

**Идентификация живых микроорганизмов в сырокопчёных колбасах с использованием флуоресцентного красителя CFDA**

**Научный руководитель – Пчелкина Виктория Александровна**

**Незлина Екатерина Леонидовна**

*Студент (магистр)*

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

*E-mail: e.nezlina@fnscps.ru*

Научный подход к исследованию структур различной пищевой продукции расширился настолько, что мы способны анализировать составляющие компоненты на многих уровнях, от макроскопического до биохимического. В том числе расширяется спектр методов обнаружения микроорганизмов, часто являющихся необходимым компонентом пищевого продукта. В мясной промышленности комбинации штаммов бактерий используются при изготовлении сырокопчёных и сыровяленых мясных изделиях, придавая им уникальный вкус и аромат [1]. Для оценки распределения и выживания стартовой микрофлоры в составе мясных продуктов необходимы быстрые и чувствительные методы, к которым относится флуоресцентная микроскопия [2].

Нашей целью была разработка экспресс-метода идентификации живой микрофлоры в сырокопчёных колбасах с использованием флуоресцентного красителя карбоксифлуоресцеина диацетата (CFDA), который ранее не применялся в анализе мясных продуктов [3].

Для проведения исследований изготавливали срезы образцов сырокопчёных колбас толщиной 17 мкм с использованием криостата «MIKROM-HM525», которые окрашивали рабочим раствором карбоксифлуоресцеин диацетата концентрацией 0,0005 мМ. Готовые препараты анализировали и фотографировали под флуоресцентным микроскопом «AxioImager A1» с подключенной галогеновой лампой (Osram HBO 100w/2). Окрашенные препараты смотрели при возбуждении синим светом (465-480 нм) и детекцией в зелёном (500-550 нм), в котором видна флуоресценция живых бактерий. Обработку изображений производили с применением компьютерной системы анализа изображений «AxioVision 4.7.1.0».

Было установлено, что флуоресцентный краситель CFDA подходит для окрашивания микрофлоры на замороженных срезах сырокопчёных колбас. На периферии батона живые микроорганизмы чаще всего распределены более равномерно, а в глубине – как диффузно, так и небольшими группами. Типичные фотографии приведены на рисунках 1 А и 1 Б соответственно (идентифицируемые микроорганизмы обозначены стрелками и кружками). По интенсивности свечения и количеству точек на срезе можно судить о количестве живых микроорганизмов в образце.

Таким образом, флуоресцентное окрашивание препаратов сырокопченых колбас красителем CFDA является эффективным и быстрым методом идентификации живых микроорганизмов в их структуре. Разработанный метод будет полезен при оценке жизнеспособности стартовых культур, используемых в мясной промышленности, а также определении свежести готовых мясных продуктов.

**Источники и литература**

- 1) Семенова, А.А. Роль стартовых культур в производстве сырокопченых и сыровяленых колбас // Все о мясе. 2012. No 2. С.13-19.

- 2) Mekhrengin M.V., Meshkovskii I.K., Kaftyreva L.A., Guryev V.I., Pogorelaya D.A. Fluorescent method of bacterial contamination control on meat surface // J Phys Conf Ser. 2018. No 3(1124). C.1-5.
- 3) Hoefel D., Grooby W. L., Monis P. T., Andrews S., Saint C. P. A comparative study of carboxyfluorescein diacetate and carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester as indicators of bacterial activity // J Microbiol Methods. 2003. No 3(52). C.379-388.

### Иллюстрации

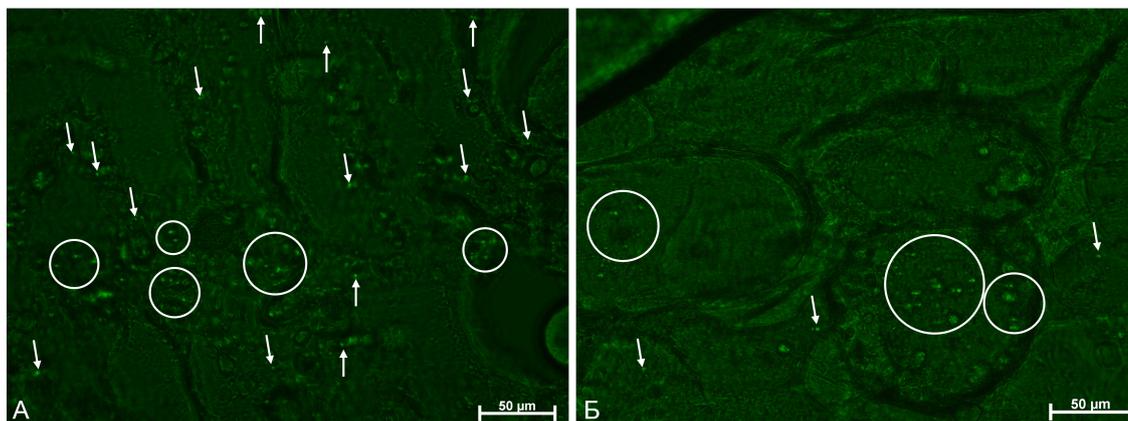


Рис. : Рисунок 1. Репрезентативная фотография флуоресценции живых микроорганизмов в образце сырокопчёной колбасы при окрашивании CFDA, А – периферия; Б – глубина.