

Безопасность пищевых и кормовых субстратов в кормлении сельскохозяйственных животных*

А.В. Быков, к.т.н., **И.А. Гавриш**, аспирантка, **О.В. Кван**, к.б.н., **Л.А. Быкова**, к.т.н., **Л.В. Межуева**, д.т.н., профессор, **Н.А. Насыров**, соискатель, ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ

На сегодняшний день неоспоримым является утверждение, что хорошая сырьевая база — это залог успеха пищевой и животноводческой отрасли [1].

Ряд исследований, проведенных отечественными и зарубежными исследователями, показали, что кавитационная обработка растительного сырья и целлюлозосодержащих отходов позволяет задействовать широкий круг сырьевых ресурсов,

производить продукты с заданным составом и свойствами, используя полезные свойства отдельных компонентов, добиваться лучшей переваримости питательных веществ [2, 3].

Материал и методы исследования. Субстратами в исследовании выступали цеолит, фуз подсолнечный, отруби, мел.

В качестве объекта воздействия использовался сенсорный штамм *Escherichia coli* K12 TG1, конститутивно экспрессирующий *luxCDABE*-гены природного морского микроорганизма *Photobacterium leiognathi* 54D10 и выпускаемый под коммерческим

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ. Грант 18-316-00116

названием «Эколюм» (НВО «Иммунотех», Россия; ТУ 6-09-20-236-01). Подготовка тест-объекта включала его восстановление из лиофилизированного состояния добавлением 10 мл охлаждённой дистиллированной воды во флакон с лиофилизированными бактериями. Затем суспензию выдерживали в течение 30 мин. при температуре 2–4°С, периодически перемешивая.

Моделями микроорганизмов были выбраны штаммы *E. coli* 675 и *Bifidobacterium longum* В379М (БАД «Соя-бифидум», ООО «НПФ «Экобиос»).

Кавитационную обработку проводили с помощью ультразвукового диспергатора УЗД2-0,4/22. Количество бактерий, дрожжей и плесневых грибов в испытуемых образцах определяли в соответствии с ГОСТом 10444.15-94 Продукты пищевые.

Для постановки теста на динамику биолюминесценции тест-штамма использовали «Методику определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм» (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04 16.1:2.3:3.8-04)» и метод для анализа биотоксичности наноматериалов [4].

Результаты исследования. На первом этапе исследования был проведён бактериологический анализ исследуемых образцов, подвергшихся кавитационной обработке. Результаты количественного учёта мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) исследуемых образцов до и после обработки кавитацией в течение 15 мин. приведены в таблице 1.

1. Количественный учёт мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)

Опытный образец	КМАФАнМ, КОЕ/1 см ³
Вода, не обработанная кавитацией	роста нет
Вода, обработанная кавитацией	роста нет
Цеолит, не обработанный кавитацией	3,3×10 ⁴
Цеолит, обработанный кавитацией	1,1×10 ⁴
Фуз, не обработанный кавитацией	3,8×10 ⁴
Фуз, обработанный кавитацией	1,9×10 ⁴
Отруби, не обработанные кавитацией	1,1×10 ⁵
Отруби, обработанные кавитацией	1,0×10 ⁵
Отруби + цеолит, обработанные кавитацией	1,8×10 ⁵
Фуз + цеолит, обработанные кавитацией	5,1×10 ³
Мел, не обработанный кавитацией	роста нет
Мел, обработанный кавитацией	роста нет

Обработка кавитацией оказывает бактерицидное действие. Показано, что даже при 15 мин. экспозиции обсеменённость микроорганизмами ряда образцов снижается (в 1,1–35 раза) по сравнению с необработанными образцами, при этом увеличение длительности экспозиции пропорционально выраженности бактерицидного эффекта.

