

Микробиологическая и гистологическая оценка сырокопченых колбасных изделий

Машенцева Наталья Геннадьевна

*доктор технических наук, профессор, академик РАН
ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН*

Адрес: 109316, город Москва, ул. Талалихина, 26

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, д. 11

E-mail: natali-mng@yandex.ru

Чернуха Ирина Михайловна

доктор технических наук, профессор

ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН

Адрес: 109316, город Москва, ул. Талалихина, 26

E-mail: imcher@inbox.ru

Афанасьев Дмитрий Алексеевич

бакалавр

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, д. 11

E-mail: dmitr.afanasjew2010@yandex.ru

Ильина Лариса Александровна

*кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории
ООО «БИОТРОФ»*

Адрес: 196602, город Санкт-Петербург, город Пушкин, ул. Малиновская, д. 8. лит. А, пом. 7-Н

E-mail: ilina@biotrof.ru

Рязанова Татьяна Александровна

специалист

ООО Научно-испытательный центр «Черкизово»

Адрес: 143340, город Москва, д. Яковлевское, д. 14 Б.

E-mail: ryazanowa.tan@yandex.ru

Романова Валентина Александровна

магистр

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, д. 11

E-mail: bwal1307@rambler.ru

Кузнецова Татьяна Георгиевна

доктор ветеринарных наук, доцент

ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН

Адрес: 109316, город Москва, ул. Талалихина, 26

E-mail: labsens@mail.ru

Одной из приоритетных задач является обеспечение микробиологической безопасности пищевых продуктов, решение которой направлено на охрану здоровья населения. В последнее время эта проблема приобретает особую актуальность в связи с увеличением числа заболеваний, передающихся алиментарным путем. Между тем, молекулярно-генетические методы исследования, для которых характерны технологическая новизна, высокая инвестиционная стоимость и отсутствие официально одобренных регламентов и инструкций, не

получили еще достаточно широкого распространения в пищевой микробиологии.

Данная статья посвящена изучению качественно новых подходов для оценки микробного разнообразия. Наиболее востребованными в отношении микробиологической безопасности мясного сырья являются методы ПЦР-РВ, MALDI и T-RFLP анализ. Также необходимым является исследование микроструктуры колбасных изделий, поскольку на потребительский рынок поступает большое количество разнообразных мясных продуктов, которым требуется тщательный и быстрый контроль качества и соответствия требованиям Государственных стандартов. Гистологический анализ не требует сложного оборудования и позволяет достаточно быстро получить данные о качестве и реальном составе большинства видов мясопродуктов.

Для проведения исследования были взяты 3 образца сырокопченой колбасы - БСК, СКК, СКХХ. Анализ полученных данных показал, что по микроструктурным показателям образец СКХХ характеризуется большей взаимосвязанностью структурных элементов фарша, более плотной их компоновкой, более низкой порозностью (пористостью), которая определяется наличием мелких вакуолей, пронизывающих мелкозернистую белковую массу, отсутствием щелевидных пространств и более тонким уплотненным поверхностным слоем. Используемые молекулярно-генетические методы T-RFLP-анализ, ПЦР-РВ и MALDI позволили выявить, что микрофлору сырокопченых колбас составляли безопасные и некультивируемые бактерии. Патогенные микроорганизмы выявлены не были.

Ключевые слова: сырокопченые колбасы, бактериальные композиции, стартовые культуры, микрофлора, ПЦР-РВ, T-RFLP, MALDI, гистологический анализ

Обеспечение микробиологической безопасности пищевых продуктов является одной из приоритетных задач, решение которой направлено на охрану здоровья населения. Во всем мире эта проблема приобретает особую актуальность в связи с увеличением числа заболеваний, передающихся алиментарным путем. Между тем, молекулярно-генетические методы исследования, для которых характерны технологическая новизна, высокая инвестиционная стоимость и отсутствие официально одобренных регламентов и инструкций, не получили еще достаточно широкого распространения в пищевой микробиологии (Ефимочкина, Шевелёва, 2010).

До недавнего времени для оценки микрофлоры мясных продуктов специалисты использовали классические микробиологические методы – выделение и культивирование микроорганизмов на селективных питательных средах. Это позволяло выявить не более 1–5 % от общего количества бактерий, поскольку в состав микрофлоры продуктов входит множество некультивируемых форм микроорганизмов, которые не проявляют метаболической активности на питательных средах. Современные методы исследований показали, что для оценки микробного разнообразия необходимы качественно новые подходы (Bhatia, Choi, Kan, Kim, Yang, 2018).

