

Научная статья

УДК 637.5.04.07

doi: 10.37670/2073-0853-2021-87-1-221-225

Сравнительная оценка содержания микробной контаминации в мясе под влиянием различных режимов криообработки и дефростации в процессе хранения

Ольга Ярославовна Соколова¹, Марина Викторовна Фомина¹, Елена Алексеевна Михайлова¹, Ольга Олеговна Жеребятёва¹, Елена Владимировна Бибарцева¹, Татьяна Алексеевна Фатеева¹, Елена Викторовна Лискова¹, Айтен Фикрет кызы Гараева¹, Дмитрий Александрович Бреус²

¹ Оренбургский ГМУ

² Оренбургская облветлаборатория

Аннотация. Актуальной задачей сельского хозяйства на сегодняшний день является обеспечение качества и эпидемиологической безопасности мяса. Проведено исследование по сравнительной оценке содержания микробной контаминации мяса под влиянием различных режимов криообработки и дефростации в процессе хранения. В ходе лабораторного исследования установлено, достоверно значимое преобладание степени бактериальной обсеменённости (КМАФАнМ) в образцах после медленного замораживания на 10-е, 30-е и 75-е сутки хранения – 0,76; 0,97 и 0,74 КОЕ ($P < 0,05$) соответственно, что на 47,1; 35,0 и 37,9 % больше по сравнению с образцами после быстрого замораживания – 0,60; 0,63 и 0,46 КОЕ ($P < 0,05$). Линейный рост микробного пейзажа в процессе хранения образцов напрямую был связан с концентрацией жизнеспособных (активных) микроорганизмов в начальном периоде. На 30-е сутки эксперимента число колоний повысилось на 21,7 и 4,8 %, а на 75-е сутки происходило снижение исследуемого показателя на 23,4 и 27,0 % в образцах после медленного и быстрого режима криообработки. Установлено ступенчатое снижение БГКП (коли-формы) в 1,9 и 5,6 раза на фоне возрастающего периода хранения (30-е и 75-е сутки) соответственно, данные носили достоверный характер ($P < 0,05$). При сравнении двух режимов дефростации (медленная и быстрая, длительность 1 и 3 суток соответственно) установлено повышение числа колоний МАФАнМ и БГКП (коли-форм) в 1,12 и 1,24 раза соответственно в образцах после медленной заморозки, и 3,3 и 3,2 раза соответственно – в образцах после быстрой заморозки, тем самым демонстрируя более выраженный повреждающий фактор после быстрого режима криообработки исследуемых образцов.

Ключевые слова: эпидемиологическая безопасность мяса, криообработка, дефростация, режимы.

Для цитирования: Сравнительная оценка содержания микробной контаминации в мясе под влиянием различных режимов криообработки и дефростации в процессе хранения / О.Я. Соколова, М.В. Фомина, Е.А. Михайлова [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2021. № 1 (87). С. 221–225. doi: 10.37670/2073-0853-2021-87-1-221-225.

Original article

Comparative assessment of the content of microbial contamination in meat under the influence of various modes of cryoprocessing and defrosting during storage

Olga Ya. Sokolova¹, Marina V. Fomina¹, Elena A. Mikhailova¹, Olga O. Zherebyateva¹, Elena V. Bibartseva¹, Tatiana A. Fateeva¹, Elena V. Liskova¹, Ayten Garaeva¹, Dmitry A. Breus²

¹ Orenburg State Medical University

² Orenburg Regional Veterinary Laboratory

Abstract. The urgent task of agriculture today is to ensure the quality and epidemiological safety of meat. A study was carried out to compare the content of microbial contamination of meat under the influence of various modes of cryoprocessing and defrosting during storage. In the course of laboratory research, it was established that a reliably significant predominance of the degree of common bacterial contamination of the samples after slow freezing on the 10th, 30th and 75th days of the storage was 0.76; 0.97 and 0.74 CFU ($P < 0.05$), respectively. It were by 47.1%; 35.0% and 37.9% more compared to samples after quick freezing – 0.60; 0.63 and 0.46 CFU ($P < 0.05$). The linear growth of the microbial landscape during storage of the samples was directly related to the concentration of viable (active) microorganisms in the initial period, so on the 30th day of the experiment the number of colonies increased by 21.7% and 4.8%, and on the 75th day there was a decrease in the studied indicator by 23.4% and 27.0% in the samples after slow and fast cryo-treatment, respectively. A stepwise decrease coliforms microorganisms by 1.9 and 5.6 times were established against the background of an increasing storage period (30th and 75th days), respectively, the data were reliable ($P < 0.05$). When comparing two modes of defrosting (slow and fast, duration 1 and 3 days, respectively) were shown an increase in the number common bacterial contamination and the colonies of coliforms microorganisms were found by 1.12 and 1.24 times, respectively, in samples after slow freezing, by 3.3 and 3.2 times, respectively, in the samples after rapid freezing, thereby demonstrating a more pronounced damaging factor after fast cryo-treatment of the samples under study.