Так, КМАФАнМ в образцах № 3 и 5 после кавитации снизилось в 200 и 600 раз соответственно. Данный антибактериальный эффект основан на том, что при кавитационном воздействии на воду разрушаются коллоиды и частицы, внутри которых могут содержаться бактерии, микроорганизмы лишаются защиты перед другими химическими и физическими воздействиями кавитации [5–7]. При этом бактерицидное действие кавитации прямо пропорционально её интенсивности, кратности и времени обработки.

Следующим этапом работы стало изучение биолюминесцентной активности тест-штамма *Escherichia coli* K12 TG1 при воздействии испытуемых образцов. Установлено, что добавки с мелом оказывают ингибирующее действие на светимость тест-микроорганизма: необработанный мел подавляет активность биосенсора на 50% в концентрации 115 г/л спустя 1 ч. контакта, в то время как обработанный кавитацией мел ингибирует биолюминесценцию *E. Coli* K12 TG1 во всех исследуемых разведениях уже в первые минуты контакта.

Уровень биолюминесценции микроорганизмов при контакте с цеолитом оставался на уровне контроля, при контакте с обработанным цеолитом наблюдалось статистически незначимое снижение активности светимости бактерий. Остальные добавки стимулировали активность тест-штамма, что выражалось в превышении уровня биолюминесценции в десятки раз в сравнении с контролем.

Известно, что биолюминесцентные репортеры могут быть использованы для определения клеточной выживаемости под влиянием различных физико-химических факторов, при этом токсиканты ведут к биохимической инактивации клеточных процессов. Предполагается, что кавитационная обработка производит как стерилизационный эффект, так и инактивирующее действие на возможные токсиканты, присутствующие в анализируемой пробе [8–10]. Кроме того, кавитация приводит к расщеплению сложных молекул на простые, включая трофические компоненты, повышая их усвояемость микроорганизмами, что и выражается в увеличении интенсивности биолюминесценции бактерий. Например, в пробах с обработанным кавитацией подсолнечным фузом наблюдались более высокие показатели биолюминесценции. В то же время добавки, включающие преимущественно минеральные составляющие (мел, цеолит), под действием кавитации разбиваются на мельчайшие частицы, образуя мелкодисперсную систему. При этом уменьшение минеральных компонентов до микро- и наноразмера позволяет им сорбироваться на поверхности микробных клеток, что, возможно, при наличии токсических элементов нарушает биохимические процессы в клетке и приводит к снижению биолюминесценции микроорганизмом в сравнении с необработанным образцом в той же концентрации.

На следующем этапе исследования нами были оценены ростовые характеристики модельных штаммов микроорганизмов по показателю светопоглощения при инкубации с исследуемыми добавками в течение 120 мин. Модификацию роста бактерий в опыте определяли по разнице оптической плотности (ОП) опытной и контрольных проб с учётом светопоглощения исследуемых добавок. При работе со штаммом *E. Coli* 675 в течение первого часа инкубации со всеми образцами отмечался рост кишечной палочки в среднем на 15–20% в сравнении с контролем, за исключением пробы с образцом № 4, в которой ОП культуры оставалась на уровне контроля. Спустя 60 мин. в пробах с добавками № 1, 3 наблюдался рост тест-микроорганизма (на 47 и 39% соответственно выше контроля), в то же время для проб с добавками № 2, 4 выявлено снижение ОП в сравнении с уровнем контрольного образца на 26 и 29% соответственно.

Получены данные изменения ОП *Bifidobacterium longum* В379М при внесении изучаемых кормовых добавок. Во всех пробах с исследуемыми добавками наблюдался рост данного микроорганизма выше контрольного. В течение первых 60 мин. происходило нарастание ОП культуры в опытных пробах в следующей последовательности: 1 → 3 → 4 → 2 соответственно в 2; 2,5; 3 и 3,5 раза по отношению к контролю. Затем отмечалась стабилизация роста микроорганизмов в пробах № 1 и 4, в то время как оцениваемый показатель в пробах № 2 и 3 снизился на 65 и 13% соответственно. Однако показатели ОП всех опытных проб оставались также на уровне выше контроля. При этом ОП культуры в пробе № 3 превышала ОП тест-штамма в пробе № 1 в течение всего опытного периода, а в пробе № 4 оказалась выше, чем в пробе № 2, только к завершению эксперимента.

