на число колоний (колоний меньше). Проба анализируется 8 минут (от забора молока из флакона до появления результата на экране компьютера).

Для контроля работы очень дорогих и современных машин применяется множество различных методов проверки точности анализов. Работа на Vactoscan FOSS начинается с того, что 10 проб молока анализируют дважды на каждой машине, следят, чтобы были приблизительно одинаковые результаты. Перед каждой новой корзиной с пробами сканером считывается код с этикетки корзины, вводится количество проб, вид животного. В конце анализа каждой корзины оператор ставит для контроля правильной работы машины один флакон с мыльной дистиллированной водой (результат должен быть до 10 колоний) и флакон с заготовленной взвесью микробов (должно быть от 80 до 140 колоний). Взвесь микроорганизмов заготавливается 1 раз в 2 недели, разливается по флаконам, замораживается. Один флакон бактериальной взвеси используется в один день, флакон с мыльной водой меняется через 2 прогона.

Также проводится еженедельный тест повторяемости между машинами Bactoscan. В конце работы берутся по 10 «отработанных» проб коровьего и козьего молока, в аппаратах выбирается программа тестирования. Пробы анализируются сначала на одной машине, потом – на второй. Отклонение результатов во время стажировки было до 2 % – при анализе козьего молока, до 1% – в анализе коровьего при допустимых 12 %.

Кроме вышесказанного, раз в месяц делается трасаж (проверка исправности работы отборника – не остается ли молоко с предыдущей пробы и не переносится ли в следующую). Готовятся 20 проб одного и того же молока и 20 проб мыльной дистиллированной воды. Флаконы подаются в машину в таком порядке: 2 пробы молока – 2 пробы воды – 2 молока – 2 воды и т.д. По результатам анализируется, не много ли микроорганизмов остается в аппарате при анализе пробы молока и примешивается при анализе воды. Существуют пределы допустимого. Поэтому, если при ежедневных анализах бактериологического загрязнения молока в корзине оказывается проба с обсемененностью больше 500 000 КОЕ/мл, что видно на мониторе только через 8 минут, то следующая за ней проба переделывается еще раз в конце корзины и учитывается, конечно, второй результат, т.к. первый, как правило, завышен.

Также для верификации прибора Bactoscan делается бактериологический посев молока на питательные среды раз в 5-7 дней. Выбираются несколько проб молока, которые при анализе на Bactoscan показали низкую, среднюю и высокую степень бактериальной обсемененности, проводится посев чашечным методом, термостатирование, учет роста колоний. Потом данные учета посевов вводятся в программу машины, идет корректировка работы (Bactoscan использует сравнение своих данных и результаты учета роста колоний за 6 месяцев). Обычно наблюдается небольшое расхождение результатов машины и чашечного метода при малом обсеменении молока микроорганизмами и при очень большом, а среднее, как правило, совпадает с результатом бактериологических посевов.

Бактериологический посев проводится без бокса. Предварительно на столе зажигается газовая горелка, высокое пламя должно продержаться 5 минут, и после этого пространство 25 см² вокруг горелки считается стерильным. Сотрудник работает в маске и стерильных перчатках. Все чашки Петри – пластиковые одноразовые, большинство – с готовыми питательными средами.

Кроме референс-метода для Bactoscan чашечный метод бактериологического исследования в лаборатории используется нечасто (например, выявление псевдомон в молоке). Чаще всего качественный состав микрофлоры молока определяется с помощью системы Тетро. Эта система упрощает традиционный метод, исключая применения чашек Петри и разведение в пробирках, но требует специального оборудования. С помощью Тетро в лаборатории определяют колиформы, стафилококки, E.coli в молоке.

