

Р. Э. Хабибуллин, Г. Ю. Яковлева, А. Р. Низамиева,
С. А. Жакслыкова

ВЛИЯНИЕ МОЛОЧНОКИСЛОЙ МИКРОФЛОРЫ НА САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОВЯЖЬИХ СУБПРОДУКТОВ

Ключевые слова: мясное сырье, говяжьи субпродукты 2 категории, санитарно-гигиенические показатели, сапрофитная микрофлора, молочнокислые бактерии.

*Представлены результаты влияния экзогенной молочнокислой ферментации на санитарно-гигиенические показатели говяжьи субпродуктов 2 категории (говяжьи легкие, селезенка, рубец) в сравнении с показателями нативных субпродуктов. Установлено, что из всех исследуемых образцов у рубца наибольшее микробное обсеменение, равно как и наибольшее содержание санитарно-показательных микроорганизмов. Экзогенная молочнокислая ферментация снижала количество прочих мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, подавляла рост бактерий группы кишечной палочки и практически не оказывала влияния на *Proteus vulgaris*.*

Keywords: raw meat, bovine offal, sanitary - hygienic indicators, saprophytic micro flora, lactic-acid bacteria.

*The results of impact of exogenous lactic acid fermentation at the bacteriological properties of bovine offal (beef lungs, spleen, tripe) compared with native products are presented. Found that all of the samples show the high microbial seeding and the greatest content of sanitary indicative microorganisms. Exogenous lactic acid fermentation diminishing the number of other mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms decreased the growth of bacteria *Escherichia coli* group and demonstrated absence of influence on *Proteus vulgaris*.*

Введение

Мясо – важнейший продукт питания, обеспечивающий человека необходимыми высококачественными и полноценными белками животного происхождения. Повышение темпов производства и объемов выпуска продукции мясной промышленности неразрывно связано с совершенствованием и разработкой новых ресурсосберегающих технологий и комплексным использованием животноводческого сырья, в том числе благодаря вовлечению в производство побочных продуктов переработки скота [1].

Для достижения высокой экономической эффективности предприятий мясопереработки необходимо стремиться к максимальному использованию субпродуктов при выработке рентабельных мясoproductов, пользующихся спросом потребителей и более устойчивых в хранении.

Особый интерес представляют субпродукты 2 категории (легкие, рубцы, сычуги говяжьи и другие), богатые соединительнотканными белками, являющимся источником витаминов, микро- и макроэлементов, с высокой биологической ценностью [2]. Однако одновременно они имеют низкие функционально-технологические и органолептические свойства, несбалансированный аминокислотный состав белка. Эти характеристики препятствуют их широкому применению в пищевых целях.

Основным недостатком субпродуктов по сравнению с мышечной тканью является их быстрая порча под воздействием микроорганизмов. Известно, что сапрофитная микрофлора мяса – это различные микроорганизмы, способные расщеплять белки, жиры и углеводы, т.е. существенно снижающие качество мясoproductов. Наряду с сапрофитной микрофлорой в мясо попадают патогенные и токсигенные микроорганизмы,

вызывающие инфекционные заболевания и пищевые отравления, в связи с чем мясное сырье и мясoproductы должно строго контролироваться органами санитарно-эпидемиологического надзора.

На сегодняшний день известно много способов модификации свойств коллагенсодержащего сырья и субпродуктов. Прежде всего, это физико-химические и термические способы воздействия, а также воздействие ферментными препаратами и микробными заквасками и стартовыми культурами. Ферментная модификация коллагенсодержащего сырья позволит получать не только мясoproductы общего назначения, но также мясoproductы специального, диетического и лечебно-профилактического питания с заданными свойствами и высокой пищевой и биологической ценностью [3].

Ранее были представлены результаты воздействия экзогенной молочнокислой ферментации на функционально-технологические и органолептические свойства говяжьи субпродуктов [4], изучены изменения микроструктурных свойств их образцов [5], а также потребительские свойства мясoproductов, полученных с использованием таких добавок [6].