Keywords: epidemiological safety of the meat, the modes of cryoprocessing and defrosting.

For citation: Comparative assessment of the content of microbial contamination in meat under the influence of various modes of cryoprocessing and defrosting during storage. Sokolova O.Y., Fomina M.V., Mikhailova E.A. et al. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2021; 87(1): 221–225. (In Russ.). doi: 10.37670/2073-0853-2021-87-1-2218-225.

В настоящее время актуальными задачами сельского хозяйства являются обеспечение качества и эпидемиологической безопасности мяса. Мясо – благоприятная среда для размножения и сохранения жизнеспособности патогенной микрофлоры. Микробные контаминанты в мясо проникают эндо- и экзогенными путями, вызывая порчу продукта, при употреблении которого повышается риск возникновения пищевой токсикоинфекции различной этиологии в организме человека. В современных условиях актуальным способом консервирования и хранения мяса является криообработка, оказывающая неоднозначное влияние на скорость обмена веществ в микробных клетках, вызывая их гибель или состояние анабиоза [1–6].

В этом отношении изучение числа и видового состава микроорганизмов, характеризующихся различной термотолерантностью в условиях низких температур, представляет большое значение для достижения санитарного благополучия мяса. В связи с этим задачами начального этапа исследования и его **целью** являются: 1. Проведение лабораторного исследования на содержание колоний МАФАНМ, бактерий рода *L. monocytogenes* и БГКП (коли-формы) в образцах мяса (свинины) после медленного и быстрого режимов криообработки и дефростации в процессе хранения. 2. Сравнительная оценка содержания колоний МАФАНМ, бактерий рода *L. monocytogenes* и БГКП (коли-формы) в образцах мяса (свинины) после медленного и быстрого режимов криообработки и дефростации в процессе хранения.

Материал и методы. Материалом для исследования являлись образцы мяса (свинины) отечественного производства после медленного и быстрого режимов криообработки. Пробоотбор мяса свинины проводили в соответствии с ГОСТом Р 54354-2011. Бактериологический контроль осуществляли методом смывов с поверхностных слоёв образца, согласно нормативным требованиям [7–9]. В исследованиях использовались образцы мяса свинины после различных температурно-скоростных режимов криообработки и дефростации, в частности: медленное замораживание – температура –18...–23 °С, длительность процесса 40 час., скорость замораживания 1,0 см/час; быстрое замораживание – температура –30...–35 °С, длительность процесса 18 час., скорость замораживания 20,0 см/час; медленная дефростация – при температуре от 0 до 8 °С, длительность процесса 3 сут.; быстрая дефростация – при температуре от 20 до 25 °С, длительность процесса 1 сут. [7]. Тест-культурами криоиндикации являлись колонии

МАФАНМ, бактерии рода *L. monocytogenes* – психротрофы и БГКП (коли-формы) – мезофиллы, неспорообразующие палочки. Количественный и видовой состав исследуемых микроорганизмов учитывали методом микроскопического анализа с применением специальных селективных питательных сред обогащения Эндо, а также тестов типирования: окисление – ферментация, оксидазная активность, подвижность и др. [7–9].

Полученные показатели исследования были статистически обработаны с помощью пакета программ Microsoft Excel 2013, Primer of Biostatistics 4.03. Для расчёта достоверности различий полученных данных применяли *t*-критерий Стьюдента – Фишера по Г.Ф. Лакину.