Наиболее востребованными в отношении микробиологической безопасности мясного сырья являются методы ПЦР-РВ, MALDI и T-RFLP анализ.

ПЦР в реальном времени – метод, который позволяет провести количественную оценку содержания микроорганизмов в мясном продукте (Колотвина, 2012; Колотвина, Машенцева, Титов,

Митасева, 2011).

T-RFLP – молекулярно-генетический метод определения микробиологической картины, основан на анализе вариабельности консервативных участков генома микроорганизмов (Нгуен, Машенцева, Лаптев, Никонов, Ильина, Нагорнова, 2013).

Идентификация микроорганизма с помощью MALDI Biotyper – современный, быстрый и рентабельный метод, реализованный на базе масс-спектрометров Microflex или Autoflex (Janßen, Eisenbach, Ehrmann, Vogel, 2018; Методические указания «Идентификация микроорганизмов...», 2011).

Также необходимым является исследование микроструктуры колбасных изделий, поскольку на потребительский рынок поступает большое количество разнообразных мясных продуктов, которым требуется тщательный и быстрый контроль качества и соответствия требованиям Государственных стандартов. Метод гистологического анализа не требует сложного оборудования и позволяет достаточно быстро получить данные о качестве и реальном составе большинства видов мясопродуктов.

Материалы и методы

Сырокопченые колбасы, в состав которых входят говядина, конина, жир говяжий, соевые гранулы и пряности, были выработаны по ТУ 9213-928-00419779-07 в Московской области.

Характеристика образцов:

- БСК – колбаса, изготовленная без стартовых культур;
- СКК – колбаса, изготовленная с композицией стартовых культур на основе штаммов *Lactobacillus sakei* 104 (B-8906), *Pediococcus pentosaceus* 28 (B-8888) и *Staphylococcus carnosus* 108 (B-8953) из коллекции ФГБОУ ВО МГУПП;
- СКХХ – колбаса, изготовленная со стартовыми культурами Bactoform SM 194 Chr. Hansen – *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*, *Lactobacillus sakei* и *Debaryomyces hansenii*.

Результаты и их обсуждение

Для исследуемых образцов были получены T-RFLP-граммы, отражающие структуру бактериального сообщества. Результаты представлены на Рисунках 1 и 2.

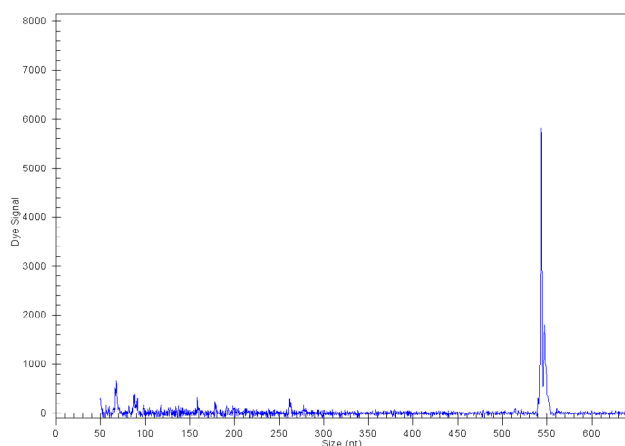


Рисунок 1. T-RFLP-грамма образца сырокопченой колбасы, изготовленной с разработанной бактериальной композицией.

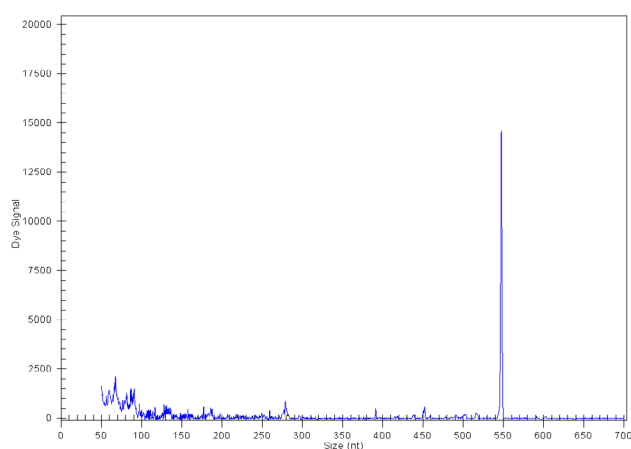


Рисунок 2. T-RFLP-грамма образца сырокопченой колбасы, изготовленной с бакпрепаратом Bactoform SM 194 Chr. Hansen.

