

КОЛЕСНИКОВ ПАВЕЛ СЕРГЕЕВИЧ

**УСКОРЕННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СВЕЖЕСТИ МЯСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОСЕНСОРНОГО
АНАЛИЗАТОРА**

16.00 06 – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена
и ветеринарно-санитарная экспертиза.

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата ветеринарных наук

Москва – 2005 г.

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИВСГЭ РАСХН).

Научный руководитель: кандидат ветеринарных наук,
Николай Александрович Шурдуба
(ГНУ ВНИИВСГЭ).

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Виктор Андреевич Долгов
(ГНУ ВНИИВСГЭ);
кандидат ветеринарных наук, профессор
Михаил Фёдорович Боровков, (МГАВМиБ)

Ведущая организация: Московский Государственный Университет
Прикладной Биотехнологии (МГУПБ)

Защита состоится «__» _____ 2005 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 006.008.01 при ГНУ Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной санитарии, гигиены и экологии по адресу: 123022, Москва, Звенигородское шоссе, д. 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной санитарии, гигиены и экологии.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2005г.

Ученый секретарь

диссертационного совета, канд биол. наук

Е.С. Майстренко

2006.4
19813

2179189

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время в нашей стране и во всем мире большое значение занимает проблема качества продуктов животного происхождения. Это вызвано возрастающим влиянием техногенных факторов на окружающую среду, сельскохозяйственные культуры и продуктивных животных.

Одним из основных показателей качества мяса является его свежесть. Существующие традиционные методы определения свежести мяса (ГОСТ 7269-79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести») несмотря на достаточно длительную практику их применения, в целом малопродуктивны, субъективны, не отличаются высокой чувствительностью и специфичностью. Именно поэтому рядом исследователей (Колоболоцкий Г.В., 1960; Бутко М.П., 1968; Орешкин Е.Ф., 1991; Костенко Ю.Г. 2002) указывается на необходимость комплексного учёта всех происходящих в мясе изменений (органолептических, физико-химических, биохимических, морфологических), что позволяет дать реальную характеристику степени его свежести.

Актуальным является также вопрос приборной реализации методов, получения количественных характеристик изучаемых параметров, что повышает объективность результатов измерений и позволяет проводить метрологическую аттестацию методик, предусмотренную существующим ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений». В отношении методов определения свежести мяса этот вопрос до сих пор остаётся открытым.

В настоящее время весьма перспективным являются биосенсорные методы анализа, которые позволяют с высокой специфичностью и чувствительностью, быстро определять химические вещества в биологических материалах. Наряду с этим биосенсорные анализаторы портативны, относительно дешевы и могут быть использованы в автоматическом режиме. С помощью биосенсоров можно определять патогенные



микроорганизмы, биогенные амины, гормоны, пестициды и другие органические и неорганические вещества (Davis G., 1985; Turner A.P.F., 1988; Tran Minh C., 1993).

Широкое использование биосенсорных анализаторов в ветеринарно-санитарной экспертизе сдерживается отсутствием доступных приборов и утверждённых методов анализа биологического материала.

По данным Смороднищева И А (1952), Павловского П Е. (1975) и других, свежее охлажденное мясо убойных животных содержит определённое количество углеводов (гликогена и глюкозы), белков, жиров и других веществ. При нарушении температурных режимов хранения мяса под влиянием микрофлоры и автолитических процессов уменьшается содержание этих веществ, и образуются вредные продукты распада.

В этой связи при ветсанэкспертизе определённую помощь оказали бы соответствующие биосенсорные анализаторы, которые могли бы быстро и точно устанавливать концентрацию искомым веществ. К сожалению, на данный момент не разработаны нормативы содержания веществ в мясе различной степени свежести. В мясе одним из ведущих энергетических субстратов для роста и развития микроорганизмов является глюкоза, по степени её убыли можно судить о происходящих процессах порчи.

Цель и задачи исследований. Целью работы являлась разработка ускоренного метода определения свежести мяса на основе использования амперометрического глюкозного биосенсорного анализатора.

В задачи исследований входило:

1. Разработать методические подходы к определению глюкозы в мясе убойных животных с помощью биосенсорного анализатора.
2. Изучить содержание глюкозы в мясе убойных животных в зависимости от топографии взятия образца и глубины исследуемого слоя.
3. Определить взаимосвязь уровня глюкозы в мясе убойных животных, его бактериальной обсеменённости и степени свежести.

4. Определить количественные уровни содержания глюкозы в мясе, которые можно использовать в качестве критериев его свежести.

5. Разработать методические рекомендации по ускоренному определению свежести мяса с использованием биосенсорного анализа.

Научная новизна. Впервые предложен метод биосенсорного анализа свежести мяса, основанный на определении концентрации глюкозы.

Изучена динамика изменения уровня глюкозы в охлажденной и замороженной говядине, свинине и баранине в зависимости от степени свежести.

Изучены концентрация глюкозы и распространение санитарно значимых микроорганизмов в тушах убойных животных в зависимости от топографии взятия пробы.

Определены уровни глюкозы и общей бактериальной контаминации охлажденного и замороженного мяса различной степени свежести в зависимости от глубины слоя исследуемого образца.

Установлена зависимость между количеством глюкозы, уровнем микробной контаминации и степенью свежести охлажденного и замороженного мяса убойных животных

Практическая ценность работы. На основании результатов исследований разработаны «Методические рекомендации по определению свежести мяса с использованием метода биосенсорного анализа» (утверждены Отделением ветеринарной медицины РАСХН, 2004 г.).

