

Mikrobiālā piesārņojuma pakāpes noteikšana savvaļas dzīvnieku (*Capreolus capreolus* un *Cervus elaphus*) gaļā Microbiological Pollution Rate of Wild Animal (*Capreolus Capreolus* and *Cervus Elaphus*) Meat

Solveiga Liepiņa, Aleksandrs Jemeljanovs, Ināra-Helēna Konošonoka
LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra”
Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine ”Sigra”, LLU
e-mail: sigra@lis.lv

Abstract. In order to obtain high-quality game meat, it is very important to observe strict deer farming and transporting conditions. Microbiological control of meat is an important factor to provide harmless food. Our investigations revealed that pH levels in game meat significantly differ between the investigated species just after shooting and after 72-hour storage: initial pH value in fresh roe deer (*Capreolus capreolus*) meat was 5.8, but in fresh red deer (*Cervus elaphus*) meat – 6.7, whereas after 72-hour storage pH in roe deer dropped to 5.5, but in red deer – to 5.9. The ratio of the number of *Enterobacteriaceae* to the total colony count remained constant during the whole storage period of meat of both animal species, and the number of *Enterobacteriaceae* made approximately 60% of the total bacterial count. In the fresh meat of both animal species stored at the temperature of +4 °C, +8 °C, and +20 °C, microorganisms of *Enterobacteriaceae* species prevailed. During storage, roe meat samples demonstrated slower increase in total colony count and faster growth rate of *Enterobacteriaceae* compared to red deer meat samples; the exception was storage temperature of +20 °C when *Enterobacteriaceae* growth rate in roe meat was comparatively higher. The analysed venison samples did not contain verotoxin-producing strains of *E.coli*, which showed that the meat was safe for the consumers. This was proven by the sequestration reaction of *E.coli* and by comparison of the obtained results with the microorganism genome database available on the Internet.

Key words: wild animals, meat, microbiological pollution.

Ievads

Medījumu gaļa ir kvalitatīvs, cilvēka organisma fizioloģiskajām prasībām atbilstošs uzturlīdzeklis ar zemu tauku saturu un tā labu izvietojumu starp muskuļšķiedrām. Lai gan medījumu gaļas patēriņš nav liels salīdzinājumā ar mājdzīvnieku (cūku, liellopu, putnu) gaļu, tomēr pieprasījums pēc tās palielinās, un medījumu gaļas ieguve kļūst par nozīmīgu pārtikas ražošanas sastāvdaļu.

Pēc Lauksaimniecības datu centra informācijas, 2010. gada 1. janvāri bija reģistrētas 34 staltbriežu un dambriežu saimniecības. Mūsu valstī šīs netradicionālās lauksaimniecības nozares (dzīvnieku turēšana un audzēšana nebrīvē) vēsture nav sena. Audzētāji pārsvarā izvēlējušies pieradināt staltbriežus (*Cervus elaphus*) un dambriežus (*Dama dama*). Pavisam Latvijā reģistrēti 6255 gan intensīvi, gan ekstensīvi nebrīvē audzēti dzīvnieki (staltbrieži, dambrieži), un

atkarībā no briežu audzēšanas veida audzētāji iegūst atšķirīgas kvalitātes produkciju.

Nebrīvē audzējamie brieži cēlušies no savvaļas dzīvniekiem, tāpēc tiem ir spēcīgi attīstīti izdzīvošanas instinkti, kas ļauj veiksmīgi eksistēt arī nebrīves apstākļos. Dzīvnieki tiek audzēti teritorijās, kas ir pietiekami lielas, tāpēc netiek traucēta to dabiskā pārvietošanās. Briežu optimālā ēdināšana, kas ir atkarīga no dabisko ganību resursiem un papildu piebarošanas, ļauj tos uzskatīt par bioloģiski audzētiem.

Savvaļas dzīvnieki salīdzinājumā ar mājdzīvniekiem ir jutīgāki pret stresu. Tipiskākā reakcija uz jebkuriem ārējiem kairinātājiem (piemēram, stresu medīšanas laikā) negatīvi ietekmē gaļas kvalitāti. Tāpēc arī briežu fermās, lai iegūtu optimālu gaļas kvalitāti, ir svarīgi stingri ievērot dzīvnieku turēšanas apstākļus. Saskaņā ar Eiropas

Parlamenta un Padomes Regulu (EK) Nr. 853/2004 par dzīvnieku produktiem vismaz vienai personai, tā saucamajai „apmācītajai personai”, no mednieku kolektīva jāpārzina savvaļas dzīvnieku normālā anatomija, fizioloģija un uzvedība, kā arī jāspēj noteikt dzīvnieku izmainītu uzvedību un patoloģiskas izmaiņas, ko izraisījusi slimība, vides piesārņojums vai citi faktori, kas, lietojot uzturā šo dzīvnieku gaļu, varētu apdraudēt cilvēka veselību. Mednieki, kas pārdod medījumus gaļas pārstrādes uzņēmumiem, uzrāda medījuma izcelsmi, tādējādi nodrošinot gaļas ieguves procesa izsekojamību.

Medījamo dzīvnieku kautķermeņu pēcīespējas ātrāk jāatdzesē līdz maksimāli pieļaujamai temperatūrai – +7 °C (Wiklund, Malmfors, 2004). Kautķermeņu atdzesēšanu kavē tā saucamās aponeirozes vai gaļas virskārtas plēvīte, kas cieši pārklāj muskulatūru. Ja stresa rezultātā ir samazinājušās glikogēna rezerves muskulatūrā, tad ir traucēta gaļas nobriešana. Tādēļ šis process ieilgst un strauji pazeminās gaļas kvalitāte, t.sk. saīsinās medījumu gaļas derīguma termiņš augsta pH dēļ, un tā kļūst sīksta (Atanassova, Apelt et al., 2007).

Pēc nošaušanas dzīvnieka muskulatūrā notiek bioķīmiski procesi, kas līdz pēcnāves sastinguma *rigor mortis* iestāšanās brīdim ilgst apmēram 24–36 stundas (kas ir gaļas nobriešanas process, ja temperatūra ir +2–+5 °C). *Rigor mortis* veidojas pirmajās stundās pēc dzīvnieka nošaušanas: muskulatūra kļūst spraiga un saīsinās, vienlaicīgi palielinoties pretestībai un cietībai. Parasti pēcnāves sastinguma laikā liemenī nedaudz palielinās temperatūra (izdalās siltums). Bioķīmiskie procesi turpinās pēc medījuma nošaušanas: izsīkst asinscirkulācija, zūd spēja sintezēt enerģiju (veicina muskulatūras sastinguma iestāšanos), izbeidzas audu apgāde ar skābekli, samazinās ķermeņa temperatūra, sāk cietēt tauki. Sākas strauji anaerobi glikolītiskie procesi, kā rezultātā glikogēns tiek sašķelts līdz pienskābei u.c. metabolītiem, kuru daudzums ievērojami palielinās, kas savukārt veicina strauju gaļas pH līmeņa pazemināšanos. Glikogēna straujās līmeņa izmaiņas ir izskaidrojamas ar stresa ietekmi.

Mūsu pētījumā staltbrieži tika sadzīti speciāli aprīkotos, dzīvnieku likvidēšanai (nošaušanai) paredzētos aplokos, kas tiem radīja ievērojamu stresu. Turpretim stirnu gaļas iegūšanai dzīvnieki netika pakļauti iepriekšminētajiem stresa apstākļiem – tie tika medīti dabīgos apstākļos mežā ziemas laikā.

Lai gan brieža gaļa uzglabāšanai bieži tiek sasaldēta, nereti to izplata vakuumā iepakot un

atdzesētu. Vakuuma iepakojumā gaļas uzglabāšanas termiņš ir atkarīgs no tajā esošā izejmateriāla, kā arī no gaļas pH līmeņa. Baktērijas ar augstu bīstamības potenciālu, piemēram, salmonellas, listērijas u.c., vairojas muskuļaudos, kuru pH <5.8 (Green, Nattress, 2004), un izraisa produkta bojāšanos. Brieža gaļai ir maz taukaudu, un, kaut gan pirmskaušanas perioda stress dzīvniekos var izraisīt paaugstinātu gaļas pH līmeni, tā ietekme uz muskuļu pH līmeni staltbriežu un ziemeļbriežu liemenī ir niecīga (Wiklund, Drew, Ahman, 2002).

Svarīgs faktors, kas ietekmē gaļas kvalitāti, ir gaļas pH, kas samazinās, aerobās glikolīzes laikā noārdoties glikogēnam. Dzīvnieku dzīvnieku muskuļiem ir neitrāls pH, vai normā tas ir no 7.0 līdz 7.3. Pirms kaušanas brieži pārdzīvo dažādas stresa situācijas, piemēram, kad tie tiek sadzīti ganāmpulkos, pārvadāti un ilgi turēti aplokos. Tā rezultātā var izsīkt dzīvnieku glikogēna uzkrājumi, kas izraisa gaļas pH paaugstināšanos līdz tā maksimālai vērtībai – 7.0 (Wiklund, Malmfors, 2004). Četrdesmit minūtes pēc dzīvnieka nokaušanas pH samazinās līdz 5.4–5.7, ko var izskaidrot ar pienskābes veidošanos no glikogēna glikolīzes rezultātā. Uzglabājot brieža gaļu 1–14 dienas pēc dzīvnieka nošaušanas, tās pH praktiski nemainās. Pēc savvaļas dzīvnieku nošaušanas straujā pH samazināšanās izteikti ietekmē gaļas organoleptiskās (krāsu, sulīgumu, garšu, struktūru) un tehnoloģiskās (ūdens noturīgumu) īpašības.