В результате проведения T-RFLP анализа установлено, что во всех образцах преобладают лактобактерии различных видов. В Таблице 1 представлено количество молочнокислых микроорганизмов и некультивируемой микрофлоры.

При использовании метода T-RFLP максимальное количество лактобактерий выявлено в образце СКК – 69,59%. В образце БСК 66,4% и 57,9% в СКХХ, погрешность определения составляет не более 5%. Необходимо отметить, что ни в одном из образцов не обнаружено патогенных или санитарно-показательных микроорганизмов.

Таблица 1
Состав бактериального сообщества образцов колбас, %

Пик, нм	Микроорганизм	Образец		
		БСК	СКК	СКХХ
Безопасная микрофлора				
Лактобактерии				
540	<i>Lactobacillus</i> sp.	н.п.д.о.*	2,2	н.п.д.о.
543	<i>Lactobacillus</i> sp.	66,4	48,81	52,74
547	<i>Pediococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp.	н.п.д.о.	18,58	5,16
Некультивируемые бактерии				
49	Uncultured bacterium	4,59	н.п.д.о.	н.п.д.о.
50	Uncultured bacterium	н.п.д.о.	н.п.д.о.	6,53
66	Uncultured bacterium	6,18	5,1	6,96
68	Uncultured bacterium	12,01	8,17	7,97
69	Uncultured bacterium	н.п.д.о.	н.п.д.о.	5,69
82	Uncultured bacterium	н.п.д.о.	н.п.д.о.	4,81
90	Uncultured bacterium	5,29	н.п.д.о.	4,62
91	Uncultured bacterium	5,53	н.п.д.о.	5,52
261	Uncultured bacterium	н.п.д.о.	3,09	н.п.д.о.
549	Uncultured bacterium	н.п.д.о.	8,08	н.п.д.о.
551	Uncultured bacterium	н.п.д.о.	5,97	н.п.д.о.

* н.п.д.о. – ниже предела достоверного определения

Результаты по определению общего количества лактобактерий и микроорганизмов, входящих в состав бактериальных композиций, методом ПЦР-РВ, представлены в Таблице 2.

Таблица 2
Количество молочнокислых микроорганизмов и стафилококков (КОЕ/г) в образцах сырокопченых колбас

Определяемые показатели	БСК	СКК	СКХХ
Молочнокислые бактерии	$1 \cdot 10^9$	$1 \cdot 10^9$	$2 \cdot 10^9$
<i>Staphylococcus</i> spp.	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$

Из Таблицы 2 видно, что количество молочнокислых микроорганизмов во всех образцах было практически одинаковым. Большое количество молочнокислых микроорганизмов в образце БСК, обнаруженных методами Т-RFLP и ПЦР-РВ, объясняется развитием спонтанной молочнокислой микрофлоры, не всегда гомоферментативной, негативно влияющей на качество ферментированных мясных продуктов.

Также были обнаружены стафилококки, впоследствии идентифицированные до вида.

При определении в исследуемых образцах методом ПЦР-РВ непосредственно микроорганизмов, входящих в состав используемых бактериальных композиций, в опытных образцах были выявлены бактерии видов *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus* spp.; в образце СКХХ – на грани обнаружения *Staphylococcus carnosus*.

При использовании метода MALDI были идентифицированы следующие виды бактерий:

БСК: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus saprophyticus*.

СКК: *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus hirae*.

СКХХ: *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Enterococcus faecium*.

На Рисунке 3 представлены результаты идентификации микроорганизмов, входящих в состав бактериальных композиций, с использованием программы MALDI Biotyper.

Данные, полученные методом MALDI, подтверждают данные, полученные методами ПЦР-РВ и Т-RFLP: в продуктах в большинстве своем были выявлены молочнокислые микроорганизмы

и энтерококки, которые также относятся к порядку *Lactobacillales*. Стафилококки были представлены видами *Staphylococcus carnosus* и *Staphylococcus saprophyticus*.