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на:

- 4-ой Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и ветеринарно-санитарного контроля сельскохозяйственной продукции» (Москва, 2002 г.);

- 5-ой Международной научно-технической конференции «Пища Экология. Человек» (Москва, 2003 г.);
- XII Международном Московском конгрессе по болезням мелких домашних животных (Москва 2004 г.);
- 5-ой Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарного контроля и биологической безопасности сельскохозяйственной продукции» (Москва, 2004 г.)

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 научных статей.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 150 стр. машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Список литературы включает 130 источников (46 отечественных и 84 зарубежных авторов). Работа иллюстрирована 30 таблицами.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследований.

Диссертационная работа проводилась в период с 2002 по 2005 гг. в отделе технического регулирования, стандартизации и сертификации ВНИИВСГЭ, а также в лаборатории ветсанэкспертизы Орехово-Зуевского городского Центрального рынка. Диссертационная работа выполнена на основании плана научно-исследовательских работ ВНИИВСГЭ и является частью темы 05.02.01.29.2. Образцы охлажденного мяса отбирали на мясоперерабатывающем заводе ООО «Алгер» (г Егорьевск, Московской области) и убойном пункте совхоза «Озерецкий» Орехово-Зуевского района Московской области.

Материалом для исследований являлось охлаждённое и замороженное мясо убойного скота (говядина, свинина и баранина).

По вопросу изучения концентрации глюкозы и санитарно-микробиологических показателей мяса различной степени свежести было исследовано 147 образцов говядины, 181 образец свинины и 96 образцов баранины.

Отбор образцов мяса и определение свежести проводили согласно действующего ГОСТа 7269-79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести».

Определение КМАФАнМ, БГКП, бактерий рода *Salmonella* проводили по действующим ГОСТам, а бактерий *Listeria monocytogenes* в соответствии с методическими указаниями Минздрава. Санитарно-микробиологические исследования проводили в зависимости от глубины слоя мяса.

В работе использовали биосенсорный анализатор БИОЛАК (производство ГНЦ НИИ прикладной микробиологии, г. Оболенск, Московской области). В качестве биологически чувствительного элемента использовался глюкозооксидазный биомодуль.

Для моделирования разной степени свежести образцы свежего охлаждённого мяса хранили в холодильнике при температуре ($8,0 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$) и влажности 80-85 % в течение 10 - 14 дней. Через каждые 1-2 дня для проведения исследований отрезали куски массой не менее 200 г. Затем пробу испытывали органолептически, подтверждая результаты с помощью мазков-отпечатков и пробой с сернокислой медью. Параллельно исследуемые образцы подвергали микробиологическому и биосенсорному анализу.

В опытах по исследованию различной степени свежести замороженного мяса поступали следующим образом. Отобранный на мясокомбинате образец свежего мяса делили на три равные части массой не менее 200 г. Один образец замораживали сразу при температуре -18°C . Остальные образцы хранили при температуре $8-10^{\circ}\text{C}$ до проявления

признаков сомнительной свежести и несвежего. Затем эти образцы замораживали при температуре -18°C и хранили в течение 20-30 суток. Размораживание мяса проводили через 1-2 дня при комнатной температуре в течение 2,5-3,0 часов и затем исследовали несколькими методами.

Результаты исследований

1. Разработка метода подготовки проб для биосенсорного анализа свежести мяса.

Анализируя существующие методы пробоподготовки при исследовании мяса на свежесть, мы пришли к выводу, что стандартный метод не подходит для биосенсорного анализа глюкозы, так как при приготовлении экстракта производится разбавление образца мяса в 5 раз, к тому же получаемые большие объёмы экстракта (80 мл) для биосенсорного анализа не требуются.

Нами был отработан метод подготовки проб мяса для биосенсорного анализа с применением ручного механического пресса, суть которого заключается в асептическом выдавливании мясного сока из кусочка исследуемого мяса массой 5-7 г. Было установлено, что для определения концентрации глюкозы в исследуемом мясе с помощью амперометрического биосенсора требуется всего лишь 20 мкл мясного сока. При этом выделяющегося мясного сока при использовании пресса в количестве 0,8-1,2 мл вполне достаточно для определения уровня глюкозы в исследуемом мясе в 3-5 кратной повторяемости.

Результаты сравнительного определения концентрации глюкозы при различной пробоподготовке приведены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что, независимо от способа подготовки пробы, концентрация глюкозы, определяемая биосенсорным анализатором в мясном соке и мясном экстракте, практически одинакова и имеет высокий коэффициент корреляции. Вместе с этим установлено, что способ,

закрывающийся в исследовании мясного сока, менее трудоёмок и в этой связи более предпочтителен для биосенсорного анализа

Таблица 1

**Сравнительное определение концентрации глюкозы
в образцах свежего охлажденного мяса
при различной подготовке проб (n=20)**

Вид мяса и место отбора образца на туше	Определение концентрации глюкозы с помощью биосенсора, мг/мл		Коэффициент корреляции (R)
	Мясной водный экстракт (1:5)	Мясной сок	
Говядина:			
У зареза	0,92±0,04	4,50±0,09	0,91
В области лопатки	1,03±0,04	5,20±0,12	0,98
В области бедра	0,99±0,05	5,10±0,11	0,96
Свинина:			
У зареза	1,01±0,06	5,10±0,08	0,96
В области лопатки	1,12±0,05	5,70±0,09	0,98
В области бедра	1,08±0,06	5,60±0,10	0,96
Баранина:			
У зареза	0,85±0,04	4,40±0,09	0,92
В области лопатки	0,96±0,06	4,90±0,12	0,98
В области бедра	0,93±0,06	4,85±0,11	0,94

Следующим этапом нашей работы было определение чувствительности биосенсорного метода. Для этого были проведены эксперименты на серийных разведениях глюкозы в стерильной дистиллированной воде.

Результаты проведённых исследований представлены в таблице 2.