Nepareizas medījuma apstrādes sekas ir gaļas sadalīšanās, ko izraisa aerobās un anaerobās baktērijas. To var arī veicināt nehigiēniska apiešanās ar medījumu jebkurā no tā apstrādes fāzēm. Parasti tas notiek gadījumos, kad dzīvnieks ir sašauts vēderā vai vietā, kas saistīta ar lodes ieeju vai izeju no ķermeņa (Hoffman, Wiklund, 2006; Reinken, Hartfiel, Korner, 1980). Mikroorganismi izplatās caur asinsrites sistēmu, kas dzīvnieka ievainojuma gadījumā joprojām funkcionē. No medījumu gaļas, tāpat kā no mājlopu gaļas, var inficēties ar mikroorganismiem, kuri ierosina pārtikas infekcijas. Tādēļ, lai novērtētu medījumu gaļas higiēnisko stāvokli, svarīgi noteikt mezofīlo aerobo un fakultatīvi anaerobo (MAFAM) mikroorganismu skaitu, *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaitu un mikroorganismu klātbūtni. Kā liecina zinātnieku pētījumi (Carter, 1990a), *Enterobacteriaceae* dzimta ietver sevī 30 baktēriju ģintis un vairāk nekā 120 sugas, no kurām dažas uzturas dzīvnieku un cilvēku zarnu traktā un apkārtējā vidē. Daudzas šīs dzimtas baktērijas ir zināmas kā

vienas no vispatogēnākajām un ir visbiežāk izdalītās kultūras laboratorijās.

Mūsu pētījumā mikroorganismu identificēšanai un to skaita izvērtēšanai stirnu un briežu gaļā tika analizēta *Escherichia coli* (*E.coli*) un mezofili aerobie un fakultatīvi anaerobie mikroorganismi. Pēc morfoloģijas *E.coli* ir gramnegatīvas nūjiņas, fakultatīvi anaerobas, nesporulējošas, fermentatīvas, oksidāzes negatīvas un katalāzes pozitīvas. Visi ģints pārstāvji spēj fermentēt glikozi un reducēt nitrātus, tiem nav citohromoksidāzes, pārsvarā tie ir kustīgi un parasti saistīti ar zarnu infekcijām, sastopami arī apkārtējā vidē.

Patogēnie mikroorganismi, kas nonāk cilvēka organismā ar dzīvnieku izcelsmes pārtiku, bieži vien izraisa ar pārtiku saistītas infekcijas slimības. Patogēno baktēriju noteikšana ar tradicionālajām metodēm ir apgrūtināta, jo mikroorganismi bieži ir nelielā skaitā un tiek nomākti ar organisma vietējo mikrofloru. Lai atvieglotu un paātrinātu patogēno mikroorganismu noteikšanu un palielinātu identificēšanas jutību (Olsen, 2000), dažādu bakteriālo infekciju diagnostikā aizvien vairāk tiek izmantotas dažādas molekulārās bioloģijas un ģenētisko izmeklējumu metodes (Olsen, 2000). Gaļas mikrobiālā kontrole ir svarīgs faktors pārtikas nekaitīguma nodrošināšanā. Šim nolūkam arvien vairāk tiek izmantotas tehnoloģijas, kas mikroorganismus identificē un klasificē DNS līmenī (Tutenel, Pierard et al., 2003); viena no biežāk izmantotajām ir polimerāzes ķēdes reakcija (PCR – angļu val. *Polymerase Chain Reaction*) (Olsen, 2000).

Mērķis un uzdevumi

Pētījuma mērķis bija noskaidrot un izvērtēt savvaļas stirnu (*Capreolus capreolus*) un nebrīvē audzējamo staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļas mikrobiālā piesārņojuma pakāpi uzglabāšanas laikā dažādos temperatūras režīmos. Šim nolūkam tika izvirzīti uzdevumi:

- 1) noteikt savvaļas dzīvnieku gaļas pH sākuma periodā un izmaiņas uzglabāšanas laikā;
- 2) pētīt savvaļas dzīvnieku gaļas mikrobiālo piesārņojumu tās glabāšanas laikā dažādās temperatūrās, pielietojot klasiskās mikrobioloģijas metodes;
- 3) veikt mikroorganismu identificēšanu savvaļas dzīvnieku gaļā un noteikt no gaļas izdalīto mikroorganismu atbilstību sugai, pielietojot molekulārās bioloģijas metodes – PCR;
- 4) iegūtos rezultātus salīdzināt ar mikrobioloģijas metodēm (klasisko un PCR) un noskaidrot, vai

kāds no celmiem nesatur patogēnos verotoksīnus producējošos gēnus.

Materiāls un metodes

Paraugu iegūšana

No 2009. gada oktobra līdz 2010. gada janvārim medību sezonas laikā tika iegūti 40 savvaļas dzīvnieku gaļas paraugi: 20 stirnu (*Capreolus capreolus*) gaļas paraugus ieguva vairāki medību kolektīvi oficiālās medībās un 20 nebrīvē audzētu staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļas paraugus ieguva divās Vidzemes briežaudzētāju saimniecībās.

Medību veidi un pamatapstākļi

Savvaļas medījamie dzīvnieki tika medīti dzinēju medībās dažādos medību kolektīvos, bet nebrīvē audzētos dzīvniekus nošāva speciāli paredzētā aplokā briežu audzēšanas saimniecībās. Vairumā gadījumu medības ilga vairāk nekā trīs stundas. Pēc dzīvnieku nošaušanas 15–20 minūšu laikā no kautķermeņiem tika izņemti iekšējie orgāni. Pēc medību beigām visus nošautos dzīvniekus nogādāja gaļas pārstrādes uzņēmumā, kur to liemeņus pēc apstrādes ievietoja atdzesēšanas kamerā +7 °C temperatūrā.

Analizējamie paraugi

Ievērojot standartā LVS ISO17604:2005 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija. Mikrobioloģiskai analīzei paredzētu paraugu ņemšana no liemeņa” noteikto metodiku, gaļas pārstrādes uzņēmumā no muskulatūras tika noņemti svaigas gaļas paraugi: no kautķermeņa atsevišķām daļām noņēma ādu, un pēc tam ar sterilu perforatoru no katra kautķermeņa muskulatūras – garākā jostas muskuļa (*m.longissimus lumborum*), ciskas divgalvainā muskuļa (*m.biceps femoris*) un pleca trīsgalvainā muskuļa (*m.triceps brachii*) – paņēma trīs paraugus (masa – 0.250 kg, kopējā virsma – 20 cm²).

Iegūto 40 svaigas gaļas paraugu (no 20 savvaļas stirnām un 20 nebrīvē audzētiem briežiem) mikrobioloģiskā piesārņojuma pakāpes pētīšanai mikrobioloģiskās analīzes un polimerāzes ķēdes reakcija tika veiktas LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskajā institūtā „Sīgra”. Pētniecībā izmantojamās metodes, kas apskatītas sadaļā „Analīžu metodika”. Iegūtos rezultātus savstarpēji salīdzinājām.

Gaļas paraugiem vienlaicīgi tika noteikts sākotnējais mezofili aerobo un fakultatīvi anaerobo mikroorganismu (MAFAM) skaits un *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju skaits.

Ņemot vērā nepieciešamību noteikt optimālāko gaļas uzglabāšanas temperatūru, gaļas paraugus aseptiskos apstākļos sadalīja trijās daļās uzglabāšanai dažādās temperatūrās (+4 °C, +8 °C un +20 °C) un dažādos termiņos: 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 un 168 stundas jeb 7 diennaktis.

Analīžu metodika

Gaļas paraugu pH noteikts saskaņā ar LVS ISO 2917:2004 standartu gaļas un gaļas produktu pH noteikšanai (references metode), izmantojot „JENWAY 3520 pH Meter” iekārtu. pH potenciometriskais mērījums balstās uz elektrisko potenciālu atšķirībām starp mērījumu elektrodu un atsauces elektrodu pierakstu specifiskā temperatūrā.

Paraugu sagatavošana mikrobioloģiskai testēšanai tika veikta saskaņā ar standarta LVS EN ISO 6887-2:2004 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija – testēšanas paraugu, sākotnējās suspensijas un decimālšķīdumu sagatavošana mikrobioloģiskām pārbaudēm – 2. daļa: īpaši noteikumi kā sagatavot gaļu un gaļas izstrādājumus”. Atšķaidījumu pagatavošanai tika izmantots sāls-peptona šķīdums (Maximum recovery diluent, OXOID, CM0733).

Mezofili aerobo un fakultatīvi anaerobās (MAFAM) mikrofloras skaits paraugos noteikts saskaņā ar standartu LVS EN ISO 4833:2003 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija. Mikroorganismu skaitīšanas horizontālā metode. Koloniju skaitīšanas metode pie +30 °C.”

Enterobacteriaceae skaits noteikts saskaņā ar standartu LVS ISO 21528-2:2004 „Pārtikas un lopbarības mikrobioloģija – *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju klātbūtnes un skaita noteikšana ar horizontālmetodēm – 2. daļa: metode ar koloniju skaitīšanu”. *Enterobacteriaceae* skaits noteikts, izmantojot selektīvās barotnes (Macconkey II Agar, Becton Dickinson, USA).