В образце СКК вид *Staphylococcus carnosus* не был выявлен в готовом мясном продукте ни методом ПЦР-РВ, ни методом MALDI. Это может объясняться тем, что сначала в продукте развиваются денитрифицирующие стафилококки, а потом молочнокислые микроорганизмы, значительно снижающие pH среды, и стафилококки начинают отмирать. В образце СКХХ не был выявлен вид *Staphylococcus xylosus*, входящий в состав бактериальной композиции Chr. Hansen. Для подтверждения того, что ДНК стафилококков разрушается в готовом продукте под действием нуклеаз других микроорганизмов, необходимо провести дополнительные исследования в динамике приготовления колбас.

Таким образом, установлено, что микрофлора всех исследованных образцов сырокопченой колбасы была представлена безопасными, в большинстве своем молочнокислыми, и некультивируемыми бактериями.

Микроструктурный анализ позволил изучить структуру образцов продуктов, оценить изменения в отдельных участках и компонентах, дифференцировать особенности различных тканевых и клеточных структур. Микроструктура всех образцов сырокопченой колбасы подтверждает развитие в них микроорганизмов.

Структура образца сырокопченой колбасы, выработанного без стартовых культур (рис. 4), характеризуется плотной компоновкой структурных элементов фарша, как в поверхностных, так и в глубоких слоях. Поверхностный уплотненный слой плотно прилегает к оболочке и нижележащим слоям, характеризуется уплотненной мелкозернистой

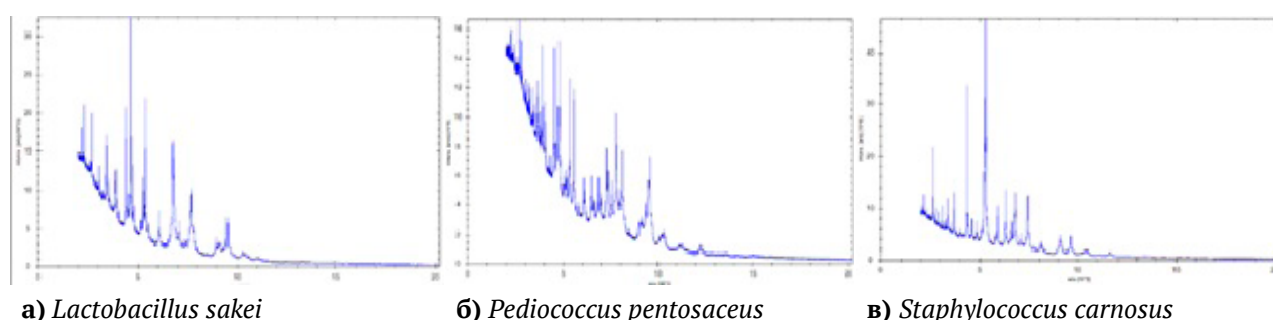


Рисунок 3. Спектры стартовых культур, полученные методом MALDI.

белковой массой, пронизанной четко очерченными вытянутыми вакуолями, преимущественно мелкими, заполненными жиром. Мышечные волокна в пучках на поперечном срезе уменьшены в объеме, уплощены, полигональной формы, лежат свободно по отношению друг к другу.

В глубоких слоях крупные пучки мышечной ткани сформированы из волокон, лежащих свободно по отношению друг к другу, последние гомогенны, часто слившиеся, на поперечном срезе полигональной или округлой формы. Деструктивные изменения мышечных волокон выявляются в виде микротрещин или узких поперечных трещин. Волокнистый компонент соединительной ткани гомогенен, однороден, в крупных пучках соединительной ткани коллагеновые волокна набухшие. В жировой ткани отмечается разрушение стенок жировых клеток и частичное слияние их содержимого. Структурные компоненты фарша тесно взаимосвязаны друг с другом, мелкозернистая белковая масса формирует плотный белковый каркас, пронизана микрокапиллярами округлой или неправильной формы с четко очерченными краями размером 100–150 мкм. В мелкозернистой белковой массе равномерно распределены частицы пряностей и

крупные фрагменты белка сои.

