УДК 636.294:637
В.Г. Луницын, А.А. Неприятель, Ю.Н. Романцева, Е.Ю. Должикова
V.G. Lunitsyn, A.A. Nepriyatel, Yu.N. Romantseva, Ye.Yu. Dolzhikova

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БИОСУБСТАНЦИЙ ИЗ СЫРЬЯ МАРАЛОВ И СПОСОБЫ ИХ СНИЖЕНИЯ

DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL INDICES OF BIOLOGICAL SUBSTANCES IN MARAL RAW MATERIALS AND WAYS TO REDUCE THESE INDICES

Ключевые слова: *переработка, второстепенная продукция, ферментация, концентрат, гидролизат, консервант, репродуктивные органы самцов, хвост, эмбрионы, сухожилия, шкура, сок, микробиологические показатели.*

В настоящее время на Алтае не менее 22 предприятий занимаются переработкой пантов, крови и мяса маралов в пищевые, косметические и лечебно-профилактические продукты. При этом отсутствие достоверных данных о микробиологических показателях побочной продукции маралов (репродуктивные органы самцов, хвосты, эмбрионы, сухожилия, шкура) и способах его снижения является одной из причин нежелания использовать данное сырье в производстве вышеописанных продуктов. В результате исследований установлено, что побочное сырье маралов обсеменено St. saprophiticus, Enterobacter spp., при этом микробная загрязненность варьировала от $6,1*10^7$ до $8,0*10^8$ по стафилококкам и от $5,0*10^7$ до $6,0*10^7$ по энтеробактериям. По существующим нормативным требованиям, предъявляемым к продуктам животного происхождения, наличие данных микроорганизмов не допускается. Изготовление гидролизатов из данного сырья путем ферментного гидролиза в поле ультразвука на первом этапе с использованием фермента СГ-50 позволило сократить концентрацию энтеробактерий до $1,0*10^3$ и уничтожить стафилококки. Ферментация сырья, на втором этапе гидролиза, в присутствии препарата «Папаин» в поле ультразвука стимулировало рост количества энтеробактерий по всем видам анализируемого сырья с $2,9*10^3$ до $3,1*10^4$. Сушка полученного гидролизата до влажности 10,0-12,0% не изменило количества энтеробактерий. Во второй серии экспериментов после многочасового ферментного гидролиза в поле ультразвука шкуры маралов к полученной биосубстанции добавили сахарный сироп и фруктовую эссенцию, потом пастеризовали в течение 1,5 ч при температуре 52-53°С. В готовом продукте показатели количества мезофильных аэробных микроорганизмов и бактерии группы кишечных палочек, плесень и дрожжи обнаруживались до третьего разведения. В ходе третьей серии опытов в момент начала гидролиза вместе с ферментом вносили консерванты (низин, натамицин, фермент «Лизоцим»), далее ферментация сырья осуществлялась по аналогии второго опыта. В результате использования консервантов, микробиологические показатели продукта соответствовали требованию регламента таможенного союза.

Keywords: *processing, secondary products, fermentation, concentrate, hydrolyzate, preserving agent, male reproductive organs, tail, embryos, tendons, skin, fluid, microbiological indices.*

At present, there are at least 22 enterprises in the Altai Region that are engaged in the processing of antlers, blood and maral meat into food, cosmetic and therapeutic products. However, the lack of reliable data on the microbiological indices of maral by-products (male reproductive organs, tails, embryos, tendons, skin) and ways to reduce them is considered as one of the reasons of reluctance to use these raw materials in processing of the above-mentioned products. It has been found that maral by-products were contaminated by St. saprophytic, Enterobacter spp., while the microbial contamination varied from $6.1*10^7$ to $8.0*10^8$ for staphylococci and from $5.0*10^7$ to $6.0*10^7$ for enterobacteria. According to the existing regulatory requirements for products of animal origin, the presence of these microorganisms is not permitted. The production of hydrolysates from this raw material by means of enzymatic hydrolysis in the ultrasound field, at the first stage by using the SG-50 enzyme, allowed reducing the concentration of enterobacteria to $1.0*10^3$ and exterminate staphylococci. The fermentation of raw materials, in the course of the second stage of hydrolysis, in the presence of Papain product in the ultrasound field stimulated increase in the number of enterobacteria for all types of raw materials analyzed, from $2.9*10^3$ to $3.1*10^4$. Drying of the obtained hydrolyzate to moisture content of 10.0-12.0% failed to alter the number of enterobacteria. In the course of the second series of experiments, after many hours of enzymatic hydrolysis in the ultrasound field of the maral skins, sugar syrup and fruit essence were added to the bio-substance produced; then the substance was pasteurized for an hour and a half at a temperature of 52-53°C. In the finished product, the number of mesophilic aerobic microorganisms and bacteria of E. coli group, mold and yeast were detected until the third dilution was carried out. During the third series of experiments, the preserving agents (nisin, natamycin, and lysozyme enzyme) were added along with the enzyme at the beginning of the process of hydrolysis, followed by the fermentation of raw materials by analogy with the second experiment. As a result of the use of preserving agents, the microbiological indices of the product corresponded to the requirements of the Customs Union regulations.