Анализ результатов проведённых исследований позволил установить, что чувствительность биосенсорного анализатора составляет 0,01 мг/мл.

Для определения специфичности биосенсорного анализатора нами были проведены опыты по испытанию различных растворов с помощью биосенсора. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Анализ результатов, представленных в таблице 3, позволил установить, что используемый нами глюкозный биосенсорный анализатор обладает

высокой специфичностью и не даёт ложноположительных результатов с чистыми растворами сахарозы, мальтозы, лактозы, альбумина, NaCl, дрожжевого экстракта, пептона и казеина.

Таблица 2

**Изучение чувствительности
биосенсорного метода определения глюкозы (n=15)**

Стандартное разведение глюкозы, мг/мл	Концентрация глюкозы, определяемая биосенсором, мг/мл
4,00	3,95±0,14
2,00	2,05±0,10
1,00	0,97±0,04
0,50	0,51±0,02
0,25	0,22±0,02
0,12	0,11±0,02
0,06	0,06±0,01
0,03	0,03±0,01
0,01	0,010±0,001

Таблица 3

Определение специфичности биосенсорного анализатора (n=15)

Испытуемые субстраты, мг/мл	Показания биосенсора, мг/мл
Раствор глюкозы 2,0	2,0±0,1
Раствор сахарозы 1,0	0,0
Раствор мальтозы 1,0	0,0
Раствор лактозы 1,0	0,0
Раствор альбумина 1,0	0,0
Раствор NaCl 2,5	0,0
Дрожжевой экстракт 1,0	0,0
Раствор пептона 1,0	0,0
Раствор казеина 1,0	0,0
Раствор сахарозы и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,10
Раствор мальтозы и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,13
Раствор лактозы и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,09
Раствор альбумина и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл	1,0±0,11

каждого вещества)	
Раствор NaCl и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,15
Раствор дрожжевого экстракта и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,11
Раствор пептона и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,12
Раствор казеина и глюкозы (содержащий по 1,0 мг/мл каждого вещества)	1,0±0,14

2. Изучение уровня глюкозы в мясе различной степени свежести и его взаимосвязи с бактериальной обсеменённостью мяса.

Были проведены исследования по изучению взаимосвязи между уровнем глюкозы, бактериальной обсеменённостью и степенью свежести в охлажденном и замороженном мясе. Результаты исследований охлажденной говядины представлены на рисунке 1 и в таблице 4. Анализ представленных результатов позволил установить закономерность, которая заключалась в обратной пропорциональной зависимости между концентрацией глюкозы и количеством микроорганизмов, контаминирующих мясо различной степени свежести. Результаты, полученные нами с помощью биосенсорного анализа, позволили установить, что в поверхностном слое свежей охлажденной говядины уровень глюкозы составлял от 3,09 мг/мл до 3,65 мг/мл, при этом КМАФАнМ было в пределах от $6,1 \times 10^3$ до $4,9 \times 10^4$ КОЕ/г. В глубоких слоях говядины концентрация глюкозы составляла 3,56-4,37 мг/мл, КМАФАнМ было в пределах $3,3 \times 10^2$ КОЕ/г.

Результаты, полученные нами при исследовании охлажденной говядины сомнительной свежести, позволили обнаружить, что в поверхностном слое количество глюкозы по сравнению со свежим мясом снижается в 3,7 раза. КМАФАнМ по сравнению со свежим мясом увеличилось на 1-2 порядка. Вместе с тем, в глубоких слоях концентрация глюкозы практически не снижается по сравнению со свежим мясом, а КМАФАнМ увеличивается всего лишь в 1,2 раза. Это свидетельствует о том, что процесс порчи мяса начинается с поверхностных слоёв.

Изменение концентрации глюкозы в зависимости от степени свежести и глубины слоя в охлаждённой говядине

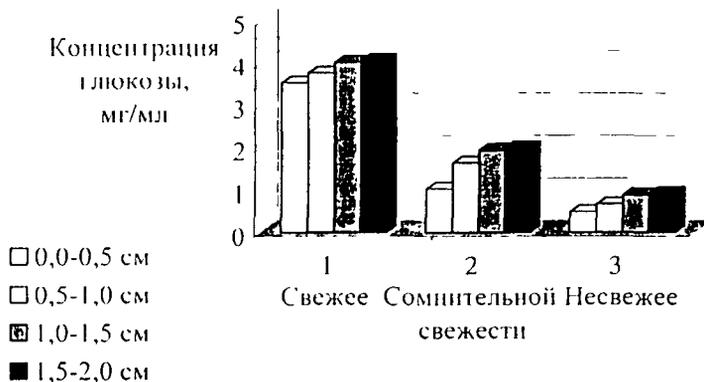


Таблица 4

Изменение КМАФАнМ в зависимости от степени свежести и глубины слоя в охлажденной говядине различной степени свежести (n= 85)

Степень свежести	КМАФАнМ в зависимости от глубины слоя мяса от поверхности, КОЕ/г			
	До 0,5 см	0,5-1,0 см	1,0-1,5 см	1,5-2,0 см
Свежее	$(2,1 \pm 0,3) \times 10^1$	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^2$	$(3,9 \pm 0,4) \times 10^2$	$(3,3 \pm 0,3) \times 10^2$
Сомнит. свежести	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,7 \pm 0,5) \times 10^4$	$(5,3 \pm 0,4) \times 10^2$	$(3,1 \pm 0,5) \times 10^2$
Несвежее	$(4,4 \pm 0,7) \times 10^9$	$(8,2 \pm 0,5) \times 10^6$	$(5,8 \pm 0,4) \times 10^6$	$(4,1 \pm 0,5) \times 10^5$

В результате биосенсорного анализа глюкозы, проведённого нами в поверхностном слое несвежего мяса, было показано, что её концентрация снижается в 8,6 раз, а КМАФАнМ увеличивается на 5-6 порядков. В

глубоких слоях концентрация глюкозы снижается в 3,9 раза. В то же время КМАФАнМ увеличивается на 3 порядка.