При микроструктурном исследовании образца СКК (Рис. 5) установлено, что масса фарша отличается меньшей компактностью по сравнению с образцом без стартовых культур. Пространственный белковый каркас включает крупные фрагменты мышечной ткани, характеризующейся мышечными волокнами с ослабленной или четко выраженной поперечной исчерченностью и умеренно выраженными деструктивными изменениями. Молочнокислая микрофлора бактериального препарата в виде множественных крупных микроколоний располагается в мелкозернистой белковой массе. Масса фарша пронизана микрокапиллярами, местами сливающимися друг с другом и образующими узкие щели. Размер микрокапилляров варьирует от 150 до 250 мкм. Фотографии микроструктуры данного образца представлены на Рисунке 5.

Микроструктура образца СКХХ (Рис. 6) характеризуется плотной компоновкой структурных элементов фарша. Белковая зернистая масса поверхностных и глубоких слоев более компактна по сравнению с образцом СКК,



Рисунок 4. Микроструктура сырокопченой колбасы без стартовых культур.



Рисунок 5. Микроструктура образца сырокопченой колбасы СКК.

пронизана четко оформленными вакуолями преимущественно размером 100–140 мкм. Между крупноизмельченными компонентами располагается мелкозернистая белковая масса в значительном количестве, позволяющим сформировать плотный белковый каркас. По сравнению с контрольным образцом деструктивные изменения носят более выраженный и глубокий характер. Мышечные волокна в пучках плотно прилегают друг к другу, часто слившиеся, в большинстве участков границы между волокнами не различимы, структура волокон гомогенна, ядра в состоянии лизиса или теневидны. В мелкозернистой белковой массе обнаруживаются равномерно распределенные множественные крупные микроколонии молочнокислых микроорганизмов. Фотографии микроструктуры образца представлены на Рисунке 6.

Анализ полученных данных показал, что по микроструктурным показателям, характеризующим структурообразование образцов сырокопченых колбас, образец СКХХ характеризуется большей взаимосвязанностью структурных элементов фарша, более плотной их компоновкой, более низкой пористостью (пористостью), которая определяется наличием мелких вакуолей, пронизывающих мелкозернистую белковую массу, отсутствием щелевидных пространств и более тонким уплотненным поверхностным слоем. Деструктивные изменения мышечных волокон носят более глубокий и распространенный характер. Отмеченные микроструктурные особенности образца обуславливают более однородную структуру готового продукта по сравнению с образцом СКК. По-видимому, использование в составе бактериальной композиции Chr. Hansen аэробной стартовой культуры – дрожжей *Debaryomyces*

hansenii, утилизирующей кислород, позволило получить структурно более однородный продукт.

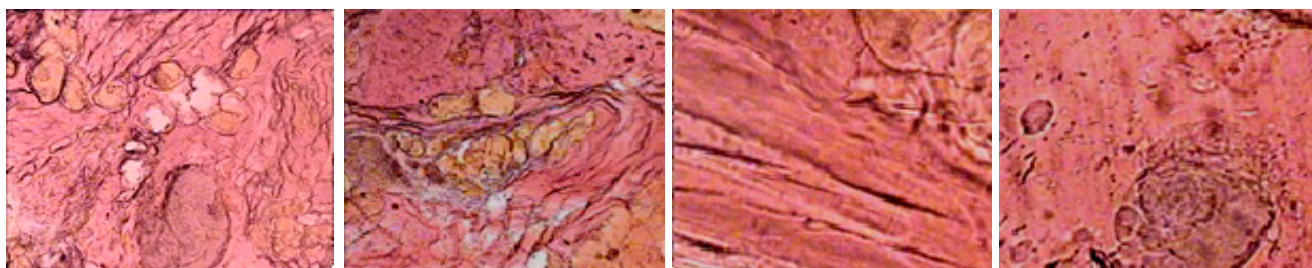
Заключение

Используемые молекулярно-генетические методы T-RFLP, ПЦР-РВ и MALDI позволили выявить, что микрофлору сырокопченых колбас составляли безопасные и некультивируемые бактерии. Однако во всех исследуемых образцах значительная часть была представлена некультивируемыми видами, которые не растут на существующих в настоящее время типах питательных сред. Патогенные микроорганизмы выявлены не были.