Vienlaicīgi tika noteikts mikroorganismu skaita augšanas ātruma izmaiņu rādītājs (Y), kas raksturo iespējamo produkta uzglabāšanas ilgumu – laiku, kurā mikroorganismu skaits sasniedz kritisko līmeni. Rādītāja vērtība ir atkarīga no temperatūras un sākotnējā produkta bakteriālā piesārņojuma līmeņa.

Mikroorganismu augšanas ātruma rādītāju aprēķināja, novērojuma perioda sākumā un beigās noteikto mikroorganismu skaita starpību izdalot ar novērojuma perioda ilgumu (stundās vai dienās):

$$Y = (B - A) \div T^{-1}, \quad (1)$$

kur

Y – baktēriju skaita izmaiņu augšanas ātruma lg, kvv g⁻¹ h⁻¹;

A – perioda sākumā noteiktā mikroorganismu skaita lg, kvv g⁻¹;

B – perioda beigās noteiktā mikroorganismu skaita lg, kvv g⁻¹;

T – perioda ilgums, h.

Tā kā baktēriju augšanas – skaita izmaiņu – raksturs ir eksponenciāls, mikroorganismu augšanas ātruma aprēķinam izmantotām transformētas baktēriju skaita decimālā logaritma (lg) vērtības, kuru regresija ir tuva lineārai izteiksmei.

Zinot sākotnējo bakteriālā piesārņojuma līmeni un balstoties uz aprēķiniem konkrētām temperatūrām, kā arī izmantojot augšanas ātruma lineāro vienādojumu, var sastādīt novērtējuma matricu ar paredzamajiem uzglabāšanas ilgumiem (termiņiem) vai arī pēc Y vērtības un noteiktā sākotnējā piesārņojuma var aprēķināt uzglabāšanas laiku konkrētai gaļas partijai:

$$H = Y \times A, \quad (2)$$

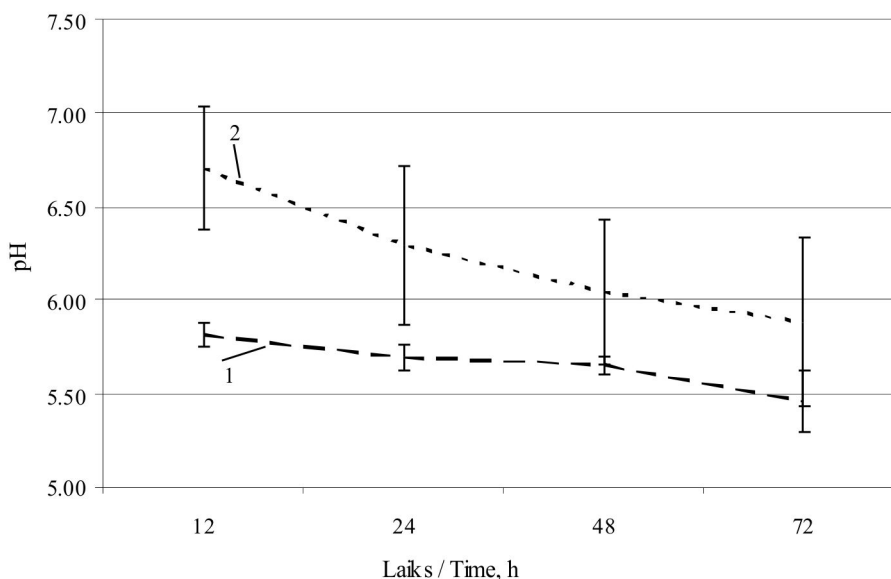
kur

H – paredzamais drošas uzglabāšanas ilgums, h;

Y – baktēriju skaita izmaiņu augšanas ātruma lg, kvv g⁻¹ h⁻¹;

A – sākotnēji noteiktais mikroorganismu skaita lg, kvv g⁻¹.

Lai apstiprinātu mikrobioloģisko rezultātu, papildus klasiskajām mikrobioloģiskajām metodēm tika izmantota arī PCR tehnika. No 80 analizētajiem paraugiem tika atlasīti 8 paraugi (10%), un reakcija tika veikta gan sākotnējam materiālam (t.i., staltbriežu gaļas paraugiem), gan arī jau izolētai tīrkultūrai. Sākumā no izvēlētajiem paraugiem tika izdalīta DNS, izmantojot *DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen)* audu paraugu un gram-negatīvo baktēriju DNS izdalīšanas protokolu. Pēc tam ar spektrofotometru *NanoDrop (Applied Biosystems)* tika pārbaudītas izdalīto DNS koncentrācijas un tīrība. Mērījumi liecināja, ka iegūtās tīrkultūru DNS ir tīras, tomēr to koncentrācija ir inhibējoša PCR veikšanai. Savukārt gaļas paraugu DNS koncentrācijas atbilda vajadzīgajām, tādēļ netika veikta to atšķaidīšana. Pirms PCR veikšanas tīrkultūru DNS paraugi tika atšķaidīti līdz aptuvenai



1. att. pH vidējā līmeņa izmaiņas savvaļas dzīvnieku gaļas paraugos pēc 12–72 stundu (gaļas vērtības stabilizācijas laiks) uzglabāšanas +4 °C temperatūrā: 1 – pH stirnām; 2 – pH staltbriežiem.

Fig. 1. Changes in mean pH values of game meat samples after 12–72 hours (value stabilization time) of storage at the temperature of +4 °C: 1 – roe deer; 2 – red deer.

koncentrācijai 100 ng ml⁻¹, kas ir optimāla reakcijas veikšanai.

Lai apstiprinātu mikrobioloģiskajās analizēs konstatēto *E.coli* klātbūtni gaļas paraugos un izolētās *E.coli* celmu tīrkultūras, 10% izmeklējumu (8 gaļas paraugiem un 8 *E.coli* celmu tīrkultūru paraugiem) papildus klasiskajām mikrobioloģiskajām metodēm tika izmantota PCR tehnika, pielietojot randomizācijas metodi. Sākumā no izvēlētajiem paraugiem tika izdalīta DNS, izmantojot *DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen)* audu paraugu un gram-negatīvo baktēriju DNS izdalīšanas protokolu. PCR arī veicām, lai noskaidrotu, vai kāds no celmiem nesatur patogēnos toksīnus producējošos gēnus VT1 un VT2 un intimīna gēnu *eaeA*, kuri kalpo par piesaistes vietu toksīniem.

Ar PCR izdalītās *E.coli* identifikācija tika pārbaudīta, iegūtos datus saskaņojot ar Nacionālā centra biotehnoloģiskās informācijas datu bāzi (*National Center for Biotechnology Information*). Pārbaudot sekvencēšanas datu korektumu, izmantojām Sekvences salīdzināšanas datu bāzi (*Sequence Similarity Search – BLAST*).

Mikroorganismu kvv absolūtais skaits tika izteikts logaritmos pie bāzes 10. Datu apstrāde veikta ar matemātiskās statistikas metodēm. Metožu novērtējumam un salīdzinājumam izmantota regresijas analīze, izmaiņu būtiskums pārbaudīts ar dispersiju salīdzinošiem testiem.

Rezultāti un diskusija

Savvaļas stirnu (*Capreolus capreolus*) un nebrīvē audzētu staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļas pH izmaiņas

Ziemas apstākļi medību sezonas laikā un apkārtējās vides zemā temperatūra veicināja strauju nošauto stirnu un staltbriežu ķermeņu atdzišanu. Pētījumi parādīja, ka gaļas sākotnējais pH līmenis, kā arī tā samazināšanās pētītajām sugām būtiski atšķiras (1. att.). Mūsu pētījumā minimālās pH vērtības stirnas gaļai tūlīt pēc nošaušanas bija 5.8, bet briežu gaļai – 6.7. Pēc A. Sproģes datiem (2000) dzīvnieku dzīves laikā pH to muskuļaudos ir tuvu 7.2, tūlīt pēc atasiņošanas pazeminās līdz 6.0–7.0, bet vēlāk samazinās līdz minimumam – 5.4 līdz 5.6.

1. attēlā redzams, ka sākotnēji vidējais pH stirnu gaļas paraugos bija 5.8, bet pēc 72 stundu uzglabāšanas samazinājās līdz 5.5. Savukārt briežu gaļas paraugos sākotnējais pH bija augstāks (6.7) un pēc 72 stundu uzglabāšanas samazinājās līdz 5.9. Kā norāda H. Sielaff (1996) un M. M. Carlos Sanudo, J. L. Campo et al. (2007), gaļas izturību pret bojāšanos nodrošina pH: vides pH kļūstot skābākam, pienskābes uzkrāšanās rezultātā gaļas uzglabāšanas laiks pagarinās.

Gaļas pH būtiski ietekmē mikroorganismu attīstību (*Diagnostic Procedures ...*, 1981). Katrai mikroorganismu grupai ir savs pH intervāls, piemēram, *Escherichia* spp. pH – 4.0–9.0. Tā kā viens no svarīgākajiem baktēriju augšanu noteicošajiem

faktoriem ir pH, tad enterobaktēriju skaita pieaugumu stirnu gaļā var pamatot ar pH izmaiņām (sākumā – 5.8, bet vēlāk samazinājās līdz 5.5). Sākotnējā stirnu gaļas pH vērtība liecina par to, ka, medībām notiekot ziemas mēnešos, stirnas tiek nošautas mierīgos apstākļos, bez stresa, tās nav bijušas nogurušas. Šie novērojumi sakrīt arī ar V. Atanassova, J. Apelt et al. (2007) atziņām.