Результаты исследований охлажденной свинины и баранины различной степени свежести представлены на рисунках 2, 3 и в таблицах 5 и 6. Они согласуются с данными, полученными при изучении говядины.

Рисунок 2

Изменение концентрации глюкозы в зависимости от степени свежести и глубины слоя в охлажденной свинине

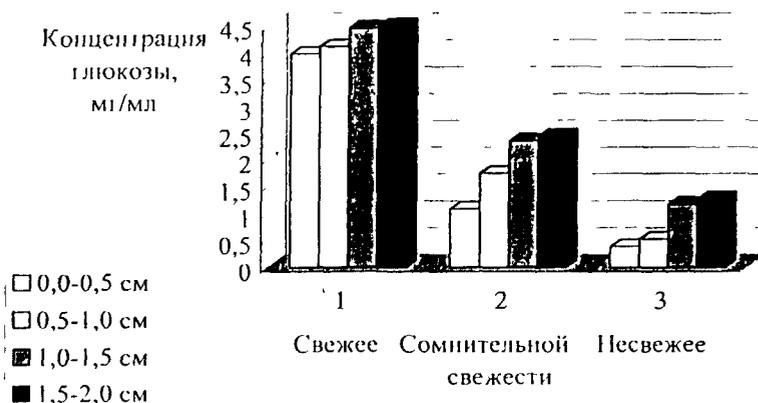


Таблица 5

Определение КМАФАнМ в образцах охлажденной свинины различной степени свежести (n=97)

Степень свежести	КМАФАнМ в зависимости от глубины слоя мяса от поверхности, КОЕ/г			
	До 0,5 см	0,5-1,0 см	1,0-1,5 см	1,5-2,0 см
Свежее	$(1,6 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,9 \pm 0,4) \times 10^2$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^2$	$(3,1 \pm 0,2) \times 10^2$
Сомниг. свежести	$(1,8 \pm 0,4) \times 10^6$	$(2,1 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,9 \pm 0,4) \times 10^2$	$(3,8 \pm 0,2) \times 10^2$

Несвежее	$(5,8 \pm 0,6) \times 10^9$	$(1,9 \pm 0,6) \times 10^7$	$(7,2 \pm 0,6) \times 10^6$	$(6,1 \pm 0,6) \times 10^5$
----------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Рисунок 3

Изменение концентрации глюкозы в зависимости от степени свежести и глубины слоя в охлажденной баранине

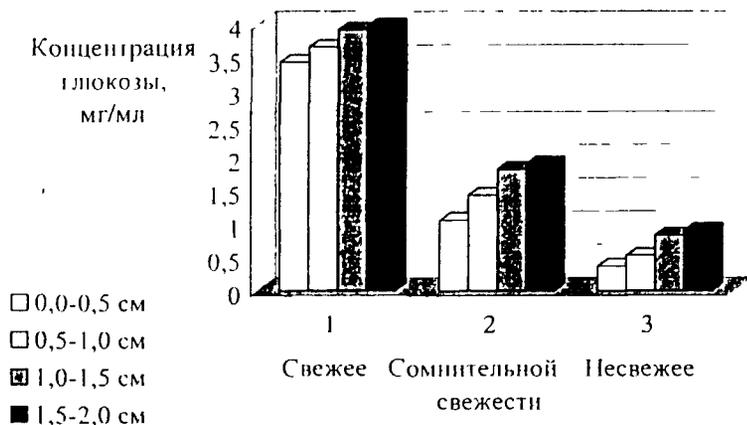


Таблица 6

Определение КМАФАнМ в образцах охлажденной баранины различной степени свежести (n=55)

Степень свежести	КМАФАнМ в зависимости от глубины слоя мяса от поверхности, КОЕ/г			
	До 0,5 см	0,5-1,0 см	1,0-1,5 см	1,5-2,0 см
Свежее	$(1,6 \pm 0,4) \times 10^1$	$(5,4 \pm 0,4) \times 10^2$	$(4,3 \pm 0,5) \times 10^2$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^2$
Сомниг. свежести	$(2,3 \pm 0,5) \times 10^6$	$(2,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(5,9 \pm 0,5) \times 10^2$	$(4,6 \pm 0,4) \times 10^2$
Несвежее	$(6,7 \pm 0,6) \times 10^9$	$(8,1 \pm 0,6) \times 10^7$	$(5,8 \pm 0,3) \times 10^6$	$(4,7 \pm 0,4) \times 10^5$

Анализ результатов, представленных на рисунках 1, 2, 3 и в таблицах 4, 5, 6 позволил установить закономерность, которая характеризовалась увеличением концентрации глюкозы в образцах мяса в зависимости от глубины и анатомического места исследуемого образца. Таким образом, можно заключить, что в поверхностном слое охлаждённого свежего мяса отмечается наибольшее количество контаминирующих микроорганизмов, что имеет существенное значение для сохранения его свежести в процессе хранения. При этом установлено, что концентрация глюкозы в охлаждённом мясе сомнительной свежести меньше, чем в свежем мясе, но сохраняется закономерность увеличения уровня глюкозы от поверхностных слоёв к глубоким. Результаты биосенсорных исследований, проведённых на образцах несвежего мяса, показывают, что в нём также сохраняется закономерность послойного увеличения уровня глюкозы: наименьшее количество в поверхностном слое, затем происходит постепенное увеличение в более глубоких слоях.