Луницын Василий Герасимович, д.в.н., проф., засл. деятель науки РФ, директор, Всероссийский НИИ пантового оленеводства, г. Барнаул. Тел.: (3852) 50-13-30. E-mail: wniipo@rambler.ru.
Неприятель Алексей Анатольевич, д.с-х.н., зам. директора, Всероссийский НИИ пантового оленеводства, г. Барнаул. Тел.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.
Романцева Юлия Николаевна, к.в.н., зав. лаборатории, Всероссийский НИИ пантового оленеводства, г. Барнаул. Тел.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.
Должикова Екатерина Юрьевна, н.с., Всероссийский НИИ пантового оленеводства, г. Барнаул. Тел.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.

Lunitsyn Vasiliy Gerasimovich, Dr. Vet. Sci., Prof., Director, All-Russian Research Institute of Velvet Antler Deer Breeding, Barnaul. Ph.: (3852) 50-13-30. E-mail: wniipo@rambler.ru.
Nepriyatel Aleksey Anatolyevich, Dr. Agr. Sci., Deputy Director, All-Russian Research Institute of Velvet Antler Deer Breeding, Barnaul. Ph.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.
Romantseva Yuliya Nikolayevna, Cand. Vet. Sci., Head, Lab. of Animal Infectious Diseases, All-Russian Research Institute of Velvet Antler Deer Breeding, Barnaul. Ph.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.
Dolzhikova Yekaterina Yuryevna, Staff Scientist, All-Russian Research Institute of Velvet Antler Deer Breeding, Barnaul. Ph.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.

Переработкой продукции пантового оленеводства в Алтайском крае занимаются 13 предприятий, в Республике Алтай – 9, производящие в общей сложности 98 различных продуктов (БАДы, пищевые функциональные добавки, косметические средства, тонизирующие напитки и т.д.). Из 98 наименований в 26 (26,5%) используются панты, в 75 (72,5%) – кровь маралов и в 1 (1,0%) – мясо. Наравне с пантами, мясом и кровью маралов возможно заготавливать сухожилия, хвосты, репродуктивные органы самцов, эмбрионы, шкуры. Во ВНИИПО разработаны и запатентованы способы их заготовки и переработки в биосубстанции, изучен биохимический состав и биологическая активность, при этом в доступных нам литературных источниках практически не изученным остается вопрос о микробиологических показателях сырья маралов в процессе заготовки и переработки [1-2].

Исходя из вышеизложенного **целью** исследований явилось изучение микробиологических показателей побочного сырья и полученных биосубстанций, а также определение способов их снижения.

Материалы и методы исследования

Работа проводилась в ФГУП «Новоталицкое», в лаборатории заразных болезней животных и переработки, сертификации продукции пантового оленеводства (ФГБНУ ВНИИПО).

Побочную продукцию брали во время убоя животных (репродуктивные органы самцов, хвосты, эмбрионы, сухожилия, шкура). В первом опыте отобрали пробы на разных стадиях изготовления концентрата: исходный материал, после ферментации комплексом СГ-50 в ультразвуковом поле, после ферментации папаином в ультразвуковом поле, готовый концентрат. Гидролиз сырья осуществляли дистиллированной водой.

Во втором опыте измельченную шкуру марала смешивали с вишневым соком, полученный субстрат подвергали многочасовому ферментному гидролизу в поле ультразвука по аналогии первого опыта. После ферментации сырья гидролизат сливали, добавляли необходимые ингредиенты (сахарный сироп, фруктовая эссенция) согласно ранее отработанной рецептуре. Готовый продукт пастеризовали 1,5 ч при температуре 52-53°С. Вишневый сок (изготовитель: ООО ПК «Дядя Том», ГОСТ 32104-2013) приобретался в торговой сети г. Барнаула.