Целью данной работы являлось: исследование возможности использования экзогенной молочнокислой ферментации для обработки говяжьи субпродуктов 2 категории с целью улучшения из санитарно-гигиенических показателей.

Экспериментальная часть

Объектом исследования являлись субпродукты говяжьи 2 категории (легкое, селезенка, рубец). Субпродукты приобретались в день убоя на колхозном рынке № 2 г.Казани, затем зачищались от посторонних прирезей и загрязнений.

Для молочнокислой экзогенной ферментации использовали бактериальную закваску

промышленного изготовления - медицинский препарат лактобактерин.

Для проведения экзогенной ферментации сначала готовили жидкую закваску молочнокислых бактерий. Для этого в пастеризованное молоко стерильно вносили лиофилизированную закваску из расчета 1 г закваски на 1 л молока, перемешивали и инкубировали при температуре 30°C в течение 12-18 часов (ночная культура). Образцы субпродуктов подвергали воздействию приготовленных молочнокислых жидких заквасок в течение 96 часов при температуре + 18 - 20°C.

Для выявления различных групп микроорганизмов навеску субпродуктов предварительно помещали в стерильную фарфоровую ступку, и растирали в течение 5 минут стерильным фарфоровым пестиком. Последующие разведения (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} и т. д.) делали в колбах объемом 250 мл, содержащих по 45 мл стерильного 0,9%-го раствора NaCl (далее – физраствора). Из каждого разведения по 1 мл раствора вносили в стерильные чашки Петри, которые затем заливали расплавленным и охлажденным до 45-50°C мясо-пептонным агаром (МПА), т.е. производили глубинный посев. Затем чашки помещали в термостат при 30°C. Количество выросших колоний подсчитывали на третьи сутки. С учетом разведений, применяя не менее трех повторностей опыта, определяли число клеток в 1 г продукта.

Для выделения и идентификации молочнокислых микроорганизмов использовали твердую агаризованную среду Мана-Рогоза-Шарпа (МРС) [7]. Посевы делали из разведений 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , вносили по 1 мл в стерильные чашки Петри, заливали расплавленной охлажденной средой (глубинный посев) и культивировали в термостате 2 – 3 суток при 30°C.

Наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП) определяли на среде Эндо, для чего на поверхность среды в чашке Петри наносили по 0,1 мл суспензии [8].

Присутствие протей (*Proteus vulgaris*) определяли по методу Шукевича [9]. Для этого из приготовленной суспензии стерильной пастеровской пипеткой набирали 1 - 2 капли исследуемого материала и, не прикасаясь к поверхности скошенного агара, вносили в конденсационную воду. Образцы выдерживали в термостате при 37°C в течение 14–18 ч. Присутствие *Proteus vulgaris* определяли по сплошному вуалеобразному росту на поверхности агара.

Присутствие клостридий определяли путем посева 2-3 мл суспензии в среду Китт–Тароцци [10]. Среду перед посевом 20–30 мин прогревали в кипящей водяной бане для удаления кислорода, затем быстро охлаждали под краном. После посева часть пробирок вновь прогревали при 80°C в течение 20 мин для уничтожения вегетативных клеток, заливали слоем вазелинового масла для создания анаэробных условий, помещали в термостат при 37°C и просматривали сначала через сутки, а затем каждые 2 дня до 8 суток.

Для выделения бактерий рода *Salmonella* производили поверхностный посев на среде Левина с последующим термостатированием при 30°C в течение 48 ч [11].

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили в стандартной компьютерной программе Excel. В работе все эксперименты были проведены не менее чем в четырех повторностях. Группу данных считали однородной, если среднеквадратическое отклонение σ в ней не превышало 13%. Различия между группами считали достоверным при критерии вероятности $P < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе работы была произведена оценка микробного сообщества легкого, селезенки и рубца. Как видно из рисунка 1, все исследуемые нами субпродукты были обсеменены микроорганизмами.