Таким образом, можно заключить, что во всех слоях несвежего охлаждённого мяса происходит глубокая порча, и количество глюкозы в несколько раз меньше, чем в свежем мясе. Сопоставление результатов микробиологических исследований свежего, сомнительной свежести и несвежего мяса с результатами биосенсорного анализа глюкозы позволяет установить обратную пропорциональную зависимость между концентрацией глюкозы и количеством микроорганизмов в слоях мяса разной степени свежести. В мясе сомнительной свежести глубокие слои (более 1 см) соответствуют свежему мясу. Образцы, взятые в области зареза наиболее контаминированы микроорганизмами по сравнению с образцами, взятыми от лопатки и бедра.

Биосенсорные и микробиологические исследования замороженной говядины, представленные на рисунке 4 и в таблице 7, позволили установить такую же закономерность, как и у охлаждённого мяса. При этом нами отмечено, что уровень глюкозы в замороженном мясе убойных животных на

30-40 % ниже, чем в охлажденном мясе, что объясняется большим уровнем микробной контаминации

Рисунок 4

Изменение концентрации глюкозы в зависимости от степени свежести и глубины слоя в замороженной говядине

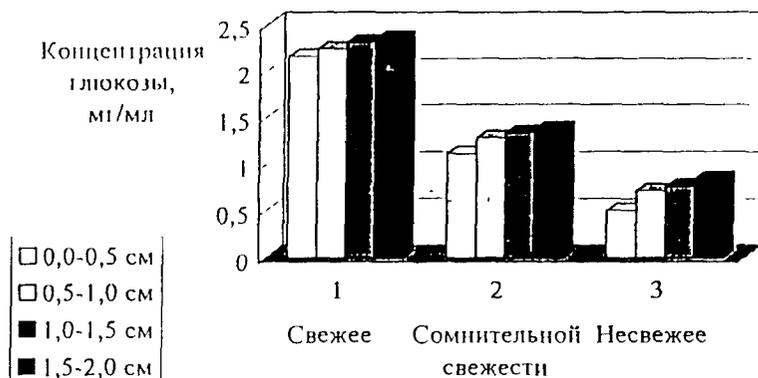


Таблица 7

Определение КМАФАнМ в образцах замороженной говядины различной степени свежести (n=48)

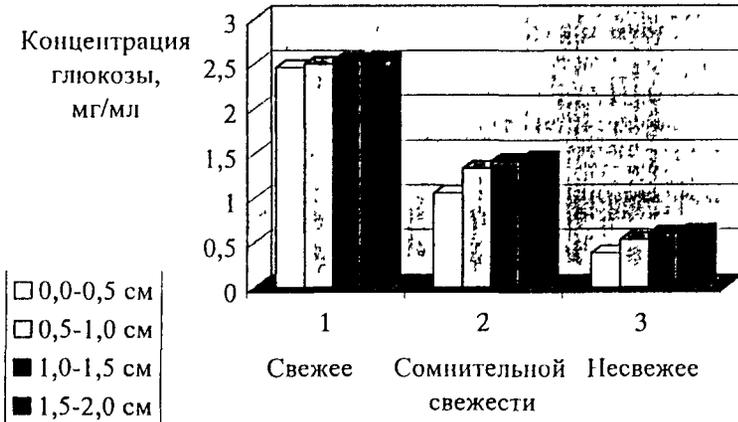
Степень свежести	КМАФАнМ в зависимости от глубины слоя мяса от поверхности, КОЕ/г			
	До 0,5 см	0,5-1,0 см	1,0-1,5 см	1,5-2,0 см
Свежее	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^4$	$(5,1 \pm 0,4) \times 10^3$	$(3,6 \pm 0,4) \times 10^3$
Сомнит. свежести	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^7$	$(0,7 \pm 0,2) \times 10^5$	$(4,9 \pm 0,4) \times 10^4$	$(4,1 \pm 0,5) \times 10^4$
Несвежее	$(5,2 \pm 0,5) \times 10^9$	$(2,1 \pm 0,2) \times 10^8$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^7$	$(2,3 \pm 0,4) \times 10^7$

Анализ результатов исследования замороженного мяса позволил установить такую же закономерность, как и у охлаждённого мяса. При этом нами отмечено, что уровень глюкозы в замороженном мясе убойных животных на 30-40 % ниже, чем в охлаждённом мясе, что объясняется большим уровнем микробной контаминации.

Результаты исследований замороженной свинины и баранины различной степени свежести представлены на рис 5, 6 и в табл. 8, 9. они аналогичные данным, полученным при изучении замороженной говядины

Рисунок 5

Изменение концентрации глюкозы в зависимости от степени свежести и глубины слоя в замороженной свинине



**Определение КМАФАнМ
в образцах замороженной свинины
различной степени свежести (n=60)**

Степень свежести	КМАФАнМ в зависимости от глубины слоя мяса от поверхности, КОЕ/г			
	До 0,5 см	0,5-1,0 см	1,0-1,5 см	1,5-2,0 см
Свежее	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^5$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^4$	$(6,5 \pm 0,5) \times 10^3$	$(5,3 \pm 0,4) \times 10^3$
Сомнит. свежести	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^7$	$(9,3 \pm 0,6) \times 10^4$	$(5,8 \pm 0,5) \times 10^4$	$(4,9 \pm 0,6) \times 10^4$
Несвежее	$(6,5 \pm 0,5) \times 10^9$	$(1,7 \pm 0,2) \times 10^8$	$(3,9 \pm 0,4) \times 10^7$	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^7$

Рисунок 6

Изменение концентрации глюкозы в зависимости от степени свежести и глубины слоя в замороженной баранине