Третий эксперимент проводили по аналогии со вторым опытом только с добавлением консервантов (низин – в дозе 0,1 г/кг, натамицин – 0,1, фермент «лизоцим» – 0,3 г/кг) на первоначальной стадии ферментации.

Пробы отбирались каждый час с момента смешивания, а рост микроорганизмов учитывался ежечасно в течение 24 ч, далее через 48 и 72 ч.

Отбор проб и определение микробиологических показателей проводили по ГОСТ 15113.0 [3], ГОСТ 6687.0 [4], ГОСТ 30712 [5], ГОСТ 31659 [6], ГОСТ 31746 [7], ГОСТ 31708 [8] и ТР ТС 021/2011 [9].

Результаты исследований

При изучении нативного сырья маралов (репродуктивные органы самцов, хвосты, эмбрионы, сухожилия) выделили и идентифицировали St. saprophiticus, Enterobacter spp. В результате исследований исходного материала микробная загрязненность варь-

ировала от $6,1*10^7$ до $8,0*10^8$ по стафилококкам и $5,0*10^7$ до $6,0*10^7$ по энтеробактериям, что не соответствует существующим требованиям к продуктам животного происхождения, согласно техническому регламенту.

После экстракции в ультразвуковой установке с комплексом ферментов СГ-50 наблюдалось резкое снижение концентрации энтеробактерий до $1,0*10^3$, а также аннигиляция стафилококков.

Однако дальнейшая экстракция сырья с ферментов папаин в поле ультразвука способствовала увеличению роста количества энтеробактерий по всем видам анализируемого сырья с $2,9*10^3$ до $3,1*10^4$.

После ферментации сырья согласно запатентованной технологии полученный гидролизат консервировали в вакуумной сушке (0,9 атм., 45°С) до влажности 10-12%. В результате дегидратации гидролизата в концентрате количество энтеробактерий не изменилось. При этом согласно существующим требованиям в концентрате не допускается наличие энтеробактерий.

Во втором опыте в основу изготовления продукта на основе сока и сырья маралов взяли наиболее контаминированный материал – шкуру маралов.

При изучении микробиологических показателей продуктов учитывались следующие показатели: патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы; количество мезофильных аэробных микроорганизмов; бактерии группы кишечных палочек (БГКП); дрожжи и плесени.

Таблица 1

Микробиологические показатели анализируемых образцов

Наименование	Дрожжи и плесени (в сумме) КОЕ/10 $см^3$, не более	КМАФАнМ, КОЕ/г ($см^3$)	БГКП (колиформы) в 1,0 г ($см^3$)	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы в 25 г
Сок	-	$2,0*10^3$	-	-
Шкура марала	$1,0*10^{10}$	$1,0*10^{10}$	$2,0*10^{10}$	-
Гидролиз сырья в присутствии СГ-50				
1 ч	$1,4*10^3$	$4,0*10^5$	$7,0*10^4$	-
2 ч	$2,2*10^3$	$2,0*10^4$	$1,9*10^4$	-
3 ч	$2,2*10^3$	$2,0*10^4$	$4,0*10^4$	-
4 ч	$2,0*10^3$	$3,0*10^3$	$2,0*10^4$	-
Гидролиз сырья в присутствии фермента папаин				
1 ч	$1,8*10^3$	$8,0*10^4$	$1,6*10^4$	-
2 ч	$2,0*10^3$	$2,0*10^3$	$1,8*10^4$	-
3 ч	$2,0*10^3$	$3,0*10^4$	$2,0*10^4$	-
4 ч	$2,0*10^3$	$1,0*10^4$	$1,0*10^4$	-
Готовый продукт	$2,0*10^3$	$1,0*10^3$	$3,0*10^3$	-
Допустимые уровни согласно ТР ТС 021/2011 (прил. 1, прил. 2 п. 1.7)	Не допускаются	$5x10^4$	Не допускаются	Не допускаются

Таблица 2

Микробиологические показатели опытных продуктов с консервантами

Показатели	Опытные продукты с содержанием консерванта			Контрольная проба	Допустимые уровни согласно ТР ТС 021/2011 (прил. 1, прил. 2 п. 1.7)
	Низин	Натамицин	Фермент «Лизоцим»		
КМАФАнМ, КОЕ/г ($см^3$)	Не обнаружено	$1,0*10^1$	$1,0*10^1$	$4,0*10^3$	$5x10^4$
БГКП (колиформы) в 1,0 г ($см^3$)	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	$1,0*10^4$	Не допускаются
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы в 25 г	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	-	Не допускаются
Дрожжи и плесени (в сумме) КОЕ/10 $см^3$, не более	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	$1,0*10^3$	Не допускаются