Результаты исследования. Основными критериями выживаемости микроорганизмов и сохранения потенциала вирулентности межбактериального матрикса в неблагоприятных условиях является феномен биоплёнкообразования, способствующий переходу бактерий в некультивированные термотолерантные формы. Интенсивность образования микробных биоплёнок (конгломерат микробных ассоциаций) в условиях низких температур зависит от температуры воздуха, скорости замораживания и длительности процесса криообработки мясной системы. В условиях низких температур биоплёнка микробных клеток обладает криопротекторными свойствами по отношению к бактериям рода *L. monocytogenes* и БГКП (коли-формы), оказывая влияние на адаптационные и обменные процессы микробного пейзажа. Ведущим фактором механической деструкции микробных клеток при замораживании мясной системы ниже криоскопической точки мясного сока (–0,6 °С) является образование внутри- и внеклеточных ледяных кристаллогидратов, разрывающих клеточную мембрану и приводящих к энзиматической дегградации, дегидратации внутренних компонентов микробных клеток и, как следствие, их гибели. В исследованиях последних лет привлекает внимание изучение роста микробных биоплёнок патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Так, В.А. Annous (2009) [5] показал, что микробные биоплёнки являются триггерным фактором хронизации инфекций.

Необходимо отметить, что по органолептическим показателям состояние исследуемых образцов мяса (свинины) являлось удовлетворительным и соответствовало норме свежего мяса, взятого от здоровых животных [10].

Для оценки содержания общего микробного числа в замороженных образцах мяса (свинины) после медленного и быстрого режимов крио-

обработки было проведено лабораторное исследование. Результаты исследования по содержанию КМАФАнМ представлены в таблице 1.

В процессе проведения лабораторного исследования было установлено достоверно значимое преобладание КМАФАнМ в образцах после медленного замораживания на 10-е, 30-е и 75-е сутки хранения – 0,76; 0,97 и 0,74 КОЕ ($P < 0,05$) соответственно, что было на 47,1; 35,0 и 37,9 % больше по сравнению с образцами после быстрого замораживания – 0,60; 0,63 и 0,46 КОЕ ($P < 0,05$). Обоснование необходимости проведения лабораторного исследования основано на оценке биологического действия различных температурно-скоростных режимов криообработки образцов при хранении с постоянной величиной холодовой инкубации ($-12\text{ }^{\circ}\text{C}$) от 1 до 75 суток на содержание КМАФАнМ. Полученный фактический материал позволяет сделать вывод о тесной связи между содержанием микроорганизмов и температурно-скоростными режимами криообработки. При этом следует отметить, что быстрый режим криообработки оказывает выраженный ингибирующий эффект в отношении КМАФАнМ на поверхности исследуемых образцов, в то время как в глубинных слоях регистрируется криоконсервация исследуемых микроорганизмов с сохранением их жизнеспособности.

Линейный рост микробного пейзажа в процессе хранения образцов напрямую связан с концентрацией жизнеспособных (активных) микроорганизмов в начальном периоде. Так, на 30-е сутки эксперимента число колоний повысилось на 21,7 и 4,8 %, а на 75-е сутки произошло снижение исследуемого показателя на 23,4 и 27,0 % в образцах после медленного и быстрого режима криообработки соответственно.

Далее нами были изучено содержание клинически значимых микроорганизмов, имеющих

неодинаковые температурные пределы роста. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Проводимый сравнительный анализ полученных экспериментальных данных позволяет с высокой долей уверенности утверждать о наличии достаточно прочной тенденции снижения содержания числа колоний исследуемых бактериальных культур в образцах, подвергнутых быстрому замораживанию, по отношению к образцам после медленного замораживания. Так, для образцов после медленного замораживания доля числа колоний БГКП (коли-формы) на 10-е, 30-е и 75-е сутки хранения была в среднем на 6,5; 21,6 и 29,5 % больше, чем для образцов после быстрого замораживания, данные носили достоверный характер ($P < 0,05$). Преобладающим соотношением обладали холодоустойчивые мезофилы (БГКП (коли-формы), психротрофные сапрофиты (*L. monocytogenes*) не обнаружены.

Эксплозивный (резко ускоренный) рост бактерий в образцах после дефростации зависит от ряда факторов: температурно-скоростных режимов замораживания образцов и размеров ледяных кристаллогидратов, состояния и количества микробных клеток, родовой принадлежности, наличия спор и биопленчатой глубинной микрофлоры. Дефростация после криоконсервации является важной стадией, определяющей выживание клеток. Результат остаточной микрофлоры в образцах представлен в таблице 3.