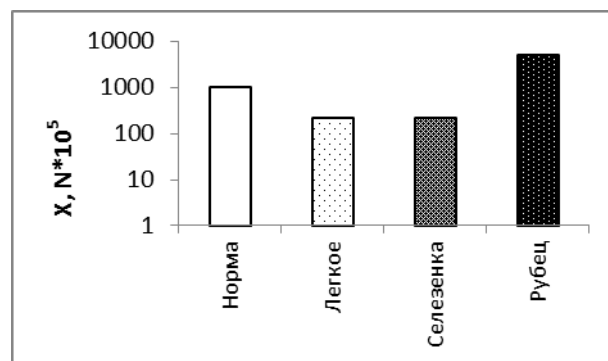


Рис. 1 – Содержание микроорганизмов в нативных говяжьих субпродуктах

Степень их обсеменения различалась. Если у легкого и селезенки она находилась в пределах допустимого [12], то у рубца она превышала показатели допустимого значения почти на порядок.

Было определено содержание в субпродуктах санитарно-показательных микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1- Содержание санитарно-показательных микроорганизмов в говяжьих субпродуктах

Вид микроорганизма	Рубец	Селезенка	Легкое
БГКП, в 0,001 г	+++	+	+
<i>Salmonella</i> , в 25 г	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> , в 10 г	++	-	-
<i>Clostridium</i> , в 10 г	-	-	-

Как видно из данных табл. 1, микроорганизмы родов *Salmonella* и *Clostridium* не были обнаружены ни в одном из исследованных нами образцах. Протей *Proteus vulgaris* был обнаружен в посеве рубца, а из других субпродуктов не высевался. Колиформные бактерии высевались из всех исследуемых нами субпродуктов, однако в рубце их концентрация была максимальной.

Следовательно, из всех исследованных нами субпродуктов 2 категории рубец оказался наиболее обсеменённым, исходя из чего он был выбран нами для проведения молочнокислой ферментации.

Для молочнокислой экзогенной ферментации использовался медицинский препарат лактобактерин, который представляет собой микробную массу живых антагонистически активных лактобактерий штаммов *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, или *L. plantarum* 38, или *L. fermentum* 90T-C4, или *L. fermentum* 39, лиофилизированную в среде культивирования с добавлением защитной сахарозо-желатиновой или сахарозо-желатиномолочной среды.

Для проведения экзогенной молочнокислой ферментации исследованных говяжьих субпродуктов использовались клетки молочнокислых бактерий, находившихся в состоянии максимальной физиологической активности, т.е. в экспоненциальной фазе роста. Для определения этого промежутка времени была построена кривая роста молочнокислых бактерий на пастеризованном цельном молоке, а также рассчитана удельная скорость роста молочнокислых бактерий по формуле:

$$\mu = (\ln x_2 - \ln x_1) / (t_2 - t_1),$$

где μ - удельная скорость роста, $ч^{-1}$; x_1 и x_2 - концентрация биомассы, $г \cdot дм^{-3}$, в моменты времени t_1 и t_2 соответственно.

При обработке кинетических кривых роста молочнокислых микроорганизмов из состава лактобактерина на молоке было выявлено, что экспоненциальная фаза роста находится в промежутке времени с 6 до 18 часа. Поэтому для проведения экзогенной молочнокислой ферментации субпродуктов использовалась 16-часовая культура микроорганизмов.

Молочнокислую закваску смешивали с исследуемыми субпродуктами в трех вариантах соотношений:

1. Контроль (к 200 г субпродукта добавляли 40 мл физраствора).
2. Соотношение 1:5 (к 200 г субпродукта добавляли 40 мл закваски).
3. Соотношение 1:10 (к 200 г субпродукта добавляли 20 мл закваски и 20 мл физраствора).