Обсуждая полученные результаты, обратим внимание на то, что для своего развития бифидобактерии требуют наличия витаминов, чем и объясняется в значительной степени влияние на их рост добавок различных растительных экстрактов (картофеля, моркови, кукурузы, томатов), мясного и дрожжевого экстрактов, белковых гидролизатов и др. К тому же для нормального роста и развития *Bifidobacterium* требуется ряд неорганических соединений меди, железа, натрия, калия, фосфора, йода, серы, магния и особенно марганца, которые в свою очередь являются макро- и микроэлементами. Например, использованный в работе фуз является источником витаминов, белков, жиров, фосфора и других полезных веществ.

Выводы. В ходе проведённого исследования было установлено:

1) кавитационная обработка снижает обсеменённость микроорганизмами ряда образцов (в 1,1–35 раза) даже при 5 мин. по сравнению с необработанными образцами, при этом увеличение длительности экспозиции пропорционально выработке бактерицидного эффекта;

2) при установлении биолюминесцентного отклика репортерного тест-штамма получено, что кавитационная обработка органических веществ ведёт к увеличению интенсивности биолюминесценции, так как наблюдается стерилизационный эффект и инактивация возможных токсикантов, присутствующих в анализируемой пробе, при этом сложные молекулы распадаются на простые, повышая их усвояемость микроорганизмами. В то же время минеральные добавки под действием кавитации уменьшают размеры до микро- и наноразмера, что позволяет им сорбироваться на поверхности микробных клеток, что, возможно, нарушает биохимические процессы в клетке и приводит к снижению биолюминесценции;

3) вода и цеолит, обработанные кавитацией, угнетали рост *E. Coli* 675, в то время как рост *Bifidobacterium longum* В379М к концу эксперимента был выше контрольных значений.

Литература

- Lee K. et al. Prevalence of foodborne pathogens in pig and cattle carcass samples collected from Korean slaughterhouses // World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Animal and Veterinary Sciences. 2017. Т. 4. №. 12.
- Sell-Kubiak E. et al. Genetic aspects of feed efficiency and reduction of environmental footprint in broilers: a review // Journal of applied genetics. 2017. Т. 58. №. 4. С. 487–498.
- Wu F.F. et al. Research progress of applications of ultrasonic technology in food industry // Journal of Food Safety and Quality. 2017. Т. 8. №. 7. С. 2670–2677.
- J. et al. Quantitative assessment of reactive oxygen sonochemically generated by cavitation bubbles // Japanese Journal of Applied Physics. 2015. Т. 54. №. 7S1. С. 07HF21.
- Zhang Y. et al. A review of microscopic interactions between cavitation bubbles and particles in silt-laden flow // Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2016. Т. 56. С. 303–318.
- Анискевич О.Н. Изменение технологических свойств воды при обработке ультразвуком // Пищевая промышленность: наука и технологии. 2013. № 2. С. 44–49.
- Быков А.В. и др. Перспективы использования кавитационного гидролиза некрахмальных полисахаридов // Вестник Оренбургского государственного университета. 2011. № 4 (123).
- Дерябин Д.Г. и др. Исследование механизмов антибактериальной активности наночастицы меди в тестах на люминесцирующих штаммах *Escherichia coli* // Российские нанотехнологии. 2013. Т. 8. № 5–6. С. 113–118.
- Кирнос И.О. и др. Адаптивная система кормления – решающий фактор в реализации генетического потенциала продуктивности коров // Зоотехния. 2011. № 9. С. 9–11.
- Петрова О.Г., Барашкин М.И., Макаримов А.С. Причины болезней высокопродуктивных коров // Аграрный вестник Урала. 2013. № 1. С. 28–30.