Полученные данные подтверждают закономерность, что величина потеря мясного сока при дефростации замороженных образцов влияет на интенсивность размножения бактерий. Так, в образце после быстрого замораживания содержание КМАФАнМ и БГКП (коли-формы) снизилась, в частности, на 1-е сутки на 50,5 и 38,1 % и на 3-и сутки – на 50,0 и 46,2 %.

1. Среднее содержание КМАФАнМ в замороженных образцах мяса (свинины), 10^4 КОЕ/г (см^3) ($n = 7$; $X \pm Sx$)

Температура хранения образца, $^{\circ}\text{C}$ / режим криообработки	Количество микроорганизмов на 1 см^3 с поверхностных смывов образца после		
	10 суток	30 суток	75 суток
-12 / медленное замораживание	$0,76 \pm 0,2^*$	$0,97 \pm 0,2$	$0,74 \pm 0,2$
-12 / быстрое замораживание	$0,60 \pm 0,3^*$	$0,63 \pm 0,2$	$0,46 \pm 0,1$

Примечание: * $P < 0,05$ для различий с образцом на 10-е сутки хранения.

2. Среднее содержание микробных контаминантов в замороженных образцах мяса (свинины), 10^4 КОЕ/г (см^3) ($n = 7$; $X \pm Sx$)

Температура хранения образца, $^{\circ}\text{C}$ / режим криообработки	Количество микроорганизмов на 1 см^3 с поверхностных смывов образца после					
	10 суток		30 суток		75 суток	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	БГКП (коли-формы)	<i>Listeria monocytogenes</i>	БГКП (коли-формы)	<i>Listeria monocytogenes</i>	БГКП (коли-формы)
-12 / медленное замораживание	0	$0,93 \pm 0,1^*$	0	$0,51 \pm 0,3$	0	$0,17 \pm 0,7$
-12 / быстрое замораживание	0	$0,87 \pm 0,5^*$	0	$0,40 \pm 0,1$	0	$0,12 \pm 0,4$

Примечание: * $P < 0,05$ для различий с образцом на 10-е сутки хранения.

3. Среднее содержание остаточной микрофлоры в образцах мяса свинины после медленного и быстрого замораживания, под влиянием дефростации, 10^4 КОЕ/г (см^3) ($n=7$; $X \pm Sx$)

Образцы	Количество микроорганизмов на 1 см^3 с поверхностных смывов образца после					
	1 суток			3 суток		
	КМАФАнМ	<i>L. monocitogenes</i>	БГКП (коли-формы)	КМАФАнМ	<i>L. monocitogenes</i>	БГКП (коли-формы)
Медленное замораживание	$0,85 \pm 0,4$	0	$0,21 \pm 0,7$	$0,94 \pm 0,4$	0	$0,26 \pm 0,7$
Быстрое замораживание	$0,42 \pm 0,1$	0	$0,13 \pm 0,4$	$0,47 \pm 0,1$	0	$0,14 \pm 0,4$

Примечание: полученные результаты носили недостоверный характер.

При медленном замораживании мяса образуются крупные кристаллы льда, обеспечивающие активные потери мясного сока, являющегося хорошим питательным субстратом для роста и размножения хемоорганогетеротрофных микроорганизмов, что в свою очередь способствует снижению качественных характеристик и биологической безопасности мяса.

Выводы

1. В процессе проведения лабораторного исследования было установлено достоверно значимое преобладание КМАФАнМ в образцах после медленного замораживания на 10-е, 30-е и 75-е сутки хранения – $0,76$; $0,97$ и $0,74$ КОЕ ($P < 0,05$) соответственно, что на $47,1$; $35,0$ и $37,9$ % больше по сравнению с образцами после быстрого замораживания – $0,60$; $0,63$ и $0,46$ КОЕ ($P < 0,05$).

2. Линейный рост микробного пейзажа в процессе хранения образцов напрямую связан с концентрацией жизнеспособных (активных) микроорганизмов в начальном периоде; так, на 30-е сутки эксперимента число колоний повышается на $21,7$ и $4,8$ %, а на 75-е сутки происходит снижение исследуемого показателя на $23,4$ и $27,0$ % в образцах после медленного и быстрого режима криообработки соответственно.