Весь химический анализ молока проводится с помощью инфракрасной спектроскопии на приборах FossomaticTM FC и MilkoScanTM FT+ (стоимость 250 000 евро). Таких машин в лаборатории 5, и еще есть роботы, позволяющие одному человеку обслуживать 2 машины одновременно. Одна смена сотрудников, выполняющих химический анализ, работает с 6 утра до 14 часов, другие – с 14 до 20.00. Химических анализов в день делают до 16000 проб, если машины не сбиваются. Прибор анализирует много показателей, но в результатах исследований для клиента дают только то, что его интересует: жир, белок, соматические клетки, точка замерзания, мочевины. Хотя фермер никогда не разбавляет молоко умышленно, иногда с помощью точки замерзания молока лаборатория указывает фермеру на появившуюся проблему (возможно, система промывки танка-охладителя не в порядке, и вода попадает в молоко).

Точность анализов приборов Fossomatic и MilkoScan тоже многократно контролируется. Из референс-лаборатории Сеса Lait ежемесячно присылается «гамма» – 10 проб с известными показателями химического состава молока. Эти пробы анализируются перед установлением параметров внутренней контрольной пробы. В лаборатории

заготавливают по 60 л контрольного коровьего и козьего молока с консервантом (по 1000 флаконов). Флаконы контрольных проб коровьего (синего цвета) и козьего (зеленого) молока хранятся в холодильнике и расходуются в течение 15 дней. Параметры этой внутренней контрольной пробы действуют 15 дней, они в распечатанном виде прикреплены к каждой машине. Во время работы внутренняя контрольная проба анализируется 3 раза в час для контроля работы машины, кроме того, что такая же контрольная проба присутствует в каждой корзине с флаконами.

Для проверки точности работы машины MilkoScan ежедневно делается референс-метод по жиру (центрифужный метод Гербера) и протеину (с амидо черным).

Прибор MilkoScan определяет также липолиз в коровьем молоке. Референс-метод (арбитражный) при этом – метод омыления меди, проводится с помощью кварцевых планшетов, уровень липолиза определяется на спектрофотометре. Уровень липолиза в козьем молоке анализируют только с марта по сентябрь и только референс-методом.

Референс-метод для температуры замерзания молока, показываемой прибором MilkoScan проводится на криоскопе. Если MilkoScan выдает завышенную температура замерзания (в молоке присутствует вода), то эта проба тестируется еще раз референс-методом на криоскопе. «Чек», выдаваемый криоскопом, прикрепляется к результатам анализа прибора MilkoScan, результат является окончательным.

С 1990 года лаборатория работает по GLP (Good Laboratory Practice). С 2011 аккредитована по ISO 17025, каждые 14-18 месяцев проводится повторная аккредитация. Лаборатория аккредитуется COFRAC (Comité français d'accréditation – Комитет аккредитации), обеспечение качества анализов и сами методики исследований предоставлены CNIEL (Centre national interprofessionnel de l'économie laitière – Национальный межпрофессиональный центр молочного хозяйства). Также LILCO тесно сотрудничает с референс-лабораторией Сеса Lait.

Вывод. Лаборатория LILCO со своим современным техническим оснащением, является важной составляющей отрасли молочного хозяйства региона Франции. LILCO гарантирует объективные беспристрастные результаты анализов молока, как для фермера, так и для молокоперерабатывающего предприятия. На основании результатов анализов молока лаборатория формирует цену, которую перерабатывающее предприятие заплатит фермеру. За снижение качества молока производитель получает пониженную оплату (штрафуется). Лаборатория анализирует до 16 тысяч проб молока в день. Для контроля работы очень дорогих и современных приборов используется много методов проверки точности анализов в том числе: повторяемость и воспроизводимость, трасаж, референс-методы. В лаборатории не определяют плотность и кислотность молока. Молоко исследуют на возбудителей паразитарных и инфекционных заболеваний, чего нет в лабораториях в «бывших социалистических» странах.

Литература

1. Décret n° 2012-1250 du 9 novembre 2012 relatif aux modalités de paiement du lait de vache, de brebis et de chèvre en fonction de sa composition et de sa qualité Journal officiel de le Republique Française. – 33 p.
2. Dispositif national de paiement du lait en fonction de sa composition et de sa qualité et gestion des paramètres sanitaires du lait / Ministère de l'agriculture de l'agroalimentaire et de la forêt. DGAL/SDSSA/2014-599. – 21.07.2014