В этих вариантах определяли количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) и количество молочнокислых бактерий (МКБ). Результаты молочнокислой ферментации с точки зрения содержания общего количества микроорганизмов и содержания МКБ представлены на рис.2. Как видно из этих данных, внесение молочнокислых заквасок закономерно привело к увеличению не столько абсолютного значения КМАФАнМ, сколько к росту соотношения МКБ / КМАФАнМ. Степень прироста их количества, однако, зависела от количества внесенной закваски. Вариант 3 (разбавленная в два раза закваска) показывает менее выраженный эффект.

Начиная со вторых суток инкубирования отмечалось увеличение КМАФАнМ как в контрольном, так и в опытных вариантах. Параллельно с увеличением КМАФАнМ возрастало количество молочнокислых бактерий в опытных вариантах. Так как общее количество микроорганизмов в контрольном и опытных вариантах достоверно не различалось, можно предположить, что под действием экзогенной молочнокислой ферментации снижается доля микроорганизмов, отличных от молочнокислых, а также их абсолютное количество.

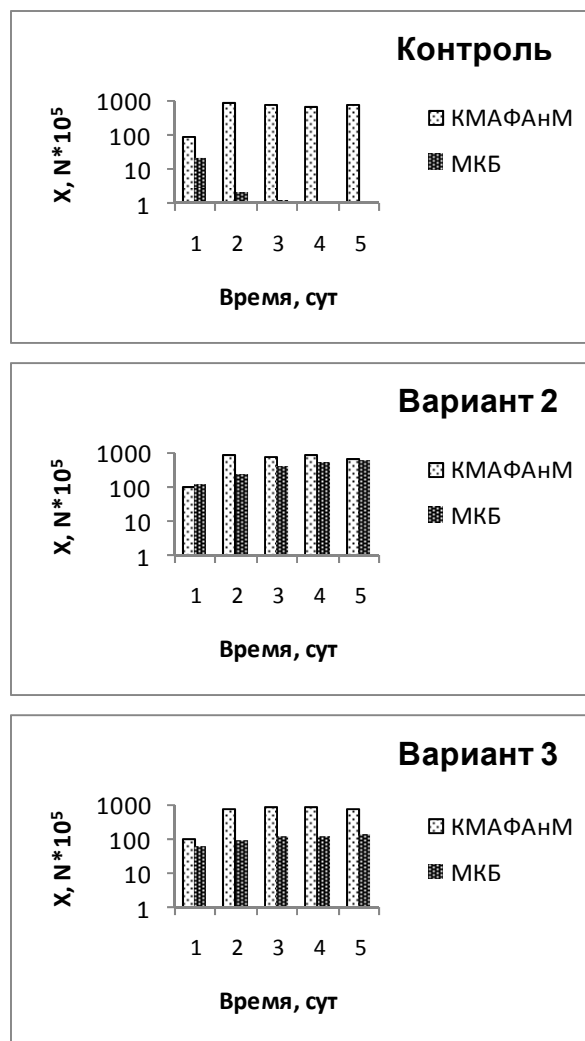


Рис. 2 – Изменение микрофлоры рубца в процессе экзогенной молочнокислой ферментации

Далее было оценено влияние молочнокислой ферментации на санитарно-показательную микрофлору. Так как при первоначальных исследованиях говяжьих субпродуктов представители родов *Salmonella* и *Clostridium* не обнаруживались, в дальнейшей работе оценивалось влияние молочнокислой ферментации на представителей БГКП и *Proteus vulgaris*, легко определявшихся в нативных субпродуктах.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, в начальный момент времени определялись БГКП и *Proteus vulgaris* как в

контрольном, так и в опытном вариантах. Начиная со вторых суток инкубирования наблюдается снижение количества БГКП в варианте 1 и полное отсутствие в варианте 2. На протяжении всего времени эксперимента во всех вариантах определялся *Proteus vulgaris*. Следовательно, молочнокислая ферментация рубца приводила к подавлению роста бактерий группы кишечной палочки и не оказывала влияние на численность *Proteus vulgaris*.