Mūsu pētījumos augstais sākotnējais pH līmenis, t.i., 6.7, briežu gaļā liecina par dzīvnieku stresu pirms nošaušanas. To varēja novērot, staltbriežus dzenot aplokos, kas bija paredzēti speciāli šim mērķim. Augstais pH līmenis gaļā, ko konstatēja pēc dzīvnieka nodīrāšanas, liecina par lielu ūdens noturību gaļā, jo vēl nebija notikusi organisko skābju veidošanās. Kā norāda pētnieki (Wiklund, Drew, Ahman, 2002), gaļas uzglabāšanas laikā, kad bioķīmiskās bojāšanās procesi notiek ātrāk, gaļas derīguma termiņš saīsinās, kas savukārt ir būtisks gaļas kvalitātes defekts. Ja pH līmenis ir paaugstināts (6.7), brieža gaļa ir cietāka nekā tad, ja gaļas pH ir normāls (5.5–5.8). Literatūrā atrodams, ka staltbriežu gaļas maksimālā pH vērtība pasliktina produktu kvalitāti un samazina gaļas derīguma termiņu (Gill, 2007; Wiklund, Malmfors, 2004). G. Reinken, W. Hartfiel un E. Korner (1980) atzīmē: ja gaļas pH ir 5.5, tā ir daudz maigāka nekā gaļa, kuras pH ir robežās no 5.8 līdz 6.0. Mūsu pētījumā pH 5.5 bija stirnu gaļai, ko uzglabāja 72 stundas.

Svaigas gaļas maksimālo pH vērtību nosaka apmēram 24 stundas pēc dzīvnieka nošaušanas. Medījumu svaigo gaļu raksturo ar trim burtiem – DFD (no angļu val. *dark, firm, dry* – tumša, cieta, sausa), kas ir pastāvīgs mājdzīvnieku gaļas kvalitātes defekts. DFD mājdzīvnieku gaļu nevar iepakot vakuumā, jo tas saīsinā gaļas derīguma termiņu, kā arī ievērojami izmaina gaļas krāsu, struktūru un ūdensnoturīgumu (Wiklund, Drew, Ahman, 2002). Turpretim vakuumā iesaiņotas brieža gaļas uzglabāšanas termiņš $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūras režīmā var būt pat līdz 18 nedēļām (Wiklund, Malmfors, 2004).

Uzglabājot gaļu, viens no galvenajiem tās bojāšanās veidiem ir gaļas virsmas glumēšana. Pēc D. Kārklīņas, A. Blijas u.c. (2005) secinājumiem, viens no svarīgākajiem šī mikrobioloģiskā riska veidošanās tehnoloģiskā procesa etapiem ir izejvielas sagatavošana. Lai izvērtētu svaigas gaļas uzglabāšanas laika ietekmi uz produkta bojāšanos, autori ir pētījuši amino-amonija slāpekļa veidošanās dinamiku. Gaļas olbaltumvielām sadaloties, pūšanas procesā tiek sarautas olbaltumvielu peptīdu saites (-CO-NH-), kā rezultātā palielinās brīvo amino-

un karboksilgrupu skaits. Vienlaicīgi notiek aminoskābju dezaminēšanās, kas ir saistīta ar amonija savienojumu uzkrāšanos. Attiecīgi gaļā palielinās slāpekļa aminogrupu un slāpekļa amonija (amino-amonija slāpekļa) daudzums. Visu iepriekš minēto procesu rezultātā, kurus veic gaļā vai uz tās virsmas atrodošies mikroorganismi, notiek gaļas sadalīšanās un tās uzturvērtības pazemināšanās.

V. Hozjajevs (Хозяев, 2002) ir konstatējis, ka medijamo dzīvnieku gaļas nobriešana notiek lēnāk nekā liellopu gaļai, ko viņš skaidro ar stresa aptākļiem pirms dzīvnieka nošaušanas, kad pastiprināti palielinās glikogēna patēriņš. Lielo medijamo dzīvnieku gaļa nobriešanas procesā izmainās – nokrāsa mainās no tumši sarkana toņa uz gaišāku, bet vēlāk paliek tumši brūna vai atkal tumši sarkana, smarža kļūst aromātiskāka un struktūra mīkstāka. Nobriedušas medījuma gaļas tumšo nokrāsu daļēji iespaido dzīvnieka nepilnīga atasiņošana nošaušanas brīdī.

Dažādos temperatūras režimos uzglabātas savvaļas dzīvnieku gaļas mikrobiālais piesārņojums

Mūsu pētījumi liecināja, ka medijamo dzīvnieku gaļas uzglabāšanas termiņš visās pārbaudītajās uzglabāšanas temperatūrās ($+4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ un $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$) ir ierobežots. Pat $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra nevarēja nodrošināt abu dzīvnieku sugu gaļas atbilstošu mikrobiālo kvalitāti, jo MAFAM skaits uzglabāšanas laikā palielinājās, pēc 168 stundām 1.4 reizes pārsniedzot nekaitīguma kritērijus. Iespējams, viens no cēloņiem ir saistīts ar iekšējo orgānu traumu eviscerācijas laikā, ko ietekmēja nepietiekamā kautuves strādnieku kvalifikācija. Literatūrā ir norādes (Gill, 2007), ka gaļas kvalitātes nodrošināšanā būtiska nozīme ir laika periodam, no dzīvnieka nošaušanas līdz brīdim, kad tā liemenis tiek ievietots atdzesēšanas kamerā. Pētījumos (Lawrie, Ledward, 2006; Donnison, Ross, 2004) konstatēts, ka jau dažu stundu laikā pēc liemeņa apstrādes sākas svaigas gaļas bojāšanās process – mikroorganismu skaits uz gaļas virsmas strauji palielinās. Šī procesa rezultātā gaļa kļūst vizuāli nepievilcīga – izmainās tās krāsa –, un īsā laikā gaļa kļūst bīstama patērētājam.

Gaļas kontaminācija ar mikroorganismiem ir neizbēgama – uz tās var nokļūt paša dzīvnieka zarnu mikroflora, kura var saturēt ap 3.3×10^{13} baktēriju šūnu. Arī apkārtējā vide (zemsedze), mednieka rokas, apģērbs un apstrādes instrumenti ir gaļas piesārņojuma avots (Reinken, Hartfiel, Korner, 1980). Vairošanās procesā baktērijas un mikroskopiskās sēnes sadala gaļā esošās organiskās vielas, kas bojā gaļas kvalitāti,

Savvaļas dzīvnieku gaļas paraugos noteikto MAFAM un enterobaktēriju skaita vidējās vērtības atkarībā no gaļas uzglabāšanas ilguma un temperatūras
Mean total colony count and mean number of *Enterobacteriaceae* in game meat samples depending on meat storage time and temperature

Uzglabāšanas temperatūra un ilgums / Storage temperature and time		Dzīvnieku un mikroorganismu sugas / Species of animals and microorganisms							
		stirnas / roe deer				staltbrieži / red deer			
		MAFAM / TCC		<i>Enterobacteriaceae</i>		MAFAM / TCC		<i>Enterobacteriaceae</i>	
°C	laiks / time, h	lg, kvv / cfu g ⁻¹	STD	lg, kvv / cfu g ⁻¹	STD	lg, kvv / cfu g ⁻¹	STD	lg, kvv / cfu g ⁻¹	STD
+4 °C	12	7.41	0.85	3.87	0.79	6.84	0.92	3.96	0.79
	24	7.28	0.55	4.10	0.75	6.99	0.73	4.14	0.75
	48	7.63	0.17	4.15	0.74	7.45	0.46	4.28	0.74
	72	8.16	0.57	4.28	0.63	7.97	0.47	4.59	0.63
	96	8.65	0.33	4.87	0.79	8.50	0.39	5.03	0.79
	120	8.85	0.79	5.35	0.58	8.78	0.43	5.39	0.58
	144	9.24	0.69	5.58	0.40	9.06	0.33	5.46	0.40
	168	9.54	0.29	5.73	0.26	9.38	0.31	5.68	0.26
+8 °C	12	7.41	0.85	3.87	0.73	6.84	0.92	3.76	0.79
	24	7.37	0.56	3.86	0.34	7.34	1.03	4.06	0.66
	48	8.05	0.67	3.82	0.54	7.97	0.76	4.20	0.76
	72	7.97	0.15	4.58	0.34	8.45	0.63	4.65	0.64
	96	8.79	0.51	5.18	0.20	8.74	0.53	5.11	0.44
	120	9.17	0.46	5.59	0.47	9.24	0.50	5.55	0.48
	144	9.36	0.40	5.70	0.15	9.49	0.54	5.75	0.33
	168	9.73	0.39	5.83	0.19	9.94	0.36	5.92	0.24
+20 °C	12	7.41	0.85	3.87	0.79	6.84	1.01	3.76	0.64
	24	8.60	0.21	5.07	1.14	8.47	0.41	4.93	0.99
	48	9.55	0.48	6.75	0.70	9.40	0.56	6.19	0.91

izdalot kaitīgus metabolisma produktus, piemēram, toksīnus, kas var būt bīstami patērētājam.

Analizējot gaļas paraugus pirms to ievietošanas atdzesēšanas kamerā, tika konstatēts ievērojams gaļas virsmas mikrobiālais piesārņojums: baktēriju kvv g⁻¹ kopskaita lg stirnu gaļai bija 7.41, bet briežu gaļai – 6.84; savukārt enterobaktēriju kvv g⁻¹ kopskaita lg – attiecīgi 3.87 un 3.96. Iegūtie rezultāti parādīja, ka stirnu un briežu gaļas mikrobiālais piesārņojums pirms uzglabāšanas pārsniedza nekaitīguma kritēriju robežvērtību – 5×10⁶ kvv g⁻¹ (10⁶=lg 6) (Komisijas Regula (EK) Nr. 2073/2005).