3. В ходе проведения лабораторного исследования на содержание клинически значимых микроорганизмов, имеющих неодинаковые температурные пределы роста, установлено ступенчатое снижение БГКП (коли-формы) на 30-е и 75-е сутки в $1,9$ и $5,6$ раза соответственно, данные носили достоверный характер ($P < 0,05$).

4. При сравнении двух режимов дефростации (медленная и быстрая, длительность 1 и 3 суток соответственно) установлено повышение числа колоний МАФАнМ и БГКП (коли-формы).

Степень повышения составила $1,12$ и $1,24$ раза соответственно – в образцах после медленной заморозки, и $3,3$ и $3,2$ раза соответственно – в образцах после быстрой заморозки, тем самым демонстрируя более выраженный повреждающий фактор после быстрого режима криообработки образца.

Литература

1. Татарникова Н.А., Мауль О.Г. Патогенная микрофлора мяса и мясных продуктов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. № 1 (51). С. 87–89.
2. Араздурдыева Ю.А. Исследование микрофлоры мяса при различных режимах хранения // Инновационная наука. 2018. № 3. С. 13–14.
3. Салата В.З. Микробиологические показатели замороженной говядины во время хранения // Научный вестник Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологий им. С.З. Гжицкого. 2017. № 82. С. 25–29.
4. Бабинцева А.Ю., Телятникова Н.В. Микрофлора мяса // Молодёжь и наука Уральского аграрного университета. 2016. № 8.
5. Annous B.A., Fratamico P.M., Smith J.L. Quorum sensing in biofilms: why bacteria behave the way do // J. of food science. 2009, V. 74(1). P. 24–37.
6. Bhaduri S., Wesley I.V., Bush E.J. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains in pigs in the United States // Appl. Environ. Microbiol. 2005. № 11. P. 7117–7121.
7. ГОСТ 32031–2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria Monocytogenes*. Введ. 2014.07.01. М.: Стандартинформ, 2014.
8. ГОСТ 31747–2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). Введ. 2013.07.01. М.: Стандартинформ, 2013
9. ГОСТ 10444.15–94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Введ. 1996.01.01. М.: Стандартинформ, 1996.
10. ГОСТ 9959–2015. Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки (с Поправкой). Введ. 2017.01.01. М.: Стандартинформ, 2015.

Ольга Ярославовна Соколова, кандидат биологических наук, доцент. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, sokolovaolga.1977@mail.ru

Марина Викторовна Фомина, кандидат медицинских наук, доцент. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, fomina_m.v@mail.ru

Елена Алексеевна Михайлова, доктор биологических наук, доцент. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, k_microbiology@orgma.ru

Ольга Олеговна Жеребятьева, кандидат медицинских наук, доцент. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, lelanaalekseevna@yandex.ru

Елена Владимировна Бибарцева, кандидат медицинских наук, доцент. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, l.vladi2010@yandex.ru,

Татьяна Алексеевна Фатеева, кандидат медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, taniafateeva@list.ru

Елена Викторовна Лискова, кандидат медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, e-liskova@bk.ru

Дмитрий Александрович Бреус, директор. ГБУ «Оренбургская облветлаборатория». Россия, 460018, Оренбург, ул. Пикетная, 45, breus1980@mail.ru

Айтен Фикрет кызы Гараева, соискатель, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет». Россия, 460000, г. Оренбург, ул. М. Горького, 45, ayten.garaeva@gmail.com

Olga Ya. Sokolova, Candidate of Biology, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, sokolovaolga.1977@mail.ru

Marina V. Fomina, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, fomina_m.v@mail.ru

Elena A. Mikhailova, Doctor of Biology, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, k_microbiology@orgma.ru

Olga O. Zherebyatieva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, lelanaalekseevna@yandex.ru;

Elena V. Bibartseva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, l.vladi2010@yandex.ru,

Tatyana A. Fateeva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, taniafateeva@list.ru

Elena V. Liskova, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, e-liskova@bk.ru

Dmitry A. Breus, Director. Orenburg Regional Veterinary Laboratory. 45, Piketnaya St., Orenburg, 460018, Russia, breus1980@mail.ru

Ayten Garaeva, research worker. Orenburg State Medical University. 45, M. Gorky St., Orenburg, 460000, Russia, ayten.garaeva@gmail.com