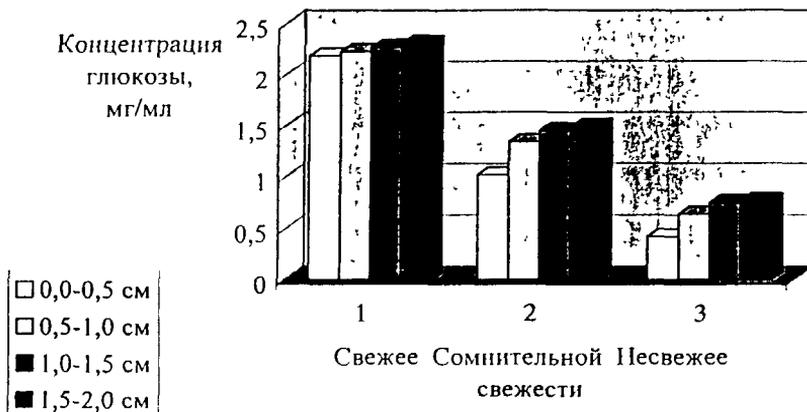


Таблица 9

**Определение КМАФАнМ в образцах замороженной бараннины
различной степени свежести (n=35)**

Степень свежести	КМАФАнМ в зависимости от глубины слоя мяса от поверхности, КОЕ/г			
	До 0,5 см	0,5-1,0 см	1,0-1,5 см	1,5-2,0 см
Свежее	$(1,3 \pm 0,4) \times 10^5$	$(2,9 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,8 \pm 0,2) \times 10^3$
Сомнит. свежести	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^7$	$(2,7 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,7 \pm 0,5) \times 10^4$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^4$
Несвежее	$(6,8 \pm 0,5) \times 10^9$	$(0,5 \pm 0,2) \times 10^8$	$(0,8 \pm 0,2) \times 10^7$	$(3,8 \pm 0,4) \times 10^6$

Анализ результатов проведённых биосенсорных исследований, представленных на рис. 4, 5, 6, позволил определить закономерность увеличения количества глюкозы в образцах мяса в зависимости от глубины исследуемого слоя. Отмечено, что в поверхностном слое замороженного свежего мяса, отмечается наибольшее количество микроорганизмов.

В замороженном мясе сомнительной свежести происходит более глубокая микробиологическая порча, чем в охлаждённом мясе сомнительной свежести. Образцы, взятые в области зареза наиболее контаминированы микроорганизмами по сравнению с образцами, взятыми от лопатки и бедра.

Результаты исследований образцов несвежего замороженного мяса показывают, что в нём также сохраняется закономерность послойного увеличения уровня глюкозы: наименьшее количество в поверхностном слое, затем происходит постепенное увеличение в более глубоких слоях

Таким образом, можно заключить, что во всех слоях несвежего размороженного мяса происходит глубокая порча, и количество глюкозы в несколько раз меньше, чем в свежем мясе.

Сопоставление результатов микробиологических исследований свежего, сомнительной свежести и несвежего мяса, с результатами биосенсорного анализа глюкозы показывает обратную пропорциональную зависимость между концентрацией глюкозы и количеством микроорганизмов в слоях мяса разной степени свежести

Результаты определения количественных уровней глюкозы в охлаждённом мясе различной степени свежести представлены в таблице 10.

Таблица 10

Зависимость степени свежести охлажденного мяса от концентрации глюкозы в мышечной ткани

Вид мяса	Степень свежести	Концентрация глюкозы на глубине более 1,0 см мг в 1 мл мясного сока
Говядина	Свежая	Более 2,5
	Сомнительной свежести	От 1,2 до 2,5
	Несвежая	Менее 1,2
Свинина	Свежая	Более 3,0
	Сомнительной свежести	От 1,5 до 3,0
	Несвежая	Менее 1,5
Баранина	Свежая	Более 2,5
	Сомнительной свежести	От 1,0 до 2,5
	Несвежая	Менее 1,0

Установлено, что в свежей говядине концентрация глюкозы должна составлять более 2,5 мг/мл, у свинины более 3,0 мг/мл, у баранины более 2,5 мг/мл. Охлаждённое мясо является сомнительной свежим, если концентрация глюкозы составляет: для говядины от 1,2 до 2,5 мг/мл; для свинины от 1,5 до 3,0 мг/мл; для баранины от 1,0 до 2,5 мг/мл. Охлаждённое мясо является несвежим, если уровень глюкозы составляет: для говядины менее 1,2 мг/мл; для свинины менее 1,5 мг/мл; для баранины менее 1,0 мг/мл.

Результаты определения количественных уровней глюкозы в замороженном мясе различной степени свежести представлены в таблице 11.

Таблица 11

**Зависимость степени свежести замороженного мяса
от концентрации глюкозы в мышечной ткани**

Вид мяса	Степень свежести	Концентрация глюкозы на глубине более 1,0 см мг в 1 мл мясного сока
Говядина	Свежая	Более 1,5
	Сомнительной свежести	От 1,1 до 1,5
	Несвежая	Менее 1,1
Свинина	Свежая	Более 1,8
	Сомнительной свежести	От 1,0 до 1,8
	Несвежая	Менее 1,0
Баранина	Свежая	Более 1,9
	Сомнительной свежести	От 0,8 до 1,9
	Несвежая	Менее 0,8

Определено, что в свежей замороженной говядине должно содержаться более 1,5 мг/мл глюкозы. Этот показатель для охлажденной свинины и баранины составляет более 1,8 мг/мл и 1,9 мг/мл соответственно.

Замороженное мясо является сомнительной свежести, если концентрация глюкозы в мясном соке составляет: для говядины от 1,1 до 1,5 мг/мл; для свинины от 1,0 мг/мл до 1,8 мг/мл; для баранины от 0,8 мг/мл до 1,9 мг/мл.

