

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФГБОУВО «Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии - МВА
имени К.И. Скрябина»

УТВЕРЖДАЮ:
Ректор ФГБОУ ВО
МГАВМиБ – МВА
имени К.И. Скрябина
академик РАН, профессор
Ф.И. Василевич



Отчёт по научно-исследовательской работе на тему:
«Научное обоснование возможности использования люминесцентного
анализатора ИнСпектр L405 для изучения качества и свежести мяса и
мясных продуктов»

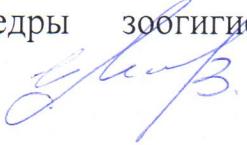
Отчёт кафедры зоогигиены и птицеводства
им. А.К.Даниловой по НИР за 2016 год

Научный руководитель:
заведующий кафедрой зоогигиены и птицеводства им. А.К.Даниловой,
член-корреспондент РАН, доктор с.-х. наук, профессор И. И. Кошиш

2016 год

Трудовой коллектив

- Доцент кафедры зоогигиены и птицеводства им. А.К.
Даниловой, Л.А. Волчкова. 

- Ассистент кафедры зоогигиены и птицеводства им. А.К.
Даниловой, И.Ю. Морозов. 

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	4
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	5
2.1 Методика измерений.....	6
2.2 Отбор и хранение проб.	8
2.3 Выполнение измерений	9
3.РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЭКСПРЕСС ПРОВЕРКЕ ВРЕМЕНИ ХРАНЕНИЯ МЯСА И НЕОБРАБОТАННЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ.	13
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	14

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая методика (метод) предназначена для контроля свежести мясных продуктов питания на этапах их изготовления, хранения, транспортировки посредством экспресс-анализа интенсивностей специфических люминесцентных линий продуктов жизнедеятельности бактерий, которые накапливаются в мясных продуктах питания в процессе их хранения. Анализ люминесцентных спектров проверяемой мясной продукции сравнивается со спектром эталонных образцов, для определения времени хранения исследуемого мяса.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Мясо относится к скоропортящимся продуктам, которые при обычных условиях не выдерживают длительного хранения. В процессе хранения оно может подвергаться различным изменениям. Одни из них являются желательными и протекают сразу после убоя животного (созревание), другие — нежелательные (загар, гниение, плесневение, ослизнение, свечение и др.). Эти изменения происходят под влиянием физико-химических факторов или под воздействием различных микроорганизмов (Боровков М.Ф., Фролов В. П., Серко С. А. 2013 г.).

Гниение — самый опасный вид порчи мяса, так как при этом процессе разрушаются белковые соединения и образуются вещества, опасные для человека. Из составных частей мяса гниению наиболее подвержены мышечная ткань и субпродукты.

Гниение мяса, как и других органических азотсодержащих продуктов, обусловливается деятельностью гнилостных микроорганизмов. Гнилостные микроорганизмы могут быть как аэробами, так и анаэробами (Сенченко Б.С. 2011 г.).

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- оперативный контроль процедуры анализа (на основе оценки погрешности результатов анализа при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);
- контроль стабильности результатов анализа (на основе контроля стабильности среднеквадратичного отклонения внутрилабораторной прецизионности, погрешности, среднеквадратического отклонения повторяемости).

Оперативный контроль процедуры анализа (выполнения измерений) проводят:

- при внедрении методики выполнения измерений в лаборатории;

Оперативный контроль процедуры анализа проводит сам исполнитель с целью проверки его готовности к проведению анализа рабочих проб.

Одной из форм контроля стабильности результатов анализа является контроль стабильности результатов анализа в пределах лаборатории с использованием контрольных карт, реализуемый:

- путем контроля и поддержания на требуемом уровне погрешности результатов измерений;
- путем контроля и поддержания на требуемом уровне внутрилабораторной прецизионности;
- путем контроля поддержания на требуемом уровне повторяемости результатов параллельных определений.