Mikrobioloģisko pētījumu rezultāti dažādos temperatūras režīmos un dažādos laika periodos parādīti 1. tabulā. Pētījumi liecina, ka medījumu gaļas piesārņotība sākas jau medību procesā un medījumu higiēna un nošauto dzīvnieku gaļas kvalitāte ir atkarīga no mednieka prasmes, attieksmes un trāpījuma precizitātes. Liela nozīme ir arī dzīvnieka veselības stāvoklim pirms nošaušanas. Labas kvalitātes medījumu gaļu var iegūt tikai tad, ja stingri tiek ievērotas higiēnas prasības: noteikumi medījuma transportēšanai un liemeņa apstrādes procesam, kā arī minimālais laiks no medījuma apstrādes līdz liemeņa

atdzesēšanai un tālākai pārstrādei (Atanassova, Apelt et al., 2007).

Kā atzīmē V. Atanassova, J. Apelt et al. (2007) un E. Wiklund, K. R. Drew, B. Ahman (2002), svarīgi ir kontrolēt, lai dzīvnieks, kas ievainots vēderā, tiktu nošauts ātrāk un nenotiktu muskulatūras piesārņošanās ar zarnu mikrofloru. Lai nodrošinātu gaļas kvalitāti, svarīgs ir arī gaļas nogatavināšanās process. Nepietiekamas medījumu gaļas nogatavināšanās rezultātā tai ir augsti metabolisma atliekvielu rādītāji. Apstākļi gaļas izturēšanas laikā var paātrināt metabolisma procesus liemeņa muskulatūrā.

Mūsu rezultāti sakrīt ar citu pētnieku (Зayne, Шрайтер, 1985; Lawrie, Ledward, 2006) secinājumiem, ka pārtikas higiēnas prasībām atbilstošu gaļas kvalitāti var nodrošināt, gaļu uzglabājot temperatūrā no 0 līdz -10 °C. Vairums baktēriju pārstāj augt un vairoties -10 °C temperatūrā, un līdz ar to tiek pārtraukti arī taukus un proteīnus šķeļošo fermentu veidošanās procesi.

Identificējot *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijas sugu līmenī, konstatējām, ka visbiežāk gaļu kontaminēja *Escherichia coli*, *Escherichia freundii*, *Hafnia alvei*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae* un *Enterobacter cloacae*. Kā briežu gaļas sporādisks infekcijas avots literatūrā tiek minēta *E.coli O157:H7* (Carter, 1990b; Rabatsky-Ehr, Dingman et al., 2002). Ar šo celmu staltbrieži var kontaminēties ganībās, kuru piesārņojumu izraisījušas mikroorganisma nēsātājas – govīs. Arī paši staltbrieži var būt šī mikroorganisma īslaicīgi nēsātāji (Mshar, 2002). Literatūrā minēti arī citi ierosinātāji, kas var piesārņot gaļu un var būt bīstami cilvēka veselībai. Dž.Hoults, N. Krīgs u.c. (Хоулт, Криг и др., 1997) norāda veselu virkni medījumu gaļas piesārņotāju – cilvēku veselībai bīstamu nosacīti patogēnu mikroorganismu:

- nosacīti patogēna gramnegatīva nūjiņveida baktērija – *Hafnia alvei* –, kura var būt bīstama cilvēkam, jo vairojas asinīs un urīnceļos vai brūcēs rada lokalizētas infekcijas;
- *Kluyvera* ģints baktērijas, kas sastopamas augsnē u.c. apkārtējā vidē, tāpēc viegli var nokļūt uz nomedīto dzīvnieku liemeņu virsmas vai gaļā;
- *Pantoea agglomerans*, kas ir sastopami augsnē, ūdenī un uz augiem;
- *Klebsiella* ģints baktērijas, kuras var ierosināt bakterēmiju, pneimoniju un urīnceļu infekcijas.

Pie *Enterobacteriaceae* dzimtas pieskaitāmas *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Hafnia* u.c. ģinšu baktērijas, kuras

ir fekālā piesārņojuma indikatororganismi. Arī enterobaktēriju skaits medījumu gaļā norāda uz tās ieguves un pirmapstrādes sanitāri higiēniskajiem apstākļiem (Latham, 1997).

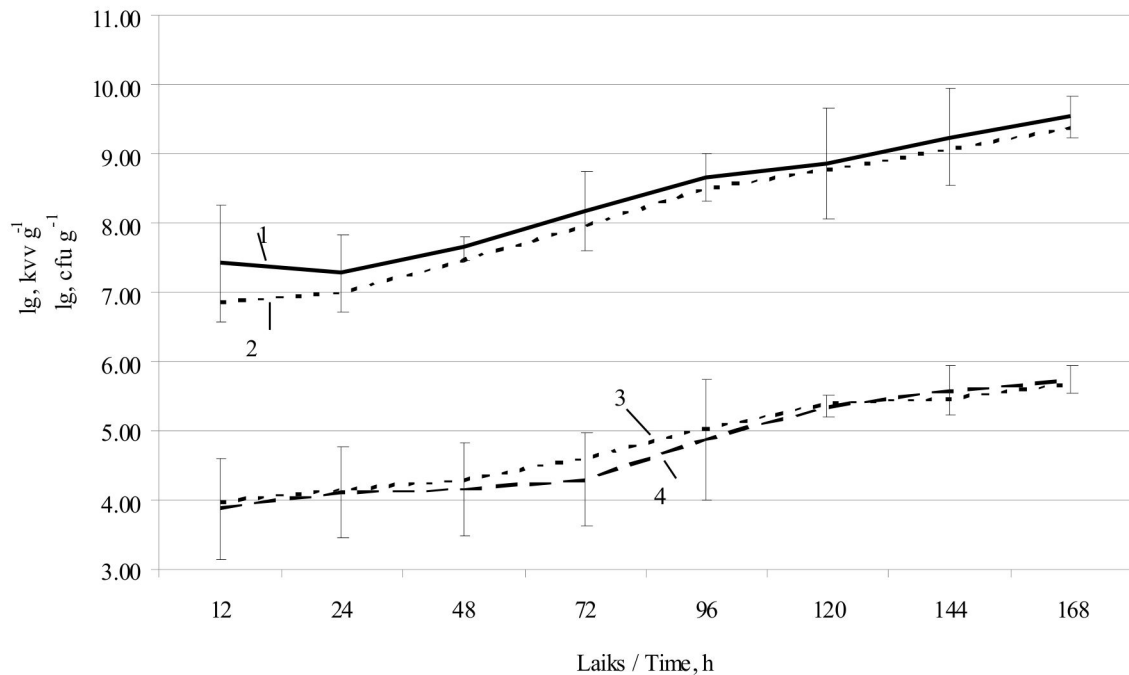
Minēto mikroorganismu sugu pārstāvjus izdalījām arī savos pētījumos – visbiežāk: *Hafnia alvei*, *Pantoea agglomerans*, *Kluyvera cryocrescens*. Mikroorganismu izplatīšanās gaļā ir atkarīga no mikrofloras dzimtas un gaļas uzglabāšanas temperatūras un ilguma. Anaerobie mikroorganismi vispirms sāk attīstīties kautķermeņa locītavu un kaulu tuvumā un lielajos asinsvados, intensīvi šķeļot olbaltumvielas un veidojot amīnus, putrecīnu, kadakerīnu, muskarīnu, neirīnu, indolu un skatolu. Nepietiekama gaisa cirkulācijas apstākļos gaļā sāk vairoties arī pelējumu sēnītes.

Apkārtējā gaisa temperatūras ietekmē mikroorganismi, kas mīt liemeņa dobumā un uz audu griezumā virsmām, turpina vairoties – jo augstāka temperatūra, jo straujāka vairošanās. Turpmākā mikroorganismu vairošanās gaļā notiek laikā, kad liemeņi pirms to sadalīšanas tiek turēti dzesēšanas temperatūrā. Kā parādīja mūsu pētījumi, liemeņu sākotnējo un turpmāko mikrobioloģisko stāvokli ietekmē paša medījuma piesārņojuma intensitāte un izteikti augstais piesārņojums logaritmos, tādēļ iegūtās gaļas mikrobioloģiskie rādītāji ir stipri atšķirīgi. Klīniski veselu nošautu medijamo dzīvnieku audi nebija mikrobiāli piesārņoti. Dziļo muskuļaudu piesārņojums ir iespējams gadījumos, kad nošaušanas laikā dzīvniekā tiek ievadīts liels daudzums mikroorganismu, kas nekavējoties pa visu tā ķermeni tiek iznēsāti ar asinīm (Gill, 2007).

No 1. tabulā un 2. attēlā dotās informācijas redzams, ka MAFAM kvv g⁻¹ kopskaita lg stirnu gaļā, uzglabājot to 168 stundas +4 °C temperatūrā, palielinājās no 7.41 pirms uzglabāšanas uzsākšanas līdz 9.55, bet staltbriežu gaļā kvv g⁻¹ kopskaita lg – atbilstoši no 6.84 līdz 9.40. Arī enterobaktēriju skaits gan stirnu, gan briežu gaļā palielinājās līdzvērtīgi.