Замороженное мясо является несвежим, если уровень глюкозы в мясном соке составляет: для говядины менее 1,1 мг/мл; для свинины менее 1,0 мг/мл; для баранины менее 0,8 мг/мл.

Исходя из этого, разработанные нами количественные уровни концентрации глюкозы в мясе можно использовать в качестве критериев при ускоренной оценке его свежести.

ВЫВОДЫ

1. Определены методические подходы (пробоподготовка, постановка анализа, учёт результатов и т.д.) к определению глюкозы в мясе убойных животных с помощью биосенсорного анализатора.

2. Показана высокая чувствительность и специфичность разработанного биосенсорного метода определения глюкозы в мясе убойных животных.

3. Определены средние уровни содержания глюкозы в охлаждённом и замороженном мясе убойных животных. Установлено, что в охлаждённой говядине концентрация глюкозы была на уровне $3,73 \pm 0,08$ мг/мл, в свинине $4,22 \pm 0,11$ мг/мл, в баранине $3,71 \pm 0,12$ мг/мл. В замороженном мясе этот показатель составлял: для говядины $2,19 \pm 0,07$ мг/мл, для свинины $2,23 \pm 0,06$ мг/мл и для баранины $2,44 \pm 0,09$ мг/мл.

4. Установлено, что уровень глюкозы в поверхностном слое (до 1 см) свежего охлаждённого мяса, отобранного от туш убойных животных, ниже, чем в более глубоких слоях. Так, в свежемороженом мясе концентрация глюкозы была ниже в 1,13-1,19 раза по сравнению с более глубоким слоем. Вместе с тем установлено, что в образцах мяса, взятых в области зареза, уровни глюкозы в поверхностных слоях составляли для говядины, свинины и баранины $3,09 \pm 0,10$ мг/мл, $3,77 \pm 0,10$ мг/мл, $3,23 \pm 0,14$ мг/мл соответственно и были в 1,21; 1,08; 1,09 раз меньше, чем в поверхностных слоях, взятых от области лопатки и бедра.

5. Установлена взаимосвязь уровня глюкозы в мясе убойных животных со степенью его бактериальной контаминации и свежести.

6. Показано, что в поверхностных слоях свежего охлаждённого мяса концентрация глюкозы у зареза туш убойных животных составляла в среднем $3,36 \pm 0,10$ мг/мл, в области лопатки и бедра - $3,77 \pm 0,10$ мг/мл и $3,72$ мг/мл соответственно. При этом КМАФАнМ у зареза животных составляло в среднем $(4,4 \pm 0,3) \times 10^4$ КОЕ/г, в области лопатки и бедра - $(4,2 \pm 0,3) \times 10^3$ КОЕ/г

и $(5,3 \pm 0,4) \times 10^3$ КОЕ/г соответственно. В глубоких слоях говядины, свинины и баранины этот показатель был в среднем соответственно в 120, 113 и 108 раз меньше, чем в поверхностных слоях.

В свежемороженом мясе концентрация глюкозы в поверхностных слоях составляла $1,88 \pm 0,07$ - $2,58 \pm 0,09$ мг/мл, а в глубоких слоях $2,08 \pm 0,08$ - $2,69 \pm 0,09$ мг/мл. КМАФАнМ в поверхностных слоях составляло $(1,3 \pm 0,2) \times 10^4$ - $(3,9 \pm 0,4) \times 10^5$ КОЕ/г, а в глубоких слоях были на уровне $(4,6 \pm 0,4) \times 10^3$ КОЕ/г.

7. В охлажденном мясе сомнительной свежести уровень глюкозы снижался у зареза туш убойных животных в 4,2 раза, в области лопатки и бедра был в 3,1 раза меньше, чем в свежем мясе. При этом КМАФАнМ у зареза составляло в среднем $(5,3 \pm 0,4) \times 10^6$ КОЕ/г, в области лопатки и бедра - $(5,1 \pm 0,3) \times 10^4$ КОЕ/г и $(4,8 \pm 0,4) \times 10^4$ КОЕ/г соответственно. В глубоких слоях говядины, свинины и баранины уровень общей микробной контаминации был в среднем в $8,3 \times 10^3$, $11,2 \times 10^3$ и $12,7 \times 10^3$ раз меньше, чем в поверхностных слоях.

В замороженном мясе сомнительной свежести концентрация глюкозы в поверхностном слое снижалась 2,6 раза, а в глубоких слоях - в 1,6-1,7 раза. КМАФАнМ в поверхностных слоях составляло $(2,1 \pm 0,2) \times 10^5$ - $(5,5 \pm 0,4) \times 10^7$ КОЕ/г, а в глубоких слоях было на уровне $(4,5 \pm 0,4) \times 10^4$ КОЕ/г.

8. Отмечено, что концентрация глюкозы в несвежем охлажденном и замороженном мясе туш убойных животных снижается в 7,1-10,5 раз в зависимости от глубины исследуемого слоя. Установлено, что в поверхностном слое мяса количество глюкозы снижалось в 9,2-11,1 раз, а на глубине свыше 2,0 см - в 2,8 раза.

Общая микробная контаминация несвежего охлажденного и замороженного мяса туш убойных животных в значительной степени уменьшается в зависимости от глубины исследуемого слоя. В поверхностном слое мяса КМАФАнМ составляло в среднем $(4,7 \pm 0,4) \times 10^9$ КОЕ/г, а на глубине свыше 2,0 см - на уровне $(6,2 \pm 0,4) \times 10^5$ КОЕ/г.

9. На основании проведённых исследований определены количественные уровни содержания глюкозы в мясе убойных животных, которые можно использовать в качестве критериев его свежести. Разработаны методические рекомендации по ускоренному определению свежести мяса с использованием биосенсорного анализатора.