Процедуры и периодичность контроля точности (контроля стабильности) получаемых результатов измерений в пределах лаборатории проводят с учетом требований раздела 6 ГОСТ Р ИСО 5725-6 или по РМГ 76.

Ответственность за организацию проведения контроля стабильности результатов анализа возлагают на лицо, ответственное за систему качества в лаборатории.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Цели и задачи исследований

Цель исследований – научное обоснование и совершенствование экспресс-анализа контроля качества мяса и мясных продуктов питания в зависимости от вида и сроков их хранения.

В связи с этим в задачу исследований входило:

1. Провести количественный анализ интенсивностей линий фотолюминесценции, характерных для бактериальных процессов гниения.
2. Осуществить сравнение интенсивностей линий фотолюминесценции с эталонными линиями из базы данных эталонных спектров.
3. Установить время хранения, свежесть и качество исследуемого образца мяса и мясных продуктов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При соблюдении всех регламентируемых условий и проведении измерений в точном соответствии с данной методикой, пределы погрешностей результатов измерений спектров люминесценции в рамках одного мясного продукта не превышают значений 5%.

При проведении количественного анализа применяли следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и образцы:

1. Средство измерения: Программно-аппаратный комплекс ИнСпектр L405 с источником излучения 405 нм, с помощью которого возбуждается и регистрируется люминесцентное свечение исследуемых образцов мяса. Возможно использование аналогичных программно-аппаратных комплексов с той же длиной волны возбуждения, но с более грубыми по сравнению с L405 спектральными характеристиками.
2. Вспомогательные устройства: стеклянные виалы, прошедшие процедуру стерилизации по ГОСТ 1770-74, в которые закладываются исследуемые образцы мяса.
3. Посуда и материалы: виалы лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770-74.
4. Образцы: государственные стандартные образцы мяса, соответствующие ГОСТ 9959-91.

2.1 Методика измерений.

Сущность метода и работа люминесцентного анализатора заключается в следующем: формируются и сохраняются в базу данных эталонных спектров спектры фотolumинесценции образцов свежего мяса и мяса, выдержанного при определенном температурном режиме в течение строго установленного времени; проводится количественный анализ интенсивностей линий фотolumинесценции, характерных для бактериальных процессов порчи и гниения; осуществляется сравнение интенсивностей линий фотolumинесценции с эталонными линиями из базы данных эталонных спектров. С помощью программного обеспечения устанавливается время хранения исследуемого образца мяса. Образцы для анализа могут быть упакованы в прозрачный для электромагнитного излучения видимого спектрального диапазона материал или могут находиться на открытом воздухе. Образцы могут представлять собой мясной фарш, цельные куски мяса или готовые к употреблению мясные блюда. Полученным спектральным показателям ставится в соответствие балльная шкала органолептических показателей мясной продукции по ГОСТ 9959-91 (табл. 1).

Таблица 1

**Органолептические показатели качества мясной продукции по
10-балльной шкале**

Оценка в баллах	Внешний вид	Цвет на разрезе	Запах (аромат)	Вкус	Консистенция (нежность, жесткость)	Сочность	Общая оценка качества
9	Оч. красивый	Оч. красивый	Оч. ароматный	Оч. вкусный	Оч. нежный	Оч. сочный	Отлично
8	Красивый	Красивый	Ароматный	Вкусный	Нежный	Сочный	Очень хорошее
7	Хороший	Хороший	Достат. ароматный	Достат. вкусный	Дост. нежный	Достаточно сочный	Хорошее
6	Недостат. хороший	Недостат. хороший	Недостат. ароматный	Недостат. вкусный	Недостат. нежный	Недостат. сочный	Выше среднего
5	Средний (удовлет.)	Средний (удовлет.)	Средний (удовлет.)	Средний (удовлет.)	Средний (удовлет.)	Средний (удовлет.)	Среднее
4	Немного нежелат. (приемл.)	Неравномерн. слегка обесцвич. (приемл.)	Не выражен (приемл.)	Немного безвкусн. (приемл.)	Немного жесткова т., рыхловат. (приемл.)	Немного суховат., влажный (приемл.)	Ниже среднего
3	Нежелат. (приемл.)	Немного обесцвич.	Немного неприятный	Неприятный, безвкусн.	Жесткова т., рыхлый	Суховатый, влажный	Плохое (премле