В сырокопченых колбасах с использованием стартовых культур были выявлены микроорганизмы, входящие в состав бактериальных композиций. Количество лактобактерий составило 66,4% в образце БСК, 69,59% в образце СКК и 57,9% в образце СКХХ. Большое количество молочнокислых микроорганизмов в образце без внесения стартовых культур объясняется развитием спонтанной микрофлоры, не всегда желательной.

В образце СКК *Staphylococcus carnosus* не был выявлен в готовом мясном продукте ни методом ПЦР-РВ, ни методом MALDI, а в образце СКХХ не был выявлен *Staphylococcus xylosus*, что требует дальнейшего изучения.

Микроструктурный анализ показал, что образец с бактериальной композицией имеет более однородную структуру без пористости, по-видимому, за счет аэробных дрожжей *Debaryomyces hansenii*, входящих в состав бактериального препарата.



а) плотная компоновка структурных элементов фарша

б) фрагменты белка сои (ув.×260)

в) слияние мышечных волокон глубоких слоев образца

г) крупные колонии стартовой культуры (ув.×340)

Рисунок 6. Микроструктура образца сырокопченой колбасы СКХХ.

Благодарности

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (Проект № 16-16- 10073).

Литература

- [1] Ефимочкина Н. Р., Шевелёва С. А. Внедрение молекулярно-генетических методов в систему микробиологического контроля безопасности пищевых продуктов // Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2010». М.: ГК «Космос». 2010. Том № 2. С. 21–24.
- [2] Bhatia S. K., Bhatia R. K., Choi Y. K., Kan E., Kim Y. G., Yang Y. H. Biotechnological potential of microbial consortia and future perspectives // *Crit Rev Biotechnol*. 2018, May. 15. 1-21.
- [3] Колотвина С. В. Адаптация и оптимизация метода ПЦР в реальном времени для микробиологического анализа мясных продуктов // *Биотехнология*. 2012. № 3. С. 85–91.
- [4] Колотвина С. В., Машенцева Н. Г., Титов Е. И., Митасева Л. Ф. Молекулярно-генетические и физико-химические методы для характеристики санитарно-гигиенического состояния ферментированных мясных продуктов // *Биотехнология*. 2011. № 4. С. 88–94.
- [5] Нгуен Т. М. К., Машенцева Н. Г., Лаптев Г. Ю., Никонов И. Н., Ильина Л. А., Нагорнова К. В. Новый метод изучения микробного сообщества ферментированных колбасных изделий // *Мясная индустрия*. 2013. № 10. С. 12–14.
- [6] Janßen D., Eisenbach L., Ehrmann M. A., Vogel R. F. Assertiveness of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* in a fermented sausage model // *Int J Food Microbiol*. 2018, Apr. 20. pii: S0168-1605(18)30190-9.
- [7] Методические указания «Идентификация микроорганизмов с применением масс-спектрометра microflex MALDI Biotyper при исследовании продовольственного сырья и пищевых продуктов». М.: Федеральное государственное учреждение «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория», 2011. 20 с.

Histological and Microbiological Assessment of Smoked Sausage Products

Natalia G. Mashentseva

*Federal state budgetary scientific institution «V. M. Gorbatov Federal scientific center for food systems of RAS»
26 Talalikhina, Moscow, Russian Federation
Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
E-mail: natali-mng@yandex.ru*

Irina M. Chernukha

*Federal state budgetary scientific institution «V. M. Gorbatov Federal scientific center for food systems of RAS»
26 Talalikhina, Moscow, Russian Federation
E-mail: imcher@inbox.ru*

Dmitriy A. Afanasyev

*Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
E-mail: dmitr.afanasjew2010@yandex.ru*

Larisa A. Ilina

*«BIOTROF» Ltd
lit. A, 8, Malinovskaya street, Pushkin, St. Petersburg, 196602, Russian Federation
E-mail: ilina@biotrof.ru*

Tatiana A. Ryazanova

*Research and Testing Center LLC «CHERKIZOVO»
14B, v. Yakovlevskoe, Moscow, 143340, Russian Federation
E-mail: ryazanowa.tan@yandex.ru*

Valentina A. Romanova

*Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
E-mail: bwal1307@rambler.ru*

Tatiana G. Kuznetsova

*Federal state budgetary scientific institution «V. M. Gorbatov Federal scientific center for food systems of RAS»
26 Talalikhina, Moscow, Russian Federation
E-mail: labsens@mail.ru*

One of the priorities is to ensure microbiological safety of food products, the solution of which is aimed at protecting the health of the population. Recently, this problem has become particularly relevant in connection with the increase in the number of diseases transmitted by alimony. Meanwhile, molecular genetic research methods, characterized by technological novelty, high investment value and the absence of officially approved regulations and instructions, have not yet been widely used in food Microbiology.