Uzglabājot gaļu +8 °C temperatūrā 168 stundas, (1. tabula, 3. att.), MAFAM kopskaits stirnu gaļā palielinājās no 7.41 pirms uzglabāšanas uzsākšanas līdz 9.73 lg kvv g⁻¹, bet staltbriežu gaļā – atbilstoši no 6.84 līdz 9.94 lg kvv g⁻¹. Tā kā gaļas paraugi jau pirms uzglabāšanas +8 °C temperatūrā bija stipri kontaminēti, tad uzglabāšanas laikā MAFAM skaits abām grupām 1.5 reizes pārsniedza nekaitīguma kritērijus. Kā stirnu gaļā, tā arī staltbriežu gaļā palielinājās arī *Enterobacteriaceae* baktēriju skaits.

Salīdzinot stirnu un staltbriežu gaļas paraugu mikrobioloģisko analīžu rezultātus, visos temperatūras



2. att. MAFAM un enterobaktēriju augšanas līknes +4 °C temperatūrā uzglabātos savvaļas dzīvnieku gaļas paraugos: 1 – MAFAM stirnām; 2 – MAFAM staltbriežiem; 3 – *Enterobacteriaceae* stirnām; 4 – *Enterobacteriaceae* staltbriežiem.

Fig. 2. Growth curves of TCC and *Enterobacteriaceae* in game meat samples stored at the temperature of +4 °C: 1 – TCC in roe deer; 2 – TCC in red deer; 3 – *Enterobacteriaceae* in roe deer; 4 – *Enterobacteriaceae* in red deer.

režīmos netika konstatētas būtiskas atšķirības starp mikroorganismu kvv g⁻¹ skaita lg izmaiņām (p≥0.05). Tātad mikroorganismu kopskaits gaļā nav atkarīgs no dzīvnieka sugas. Mikroorganismu augšanas dinamikā netika pierādītas būtiskas atšķirības (p≥0.05) starp uzglabāšanas režīmiem +4 °C un +8 °C temperatūrā (2.–3. att.).

Palielinoties gaļas uzglabāšanas ilgumam un temperatūrai paaugstinoties līdz +8 °C, attiecīgi palielinājās arī MAFAM un enterobaktēriju skaits. Uzglabājot gaļu +20 °C temperatūrā, jau 48 stundu laikā gan MAFAM, gan arī enterobaktēriju skaita lg sasniedza tādu mikrobiālā piesārņojuma līmeni, kāds bija +4 °C un +8 °C temperatūrā 168 stundas uzglabātai gaļai (1. tabula).

Mezofilo baktēriju un enterobaktēriju mikroorganismu vairošanās (augšanas ātrums, izteikts lg kvv g⁻¹ h⁻¹) stirnu un nebrīvē audzētu briežu gaļā atkarībā no uzglabāšanas temperatūras atspoguļots 2. tabulā.

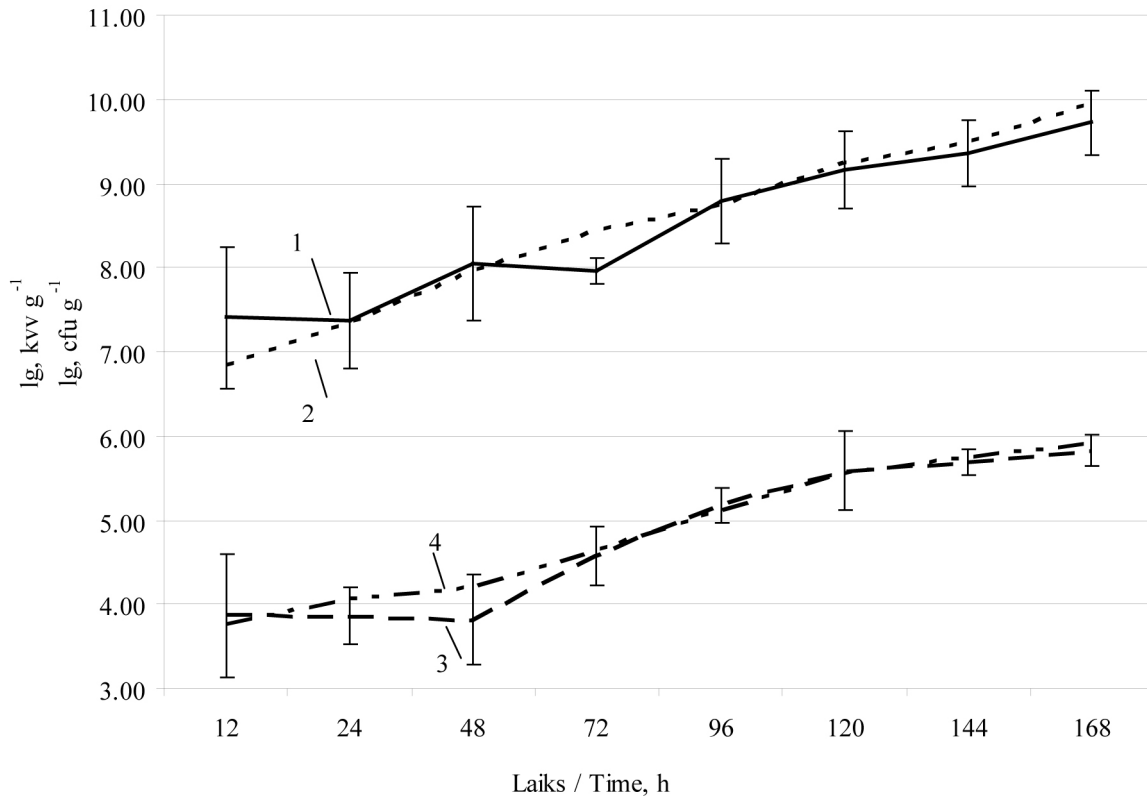
MAFAM augšanas ātrums (lg kvv g⁻¹ h⁻¹) stirnu gaļā +4 °C temperatūrā palielinājās līdz 0.0127, bet +8 °C temperatūrā – līdz 0.0138; savukārt staltbriežu gaļā – attiecīgi līdz 0.0151 un 0.0185. MAFAM

augšanas ātrums (lg kvv g⁻¹ h⁻¹) +20 °C temperatūrā stirnu gaļā bija 0.0448, bet staltbriežu gaļā – 0.0534.

Enterobaktēriju augšanas ātrums (lg kvv g⁻¹ h⁻¹) +4 °C, +8 °C un +20 °C temperatūrā stirnu gaļā palielinājās attiecīgi līdz 0.0111, 0.0116 un 0.0599, bet staltbriežu gaļā – attiecīgi līdz 0.0102, 0.0128 un 0.0507.

Var secināt, ka MAFAM augšanas dinamika stirnu gaļā ir lēnāka nekā staltbriežu gaļā, bet enterobaktēriju augšanas ātrums stirnu gaļā ir straujāks (izņemot +20 °C temperatūrā) nekā briežu gaļā. Mikroorganismu augšanas intensitāte dažādos paraugu uzglabāšanas laikos un temperatūrās ir atšķirīga.

Medījumu gaļas paraugu mikrobioloģiskie izmeklējumi rādīja, ka MAFAM daudzums tajos ir relatīvi liels un pēc 12 stundām stirnu gaļā kvv g⁻¹ skaita lg sasniedza 7.41, bet staltbriežu gaļā – 6.84. Var secināt, ka MAFAM skaits +4 °C temperatūrā uzglabātā medījumu gaļā pārsniedz maksimāli pieļaujamās robežas jau pirmajās 12 stundās. Arī pārējos uzglabāšanas temperatūras režīmos bija pārsniegts maksimālais MAFAM daudzums. Pētījuma rezultāti liecina, ka mikroorganismu skaita



3. att. MAFAM un enterobaktēriju augšanas līknes +8 °C temperatūrā uzglabātos savvaļas dzīvnieku gaļas paraugos: 1 – MAFAM stirnām; 2 – *Enterobacteriaceae* stirnām; 3 – MAFAM staltbriežiem; 4 – *Enterobacteriaceae* staltbriežiem.

Fig. 3. Growth curves of TCC and *Enterobacteriaceae* in game meat samples stored at the temperature of +8 °C: 1 – TCC in roe deer; 2 – *Enterobacteriaceae* in roe deer; 3 – TCC in red deer; 4 – *Enterobacteriaceae* in red deer.

2. tabula / Table 2

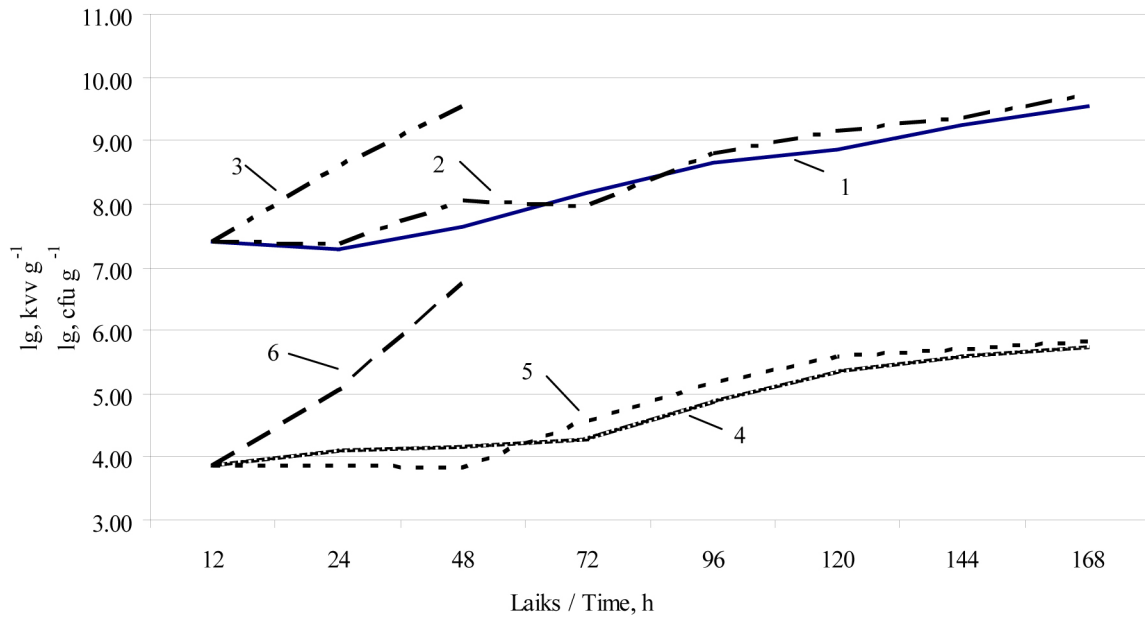
MAFAM un enterobaktēriju augšanas dinamika ($\lg, \text{kvv g}^{-1}$) savvaļas dzīvnieku gaļā atkarībā no gaļas uzglabāšanas temperatūras
Growth dynamics of total colony count and *Enterobacteriaceae* ($\lg, \text{cfu g}^{-1}$) in game meat depending on meat storage temperature