		(приемл.)	(приемл.)	(приемл.)	(приемл.)	(приемл.)	(приемл.)	мое)
2	Плохой (неприем- л.)	Плохой (неприем- л.)	Неприятны- й (неприемл.)	Плохой (неприем- л.)	Жесткий, рыхлый (неприем- л.)	Сухой (неприем- л.)		Плохое (неприе- млемое)
1	Оч. плохой (неприем- л.)	Оч. плохой (неприем- л.)	Оч. Плохой (неприемл.)	Оч. плохой (неприем- л.)	Оч. жесткий, оч. рыхлый (неприем- л.)	Оч. Сухой (неприем- л.)		Очень плохое (соверш- енно неприем- лемое)

2.2 Отбор и хранение проб.

Отбор проб проводили в соответствии с ГОСТ 9959-91. Пробы отбирали в чистую, сухую стеклянную посуду. Для доставки в лабораторию виалы с пробами упаковывали в тару, обеспечивающую сохранность качества, постоянство температуры и влажности и предохраняющую от резких перепадов температуры и ударов.

При выполнении измерений соблюдали правила техники безопасности при работе со свежим мясом по ГОСТ 9959-91, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на измерительные приборы.

Помещение соответствовало требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 в нем были средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не превышало допустимых значений по ГОСТ 12.1.005. Организация обучения работающих безопасности труда по ГОСТ 12.0.004.

К выполнению измерений были допущены к.в.н., ассистент И.Ю. Морозов и к.с.х.н., доцент Л.А. Волчкова, прошедшие инструктаж по

технике безопасности, изучившие данную методику и освоившие технику работы на используемом оборудовании и средствах измерений.

При выполнении измерений соблюдались следующие условия:

температура окружающей среды $(25\pm10)^\circ\text{C}$;
относительная влажность воздуха $(65\pm15)\%$;
атмосферное давление $(760\pm60)\text{мм рт.ст}$
или $(1.01\pm0.08) \text{ 105 Па}$;
напряжение сети $(220\pm11) \text{ В}$.

постоянная мощность излучения лазера 10 мВт

время экспозиции 100 мс

При подготовке к выполнению измерений проводили следующие работы:

Новую и загрязненную лабораторную стеклянную посуду, колбы, виалы стерилизовали в автоклаве сухим жаром при температуре 180°C в течении 1 ч.

Средства измерений готовили к работе в соответствие с инструкциями по их эксплуатации. Исследуемые образцы мяса соответствовали ГОСТ 9959-91.

2.3 Выполнение измерений.

В установке ИнСпектр L405 или его аналоге использовался синий лазер с длиной волны 405 нм, с помощью которого возбуждалось люминесцентное свечение исследуемых образцов мяса. Все измерения проводились при постоянной мощности излучения 10 мВт и времени экспозиции 100 мс каждые полчаса при постоянной температуре и в темноте в течении 5-10 дней. Виала располагалась на расстоянии $2-5\text{ см}$ от спектрометра неподвижно во время всего цикла измерений. Записанные спектры люминесценции программно обрабатывались и в нормированном виде представлялись в виде графиков.