ПРЕДЛОЖЕНИЕ ДЛЯ ПРАКТИКИ

Для использования в научно-исследовательских учреждениях и лабораториях ветеринарно-санитарной экспертизы могут быть рекомендованы разработанные нами «Методические рекомендации по определению свежести мяса с использованием метода биосенсорного анализа» (утверждены Отделением ветеринарной медицины РАСХН, 2004г).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Колесников П.С., Костенко Ю.Г. Быстрые методы микробиологического контроля мясных продуктов. Всё о мясе. 2001, №1, с. 48-51.
2. Колесников П.С., Шурдуба Н.А. Метод ускоренного определения свежести мяса. // Материалы 4-ой Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и ветеринарно-санитарного контроля сельскохозяйственной продукции» Москва, 2002, с. 46-47.
3. Колесников П.С., Бабунова В.С., Шурдуба Н.А. Использование глюкозного биосенсора для определения степени свежести мяса. // Материалы 5-ой Международной научно-технической конференции «Пища. Экология. Человек», Москва, 2003, с. 233-234.

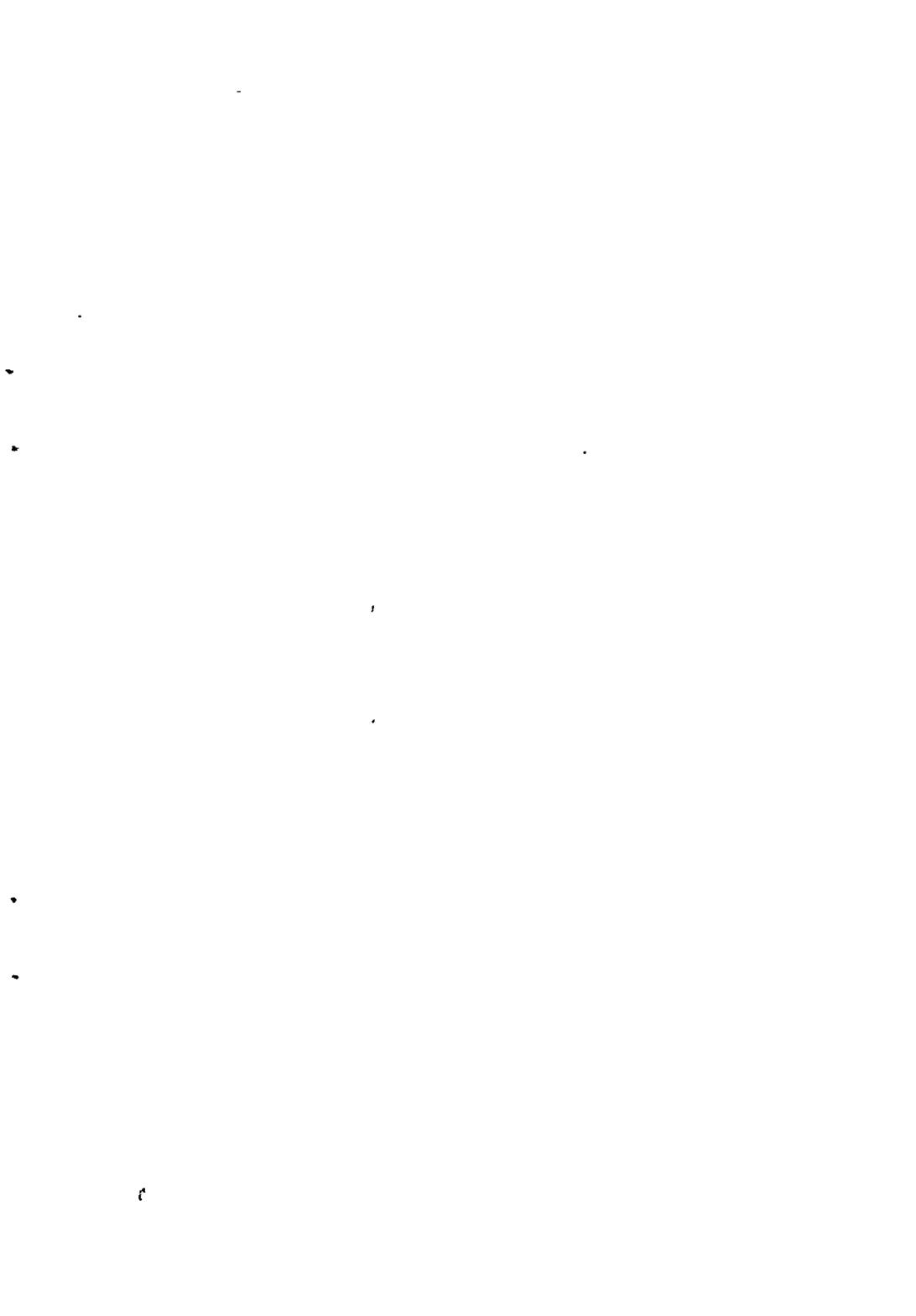
4. Колесников П.С , Бабунова В С , Шурдуба Н.А. Метод определения свежести мяса с использованием амперометрического глюкозного биосенсора // Материалы XII Международного Московского конгресса по болезням мелких домашних животных, Москва 2004 г, с. 229-230.

5. Колесников П.С., Шурдуба Н.А. Использование новых методов определения свежести охлаждённого мяса. // Материалы 5-ой Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарного контроля и биологической безопасности сельскохозяйственной продукции» Москва, 2004, с. 37-38.

ВНИИВСГЭ, 2005 г., г. Москва, Звенигородское шоссе, д.5

Заказ 98/2

Тираж 80 экз.



№ - 8 1 9 8

РНБ Русский фонд

2006-4

15813