Uzglabāšanas temperatūra / Storage temperature	Stirnas / Roe deer		Staltbrieži / Red deer	
	MAFAM / TCC	<i>Enterobacteriaceae</i>	MAFAM / TCC	<i>Enterobacteriaceae</i>
+4 °C	0.0127	0.0111	0.0151	0.0102
+8 °C	0.0138	0.0116	0.0185	0.0128
+20 °C	0.0448	0.0599	0.0534	0.0507

palielināšanās medījumu gaļā veicina tās bojāšanās procesu. MAFAM kopskaits var tikt izmantots kā medījumu gaļas kopējā mikrobioloģiskā piesārņojuma un tās iegūšanas un pirmapstrādes procesa kvalitātes novērtēšanas rādītājs. Mūsu pētījums pierādīja, ka pat +4 °C uzglabāšanas

temperatūra ne vienmēr var nodrošināt atbilstošu gaļas kvalitāti.

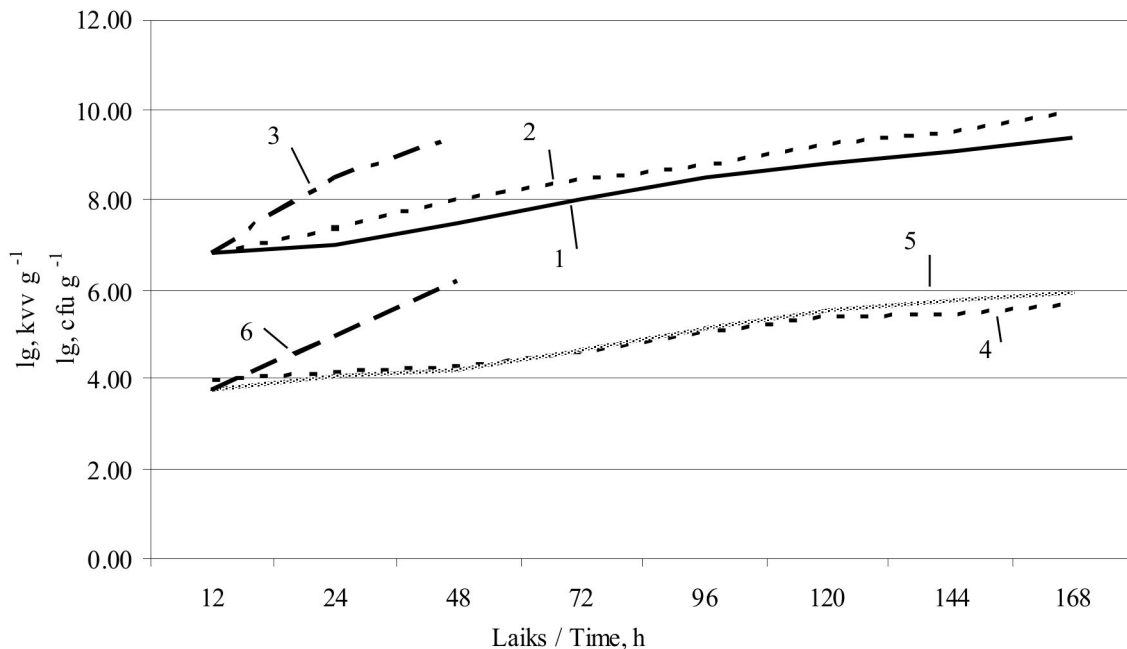
Palielinoties medījumu gaļas uzglabāšanas ilgumam, attiecīgi palielinās arī MAFAM skaits. Daži autori uzskata, ka vakuumā iesaiņotas briežu gaļas uzglabāšanas termiņš -1 °C temperatūrā ir līdz



4. att. MAFAM un enterobaktēriju augšanas dinamika stirnu gaļas paraugos, kas uzglabāti dažādās temperatūrās: 1 – MAFAM +4 °C; 2 – MAFAM +8 °C; 3 – MAFAM +20 °C; 4 – *Enterobacteriaceae* +4 °C; 5 – *Enterobacteriaceae* +8 °C; 6 – *Enterobacteriaceae* +20 °C.

Fig. 4. Growth dynamics of TCC and *Enterobacteriaceae* in roe deer meat samples stored at different temperatures: 1 – TCC at +4 °C; 2 – TCC at +8 °C; 3 – TCC at +20 °C;

4 – *Enterobacteriaceae* at +4 °C; 5 – *Enterobacteriaceae* at +8 °C; 6 – *Enterobacteriaceae* at +20 °C.



5. att. MAFAM un enterobaktēriju augšanas dinamika staltbriežu gaļas paraugos, kas uzglabāti dažādās temperatūrās: 1 – MAFAM +4 °C; 2 – MAFAM +8 °C; 3 – MAFAM +20 °C; 4 – *Enterobacteriaceae* +4 °C; 5 – *Enterobacteriaceae* +8 °C; 6 – *Enterobacteriaceae* +20 °C.

Fig. 5. Growth dynamics of TCC and *Enterobacteriaceae* in red deer meat samples stored at different temperatures: 1 – TCC at +4 °C; 2 – TCC at +8 °C; 3 – TCC at +20 °C;

4 – *Enterobacteriaceae* at +4 °C; 5 – *Enterobacteriaceae* at +8 °C; 6 – *Enterobacteriaceae* at +20 °C.

18 nedēļām (Wiklund, Malmfors, 2004). Viens no svarīgākajiem baktēriju augšanas faktoriem ir vides pH. Mūsu pētījumā šis rādītājs stirnu gaļā izmainījās no 5.8 līdz 5.5, bet briežu gaļā – no 6.7 līdz 5.9, kas veicināja enterobaktēriju augšanu. Baktēriju augšanas ātrums +20 °C temperatūrā būtiski ($p < 0.05$) atšķīrās un bija straujāks, salīdzinot ar baktēriju augšanas ātrumu +4 °C un +8 °C temperatūrā (4.–5. att.).

Izmeklējumu sākumā enterobaktērijas veidoja 52.3% no baktēriju kopējā skaita stirnu gaļā un 57.8% briežu gaļā, bet pēc 168 stundu uzglabāšanas gan +4 °C, gan +8 °C, gan arī +20 °C temperatūrā to daudzums jau bija 60% no baktēriju kopējā skaita abu dzīvnieku gaļas paraugos. Tas neapstiprina literatūrā doto pieņēmumu, ka abu pētīto baktēriju grupu augšanas ātrumi atšķiras atkarībā no temperatūras vai vides (stirnu gaļa vai briežu gaļa).

Molekulārās bioloģijas metodes – polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) – pielietojums mikroorganismu identificēšanai savvaļas dzīvnieku gaļā un no gaļas izdalīto mikroorganismu sugas atbilstības noteikšanai

Lai pārbaudītu klasisko mikrobioloģijas metožu un PCR datu sakrītību, pirmais tīrkultūras paraugs tika izvēlēts sekvenēšanas reakcijas veikšanai, kas arī ir bieži izmantojama metode bakteriālo infekciju konstatēšanā. Pētījumi atklāja, ka neviens no 8 izvēlētajiem *E.coli* celmu paraugiem nesaturēja ne verocitotoksīnus producējošos gēnus, ne intimīna gēnu *eaeA*, tādējādi pierādot, ka gaļu var droši izmantot pārtikā.

Veicot *E.coli* DNS sekvenēšanas reakciju un mūsu iegūtos rezultātus salīdzinot ar Internetā pieejamo mikroorganismu genomu datubāzi (Data basis of National Center for Biotechnology Information „Sequence Similarity Search”), varējām konstatēt, ka izolētās tīrkultūras atbilst *E.coli* 16Sr DNS rajonam, tādējādi apstiprinot veikto tradicionālo mikrobioloģisko metožu korektumu.