На тестовых образцах проводился люминесцентный анализ качества мясных продуктов питания (говядины и свинины). На протяжении 5 дней с интервалом в 30 минут производились измерения и записывались спектры люминесценции мяса говядины и свинины, хранящегося при температуре $+22^\circ\text{C}$. Формировались и сохранялись в базу данных эталонных спектров спектры фотoluminesценции образцов свежего мяса и мяса, выдержанного при определенном температурном режиме в течение строго установленного времени. Производились измерения неизвестного образца мяса. Проводился количественный анализ интенсивностей линий фотoluminesценции,

характерных для бактериальных процессов порчи и гниения. Осуществлялось сравнение интенсивностей линий фотолюминесценции с эталонными линиями из базы данных эталонных спектров.

Данный метод демонстрировал, что мясо, сохраняемое различные промежутки времени при всех исследуемых температурах, можно было охарактеризовать одним эквивалентным временем хранения при температуре $+22^{\circ}\text{C}$. Например, сохранение мясного продукта из свиного мяса при температуре $+8^{\circ}\text{C}$ в течение 30 часов эквивалентно хранению того же продукта при $+22^{\circ}\text{C}$ в течение 8 часов. Таким образом, программно устанавливалось не абсолютное время хранения мяса, поскольку процессы гниения и бактериального обсеменения происходят с разной скоростью при разных температурах, а определялось эквивалентное время, в течение которого мясной продукт хранился бы при температуре $+22^{\circ}\text{C}$ или при какой-то другой наперед заданной пользователем температуре. Выбор $+22^{\circ}\text{C}$ или более низкой температуры для определения эквивалентного времени хранения обусловлен тем, что при данных температурах наблюдался монотонный рост специфических линий люминесценции гнилостных бактерий в течение длительного времени. С помощью программного обеспечения устанавливалось время хранения, свежесть, степень бактериальной обсемененности и качество исследуемого образца мяса.

Результаты измерений оформлялись записью в специальном журнале. При этом приводились сведения об анализируемой пробе, условиях измерений, дате получения результатов измерений. По результатам измерений были построены следующие графики зависимостей отношения интенсивности свечения продуктов жизнедеятельности анаэробных (в интервале $560\div750\text{nm}$) и аэробных (в интервале $465\div500\text{nm}$) бактерий (рис. 1 и рис. 2).

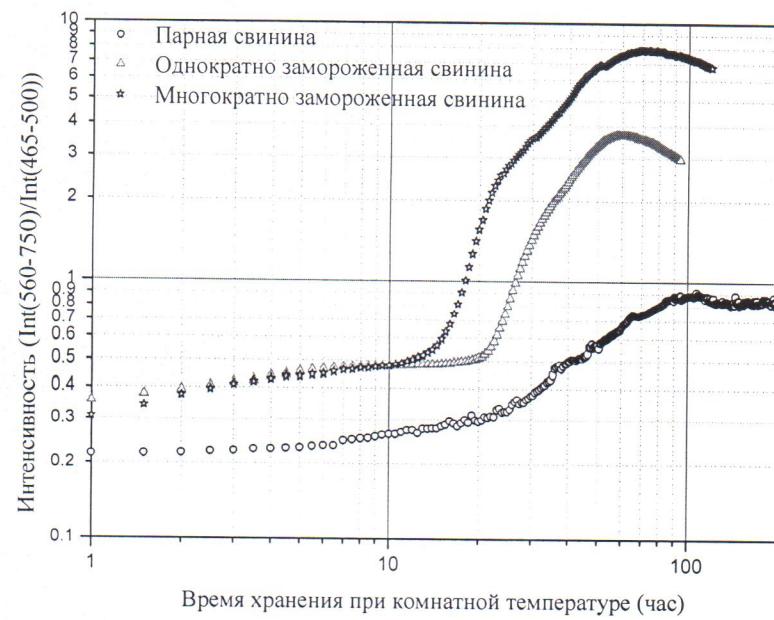


Рис. 1 Графики зависимостей отношения интенсивности свечения продуктов жизнедеятельности анаэробных и аэробных бактерий свинины.