This article is devoted to the study of qualitatively new approaches for the evaluation of microbial diversity. The methods of PCR-PB, MALDI and T-RFLP analysis are the most popular in relation to microbiological safety of meat raw materials. It is also necessary to study the microstructure of sausage products, as the consumer market receives a large variety of meat products, which require careful and rapid quality control and compliance with State standards. Histological analysis does not require complex equipment and allows to quickly obtain data on the quality and actual composition of most types of meat products.

3 samples of uncooked smoked sausage - BSC, CCM, SCX were taken for the study. The analysis of the obtained data

showed that the SKHX sample is characterized by a greater interconnection of the structural elements of minced meat, their denser layout, lower porosity (porosity), which is determined by the presence of small vacuoles penetrating the fine-grained protein mass, the absence of slit-like spaces and a thin compacted surface layer. The used molecular genetic methods T-RFLP analysis, PCR-PB and MALDI revealed that the microflora of raw sausages were safe and uncultivated bacteria. No pathogens were identified.

Keywords: raw smoked sausages, bacterial compositions, starter cultures, microflora, PCR-PB, T-RFLP, MALDI, histological analysis

Acknowledgments

The study was financed by the grant of the Russian Scientific Foundation (Project No.16-16- 10073).

References

- [1] Efimochkina N. R., Shevelyova S. A. Vnedrenie molekulyarno-geneticheskikh metodov v sistemu mikrobiologicheskogo kontrolya bezopasnosti pishchevyh produktov [Introduction of molecular genetic methods into the system of microbiological control of food safety]. Materialy VII Vserossiyskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Molekulyarnaya diagnostika – 2010». Moscow: GK «Kosmos», 2010, no. 2, 21–24.
- [2] Bhatia S. K., Bhatia R. K., Choi Y. K., Kan E., Kim Y. G., Yang Y. H. Biotechnological potential of microbial consortia and future perspectives. *Crit Rev Biotechnol*, 2018, May, 15, 1-21.
- [3] Kolotvina S. V. Adaptatsiya i optimizatsiya metoda PCR v realnom vremeni dlya mikrobiologicheskogo analiza myasnyh produktov [Real - time adaptation and optimization of PCR for microbiological analysis of meat products]. *Biotekhnologiya*, 2012, no. 3, 85–91.
- [4] Kolotvina S. V., Mashenceva N. G., Titov E. I., Mitaseva L. F. Molekulyarno-geneticheskie i fiziko-himicheskie metody dlya karakteristiki sanitarno-gigienicheskogo sostoyaniya fermentirovannyh myasnyh produktov [Molecular genetic and physico-chemical methods to characterize the sanitary and hygienic state of fermented meat products]. *Biotekhnologiya*, 2011, no. 4, 88–94.
- [5] Nguen T. M. K., Mashenceva N. G., Laptev G. Yu., Nikonov I. N., Ilina L. A., Nagornova K. V. Novyj metod izucheniya mikrobnogo soobshchestva fermentirovannyh kolbasnyh izdelij [A new method of studying the microbial community of fermented sausages]. *Myasnaya industriya*, 2013, no. 10, 12–14.
- [6] Janßen D., Eisenbach L., Ehrmann M. A., Vogel R. F. Assertiveness of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* in a fermented sausage model. *Int J Food Microbiol*, 2018, Apr, 20. pii: S0168-1605(18)30190-9.
- [7] Metodicheskie ukazaniya «Identifikatsiya mikroorganizmov s primeneniem mass-spektrometra microflex MALDI Biotyper pri issledovanii prodovolstvennogo syrya i pishchevyh produktov» [Guidelines «identification of microorganisms using the mass spectrometer microflex MALDI Biotyper in the study of food raw materials and food products»]. Moscow: Federalnoe gosudarstvennoe uchrezhdenie «Centralnaya nauchno-metodicheskaya veterinarnaya laboratoriya», 2011. 20 p.