Pēdējo 25 gadu laikā pētījumi (Hoffman, Wiklund, 2006) par faktoriem, kas ietekmē medījamo dzīvnieku gaļu, ir būtiski paplašinājušies un padziļinājušies, tomēr arvien vēl trūkst ziņu par gaļas ražošanas vai apstrādes procesa (kaušanas tehnikas) un iegūtās gaļas kvalitātes savstarpējo mijiedarbību. Mūsu veiktie medījumu gaļas mikrobioloģiskie un molekulārbioloģiskie izmeklējumi pierādīja, ka medījumu gaļas kopējais mikrobioloģiskais piesārņojums ir tās iegūšanas procesa un

pirmapstrādes labas pārtikas higiēnas prakses rādītājs. Medījumu gaļas uzglabāšana dažādos temperatūras režīmos un uzglabāšanas laikos var izraisīt nevēlamas izmaiņas gaļā, kas var ietekmēt pārtikas produktu drošumu, un tie var kļūt neizmantojami cilvēku uzturā. Literatūrā ir maz datu par medījamo dzīvnieku gaļas mikrobioloģiskajiem rādītājiem, un, lai gan netradicionālā lauksaimniecības nozare – briežkopība – mūsu valstī attīstās lēni, pētījumi jāturpina, sevišķi attiecībā uz nebrīvē audzētiem dzīvniekiem.

Secinājumi

1. Sākotnējais pH stirnu (*Capreolus capreolus*) un staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļā, kā arī pH izmaiņas pēc dzīvnieku nošaušanas būtiski atšķīrās starp pētītajām sugām. Stirnu gaļas sākotnējais pH 5.8 liecina par to, ka stirnas nošautas apstākļos bez stresa, bet augstais sākotnējais pH 6.7 staltbriežu gaļā liecina par dzīvnieku stresu pirms nošaušanas.
2. Palielinoties stirnu (*Capreolus capreolus*) un nebrīvē audzējamo staltbriežu (*Cervus elaphus*) svaigas gaļas uzglabāšanas ilgumam, attiecīgi palielinājās arī MAFAM un *Enterobacteriaceae* skaits visos uzglabāšanas temperatūras režīmos.
3. Uzglabāšanas periodā (168 stundas) abu sugu dzīvnieku gaļas MAFAM un enterobaktēriju skaita attiecība palika konstanta un enterobaktēriju skaits veidoja apmēram 60% no baktēriju kopējā skaita.
4. Uzglabājot savvaļas dzīvnieku un nebrīvē audzējamo staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļu +4 °C, +8 °C un +20 °C temperatūrā, tajā dominēja *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismi, kuru augšana minētajās temperatūrās netika kavēta.
5. Gaļas uzglabāšanas laikā MAFAM skaita palielināšanās stirnu gaļā bija lēnāka nekā staltbriežu gaļā, bet enterobaktēriju augšanas ātrums – straujāks nekā briežu gaļā, izņemot +20 °C uzglabāšanas temperatūru, kad enterobaktēriju augšanas ātrums stirnu gaļā bija straujāks nekā staltbriežu gaļā.
6. Veicot *E.coli* DNS sekvenēšanas reakciju un iegūtos rezultātus salīdzinot ar Internetā pieejamo mikroorganismu genomu datubāzi, tika pierādīts, ka izolētās tīrkultūras atbilst *E.coli* 16Sr DNS rajonam, kas parāda veikto mikrobioloģisko metožu korektumu.

Literatūra

- Atanassova, V., Apelt, J., Reich, F., Klein, G. (2007) Microbiological quality of freshly shot game in Germany. *Meat Science*, 78, 414–419.
- Carlos Sanudo, Campo, M.M., Olleta, J.L., Joy, M., Delfa, R. (2007) Methodologies to evaluate meat quality in small ruminants. „Evaluation of carcass and meat quality in cattle and sheep”. *EAAP publication No. 123*, 81–98.
- Carter, M.E. (1990a) Enterobacteria. *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. Eds M.E. Carter, J.R. Cole. Academic Press, San Diego, 92–98.
- Carter, M.E. (1990b) Enterobacteria. *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. Eds M.E. Carter, J.R. Cole. Academic Press, San Diego, 3–11.
- Data basis of National Center for Biotechnology Information (2010): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> – Resurss aprakstīts 2010. gada 17. novembrī.
- Donnison, A.M., Ross C.M. (2004) Thermotolerant campylobacter. *Encyclopedia of Meat Sciences*, Vol. 2. Eds W.K. Jensen, C. Devine, M. Dikeman. Amsterdam, Elsevier Academic Press, 798–804.
- Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (EK) Nr. 853/2004 (2004. gada 29. aprīlis), ar ko nosaka īpašus higiēnas noteikumus attiecībā uz dzīvnieku izcelsmes pārtiku. *Eiropas Savienības Oficiālais Vēstnesis*, 03/45. sēj., 14–74: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:03:45:32004R0853:LV:PDF> – Resurss aprakstīts 2010. gada 17. novembrī.
- Gill, C.O. (2007) Microbiological conditions of meats from large game animals and birds. *Meat Science*, 77, 149–160.
- Hoffman, L.C., Wiklund, E. (2006) Game and venison – meat for the modern consumer. *Meat science*, 74, 197–208.
- Green, G.G., Nattress, F.M. (2004) Standart methods. *Encyclopedia of meat sciences*, Vol. 2. Eds K.W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman. Amsterdam, Elsevier Academic Press, 745–754.
- Komisijas Regula (EK) Nr. 2073/2005 (2005. gada 15. novembris) par pārtikas produktu mikrobioloģiskajiem kritērijiem. *Eiropas Savienības Oficiālais Vēstnesis*, L338/1–L338/26: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:LV:PDF> – Resurss aprakstīts 2010. gada 17. novembrī.
- Kārklīņa, D., Blija, A., Skudra, L., Vaivode, I., Mančinska, Z. (2005) Riska cēloņu izpēte karsti kūpināto gaļas izstrādājumu tehnoloģiskajā procesā. *LLU Raksti*, 15 (310), 73–80.
- Latham, M.C. (1997) *Human Nutrition in the Developing World. Food and Nutrition Series*, No. 29. Chapter 29. Meat, fish, eggs, milk and their products. FAO, Rome, 283–287.
- Lawrie, R.A., Ledward, D.A. (2006) *Lawrie's Meat Science*. 7th ed. Cambridge, Woodhead Publishing, 442 p.
- LVS ISO 2917:2004 „Gaļa un gaļas produkti. pH noteikšana (references metode)”.
- LVS ISO17604:2005 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija. Mikrobioloģiskai analīzei paredzētu paraugu ņemšana no liemeņa”.
- LVS EN ISO 6887-2:2004 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija – testēšanas paraugu, sākotnējās suspensijas un decimālšķīdumu sagatavošana mikrobioloģiskām pārbaudēm – 2. daļa: īpaši noteikumi kā sagatavot gaļu un gaļas izstrādājumus”.
- LVS EN ISO 4833:2003 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija. Mikroorganismu skaitīšanas horizontālā metode. Koloniju skaitīšanas metode pie +30 °C”.
- LVS ISO 21528-2:2004 „Pārtikas un lopbarības mikrobioloģija – *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju klātbūtnes un skaita noteikšana ar horizontālmetodēm – 2. daļa: metode ar koloniju skaitīšanu”.
- Mshar, P. (2002) Deer meat as the source for a sporadic case of *Escherichiacoli*O157:H7 infection, Connecticut (1). (Dispatches): <http://www.thefreelibrary.com/Deer+meat+as+the+source+for+a+sporadic+case+of+Escherichia+coli...-a087104049> – Resurss aprakstīts 2010. gada 17. novembrī.
- Olsen, J.E. (2000) DNA-based methods for detection of food-borne bacterial pathogens. *Food Research Internacional*, 33, 257–266.
- Rabatsky-Ehr, T., Dingman, D., Marcus, R., Howard, R., Kinney, A., Mshar, P. (2002) Deer meat as the source for a sporadic case of *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Emerging Infectious Diseases*, 8 (5), 525–527.

23. Reinken, G., Hartfiel, W., Korner, E. (1980) *Damtierhaltung*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 174–187.
24. Sielaff, H. (1996) *Fleischtechnologie*. Hamburg, Behr's Verlag, 675 pp.
25. Sproģe, A. (2000) Gaļas pH ietekme uz ūdens piesaistīšanas spēju un tā ietekme uz gatavā gaļas produkta kvalitāti. *Starptautiskās zinātniskās konferences materiāli. Lopkopības produktu nekaitīgums, kvalitāte un kontroles metodes. Siguldā 2000. gada 15. septembrī*, 104–110.
26. *Diagnostic Procedures for Bacterial, Mycotic and Parasitic Infections*. (1981) Eds A. Balows, W.J. Hausler. 6th ed. American Public Health Association Inc., Washington, 468 pp.
27. Tutenel, A.V., Pierard, D., Van Hoof, J., Cornelis, M., De Zutter, L. (2003) Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. *International Journal of Food Microbiology*, 84, 63–69.
28. Wiklund, E., Drew, K.R., Ahman, B. (2002) Wild and tender deer meat. *Conference proceedings of the 5th International Deer Biology Congress*, 10–15.
29. Wiklund, E., Malmfors, G. (2004). The effects of pre-slaughter handling on reindeer meat quality – a review. *Animal Breeding Abstracts*, 72(I), IN–6N.
30. Мюнх, Г.-Д., Заупе, Х., Шрайтер, М. и др. (1985) *Микробиология продуктов животного происхождения*. Пер. с нем. Е. Г. Токаря, под ред. Н. С. Королевой и др. Москва, Агропромиздат, 590 с.
31. Хозяев, В.И. (2002) *Товароведение мяса боровой дичи диких животных и нетрадиционного мясного сырья*. Москва, Маркетинг, 236 с.
32. Хоулт, Дж., Криг, Н., Снит, П., Стэйли, Дж., Уиллямс, С. (под редакцией) (1997) *Определитель бактерий Берджи*. Том 2. Москва, Мир, 800 с.