Первичный рост на средах КМАФАнМ и Сабуро отмечался с 5-го часа наблюдения, на остальных средах – на 15-19-й час. Устанавливается визуально учитываемый рост через 36 ч инкубации в термостате. Как видно из таблицы 1, максимальное количество КОЕ отмечается в пробе из шкуры марала (нативный материал), в ходе ферментативного гидролиза происходит снижение КОЕ от $1,0*10^{10}$ до $1,0*10^{4}$ по всем группам анализируемых микроорганизмов. В готовом продукте КОЕ по показателям количество мезофильных аэробных микроорганизмов и бактерии группы кишечных палочек уменьшилось на 1 разведение с 10^{4} до 10^{3}, по плесени и дрожжам остались неизменными. При сравнении полученных данных и норм согласно ТР ТС 021/2011 данная продукция не соответствует микробиологической безопасности продуктов.

В следующем опыте, согласно схеме исследований, в начале гидролиза сырья добавили консерванты низин, натамицин и фермент «Лизоцим» в регламентированных дозах. Контрольная проба готовилась без консервантов.

Согласно данным таблицы 2, биосубстанции, изготовленные с анализируемыми консервантами, позволяют получить продукт, соответствующий существующим нормам безопасности.

Заключение

1. Сырье маралов (репродуктивные органы самцов маралов, хвосты, эмбрионы, сухожилия, шкура), как правило, контаминировано стафилоккоками, энтеробактериями, дрожжами, плесенью.

2. В процессе глубокой переработки (ферментный гидролиз в поле ультразвука) сырья маралов отмечается более чем 2-кратное снижение микробиологических показателей анализируемых образцов, однако готовые биосубстанции не соответствуют современным требованиям ТР ТС 021/2011.

3. Использование низина, натамицина или фермента «Лизин», даже при наличии высокой контаминации сырья, позволяет получать биосубстанции, соответствующие отечественным нормам безопасности пищевых продуктов.

Библиографический список

1. Луницын В.Г., Борисов Н.П. Пантовое оленеводство России: монография. – Барнаул, 2012. – 1000 с.

2. Луницын В.Г., Неприятель А.А. Инновационное обеспечение пантового оленеводства Российской Федерации: монография. – Барнаул, 2013. – 135 с.

3. ГОСТ 15113.0-77 Концентраты пищевые. Правила приемки. Отбор и подготовка проб.

4. ГОСТ 6687.0-86 Продукция безалкогольной промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

5. ГОСТ 30712-2001 Продукты безалкогольной промышленности. Методы микробиологического анализа.

6. ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий типа Salmonella.

7. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и Staphylococcus aureus

8. ГОСТ 31708-2012 Микробиология пищевых продуктов и кормов. Метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий Escherichia coli. Метод наиболее вероятного числа

9. ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции»

References

1. Lunitsyn V.G., Borisov N.P. Pantovoe olenevodstvo Rossii: monografiya. – Barnaul, 2012. – 1000 s.

2. Lunitsyn V.G., Nepriyatel A.A. Innovatsionnoe obespechenie pantovogo olenevodstva Rossiyskoy Federatsii: monografiya. – Barnaul, 2013. – 135 s.

3. GOST 15113.0-77 Kontsentraty pishchevye. Pravila priemki. Otbor i podgotovka prob.

4. GOST 6687.0-86 Produktsiya bezalkogolnoy promyshlennosti. Pravila priemki i metody otbora prob.

5. GOST 30712-2001 Produkty bezalkogolnoy promyshlennosti. Metody mikrobiologicheskogo analiza.

6. GOST 31659-2012 Produkty pishchevye. Metody vyyavleniya bakteriy tipa Salmonella.

7. GOST 31746-2012 Produkty pishchevye. Metody vyyavleniya i opredeleniya kolichestva koagulazopolozhitelnykh stafilokokkov i Staphylococcus aureus.

8. GOST 31708-2012 Mikrobiologiya pishchevykh produktov i kormov. Metod obnaruzheniya i opredeleniya kolichestva prezumptivnykh bakteriy Escherichia coli. Metod naibolee veroyatnogo chisla.

9. TR TS 021/2011 Tekhnicheskiy reglament Tamozhennogo soyuza «O bezopasnosti pishchevoy produktsii».