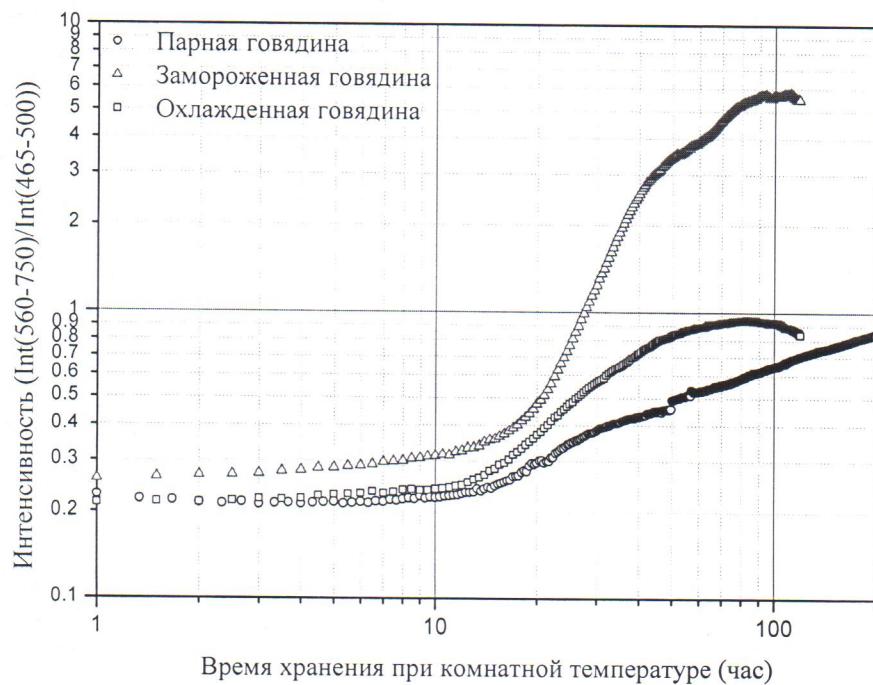


Рис. 2 Графики зависимостей отношения интенсивности свечения продуктов жизнедеятельности анаэробных и аэробных бактерий говядины.

Таблица 2

Результаты анализа зависимостей отношения интенсивности свечения продуктов жизнедеятельности анаэробных и аэробных бактерий

	Свинина			Говядина		
Категории мяса	парная	охлажден ная	заморожен ная	парная	охлажден ная	заморожен ная
1 кат. свежести	$t=(0 \div 20)\text{ч}$ $I=(0.2 \div 0.5)$	$t=(0 \div 20)\text{ч}$ $I=(0.2 \div 0.5)$	$t=(0 \div 10)\text{ч}$ $I=(0.2 \div 0.5)$	$t=(0 \div 20)\text{ч}$ $I=(0.2 \div 0.5)$	$t=(0 \div 20)\text{ч}$ $I=(0.2 \div 0.5)$	$t=(0 \div 20)\text{ч}$ $I=(0.2 \div 0.5)$
2 кат. свежести	$t=(20 \div 100)\text{ч}$ $I=(0.5 \div 0.8)$	$t=(20 \div 50)\text{ч}$ $I=(0.5 \div 0.8)$	$t=(10 \div 50)\text{ч}$ $I=(0.5 \div 2)$	$t=(20 \div 100)\text{ч}$ $I=(0.5 \div 0.8)$	$t=(20 \div 100)\text{ч}$ $I=(0.5 \div 0.8)$	$t=(20 \div 100)\text{ч}$ $I=(0.5 \div 2)$
3 кат. свежести	$t > 100\text{ч}$ $0.8 < I < 2$	$t > 50\text{ч}$ $0.8 < I < 2$	$t > 50\text{ч}$ $I > 2$	$t > 100\text{ч}$ $0.8 < I < 2$	$t > 100\text{ч}$ $0.8 < I < 2$	$T > 100\text{ч}$ $I > 2$