Таблица 2 – Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на санитарно-показательную микрофлору рубца

Время, сут	Варианты	БГКП			<i>Proteus vulgaris</i>
0	Контроль	+	+	+	+
	Вариант 1	+	+	+	+
	Вариант 2	+	+	+	+
1	Контроль	+	+	+	+
	Вариант 1	+	+	+	+
	Вариант 2	-	-	-	+
2	Контроль	+	+	+	+
	Вариант 1	+	+	+	+
	Вариант 2	-	-	-	+
3	Контроль	+	+	+	+
	Вариант 1	+	+	-	+
	Вариант 2	-	-	-	+
4	Контроль	+	+	+	+
	Вариант 1	+	-	+	+
	Вариант 2	-	-	-	+

Выводы

1. Из всех исследуемых образцов говяжьих субпродуктов 2 категории (легкое, селезенка, рубец) наибольшее микробное обсеменение наблюдалось у рубца. В данном субпродукте отмечалось и наибольшее содержание санитарно-показательных микроорганизмов.

2. Экзогенная молочнокислая ферментация не изменяла общее количество мезофильных аэробных

и факультативно анаэробных микроорганизмов, но приводила к повышению доли молочнокислых микроорганизмов при одновременном снижении доли и общего количества прочих микроорганизмов.

3. Исследованная молочнокислая ферментация снижала долю подавляла рост бактерий группы кишечной палочки и практически не оказывала влияние на *Proteus vulgaris*.

Литература

1. А.М.Кузнецов. Методы и критерии оценки свежести субпродуктов: легкие, язык, вымя, рубец. - Диссертация на соискание уч. ст. канд. вет. наук, специальность 16.00.06. – М. – 2008.
2. Ю.Г.Шукюрлу. Рациональное использование рубца – субпродукта II категории // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. - №4. – с.45-49.
3. В.Я.Пономарев, Э.Ш.Юнусов, Г.О.Ежкова, О.А.Решетник. Оценка качества колбасных изделий, выработанных с применением белковых гидролизатов // Вестник Казанского технологического университета. 2010. - № 9. - С. 590-594.
4. Р.Э.Хабибуллин, Х.Р.Хусаинова, Э.И.Минивалеева, О.А.Решетник. Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на функционально-технологические свойства говяжьих субпродуктов 2 категории. // Вестник Казанского технологического университета. - 2011. - № 16. С. 187-194.
5. Р.Э.Хабибуллин, М.С.Ежкова, Э.И.Минивалеева, О.А.Решетник. Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на микроструктуру говяжьих субпродуктов 2 категории // Вестник Казанского технологического университета. - 2011. № 15. - С. 189-194.
6. Р.Э.Хабибуллин, Х.Р.Хусаинова Э.И.Минивалеева, О.А.Решетник. Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на свойства мясных изделий с использованием говяжьих субпродуктов 2 категории// Вестник Казанского технологического университета. - 2011. - № 16. С. 203-209.
7. ГОСТ 10444.11-89 Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов.
8. ГОСТ Р 52816-2007. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)
9. ГОСТ 7702.2.7-95/ГОСТ Р 50396.7-92. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Метод выявления бактерий рода *Proteus*
10. ГОСТ 10444.9-88. Продукты пищевые. Метод определения *Clostridium perfringens*
11. ГОСТ Р 53665-2009. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Метод выявления сальмонелл.
12. ГОСТ Р 52674-2006. Мясо и субпродукты, замороженные в блоках, для производства продуктов питания детей раннего возраста

© Р. Э. Хабибуллин – к.т.н., доцент каф. технологии пищевых производств КНИТУ, hrustik@yandex.ru; Г. Ю. Яковлева – к.б.н., доцент каф. микробиологии К(П)ФУ; А. Р. Низамиева – студ. каф. микробиологии К(П)ФУ; С. А. Жакслыкова – асп. каф. технологии пищевых производств КНИТУ.