Мясо делится на три категории свежести: первая - свежее мясо, вторая - относительно свежее и третья - несвежее. Свежим считается любое мясо до 20 часов хранения при температуре 22°C, кроме размороженной свинины, которое становится относительно свежим через 10 часов хранения. Вторая категория свежести парной и охлажденной свинины и любой говядины длится до 100 часов хранения при температуре 22°C, а размороженное мясо свинины портится быстрее и становится несвежим уже через 50 часов. Заметим, что даже однократно замороженная свинина портится в два раза быстрее, чем говядина. Отношение интенсивностей люминесценции продуктов жизнедеятельности анаэробных (560-750 нм) и аэробных (465-500 нм) бактерий, превышающее значение два говорит о том, что мясо было хотя бы однократно заморожено и анаэробные бактерии там при разморозке размножаются гораздо быстрее и амплитуда люминесценции продуктов жизнедеятельности этих бактерий существенно превышает предельно достижимый уровень люминесценции продуктов жизнедеятельности

бактерий в мясе без заморозки. В парном или охлажденном мясе предельно достижимое отношение интенсивностей люминесценции продуктов жизнедеятельности анаэробных и аэробных бактерий обычно не превышает коэффициент $k=1,5$.

Соответствие люминесцентных спектров и органолептических показателей качества мяса: сравнивая полученные нами результаты с базой данных эталонных спектров мы получили, что мясо с оценкой от 9 до 7 баллов можно отнести к первой категории, с оценками от 6 до 4 баллов - ко второй категории, а с оценками от 3 до 1 балла - к третьей категории.

3.РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЭКСПРЕСС ПРОВЕРКЕ ВРЕМЕНИ ХРАНЕНИЯ МЯСА И НЕОБРАБОТАННЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ.

На основании проведенного комплекса измерений свежести мяса разных видов путем экспресс-анализа интенсивностей специфических люминесцентных линий продуктов жизнедеятельности бактерий кафедрой зоогигиены и птицеводства имени А.К.Даниловой Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МГВА имени К.И. Скрябина считаем целесообразным рекомендовать заинтересованным службам, организациям и частным лицам использование методики "Оценка свежести мясных продуктов питания, основанная на использовании люминесцентного анализатора" для экспресс проверки времени хранения мяса и необработанных мясных продуктов.

В качестве экспресс анализатора свежести мясных продуктов рекомендуем применять программно-аппаратный комплекс ИнСпектр L405 с источником излучения 405 нм или аналогичный программно-аппаратный комплекс с той же длиной волны возбуждения, но с более грубыми по сравнению с L405 спектральными характеристиками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровков М.Ф., Фролов В.П., Серко С.А. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства: учебное пособие/Боровков М.Ф., Фролов В.П., Серко С.А. – М.: «Лань», 2011. – 480 с.
2. ГОСТ Р 8.563-96 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений.
1. ГОСТ 12.0.004-90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие требования.
2. ГОСТ 12.0.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.
3. ГОСТ 12.0.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к *** (воздуху в рабочей зоне).
4. ГОСТ 12.0.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
5. ГОСТ 12.0.019-79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.
6. ГОСТ 12.0.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание.
7. ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Виалы, колбы. Технические условия.
8. ГОСТ 9736-91 Приборы электрические прямого преобразования для измерения неэлектрических величин. Общие требования и методы испытаний.
9. ГОСТ 15150-69 Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных лабораторий и мест нахождения мясной продукции. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды.

- 10.ГОСТ 23932-90 Посуда и оборудование лабораторное стеклянное.
Общие технические условия.
- 11.ГОСТ Р ИСО 5725-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений.
- 12.ГОСТ Р 8.563-96 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений.
- 13.ГОСТ Р 51447-99 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб.
14. ГОСТ 9959-91 Продукты мясные. Общие условия проведения органолептической оценки.
- 15.Сенченко Б.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животного и растительного происхождения: учебное пособие/ Сенченко Б.С. – Ростов-н/Д.: МарТ, 2001. – 704 с.