

LATVIJĀ MEDĪJAMO DZĪVNIĒKU GAĻAS MIKROBIĀLAIS PIESĀRŅOJUMS

WILD ANIMALS MEAT POLLUTION BY MICROBIAL AGENTS IN LATVIA

Solveiga Liepina, Aleksandrs Jemeljanovs, Ināra-Helēna Konošonoka

LLU, Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra”, Latvija

LUA, Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine “Sigra”, Latvia

liepinasolveiga@inbox.lv

ABSTRACT

In order to obtain high-quality game meat, it is very important to observe strict deer farming and process and meat obtaining conditions. Microbiological control of meat is an important factor to provide harmlessness of food. The aim of the study was identification of the microbial contamination level of meat of wild roe-deer (*Capreolus capreolus*) and farmed red-deer (*Cervus elaphus*) over the storage period at different temperature regimes. Increased storage time of fresh meat of roe deer (*Capreolus capreolus*) and captive red deer (*Cervus elaphus*) also increases total colony count (TCC) and the number of *Enterobacteriaceae* at all storage temperature regimes. Ratio of the numbers of *Enterobacteriaceae* and count of mesophilic aerobic and facultative anaerobic bacteria was constant in all storage period of meat of both animal species, and the numbers of *Enterobacteriaceae* composes 60% of total bacterial count. When storing fresh meat of captive deer (*Cervus elaphus*) and wild animals at a temperature of +4 °C +8 °C +20 °C microorganisms of *Enterobacteriaceae* species predominate. Increase in TCC count in roe meat during storage was slower than in deer meat; however growth rate of *Enterobacteriaceae* was higher than in deer meat except a storage regime at +20 °C, when growth rate of *Enterobacteriaceae* was higher in roe meat comparing with deer meat at +20 °C. Our investigations were revealed significant mean of hygiene in hunting process and storage period.

KEY WORDS: venison, microbiological pollution.

IEVADS

Netradicionālā lauksaimniecības nozare – briežkopība, no kuras iegūst medījumu gaļu un citus produktus, mūsu valstī strauju attīstību ieguvusi pēdējā gadu desmitā. Ņemot vērā, ka medību process sastāv no dzīvnieka nošaušanas ar sekojošu nošautā dzīvnieka turpmāko apstrādi, aktuāli ir higiēnas jautājumi labas medību prakses nodrošināšanai. Tāpēc LLU „Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts” „Sigra” veic pētījumus drošas un veselīgas medījamo un nebrīvē audzējamo dzīvnieku gaļas augstas kvalitātes nodrošināšanai. Šajā izpētes darbā stirnu (*Capreolus capreolus*) un staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļas paraugos tika pētīts mezofili aerobie un fakultatīvi anaerobie mikroorganismi (MAFAM) un *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu piesārņojums. Līdz šim samērā maz ir veikti pētījumi par medījumu gaļas higiēnisko stāvokli un mikrobiālo piesārņojumu, tā spektru un piesārņojuma pakāpi (Paulsen, Winkelmayr, 2004; Gill, 2007; Atanassova et al., 2008; Daszkiewicz et al., 2009; García-Ruiz et al., 2010; Membré et al., 2011; Hofbauer, Smulders, 2011).

Darba mērķis bija noskaidrot un izvērtēt stirnu un nebrīvē audzējamo staltbriežu gaļas mikrobiālā piesārņojuma pakāpi, kas gūta medību procesā un gaļas uzglabāšanas laikā dažādos temperatūras režīmos.

Darba uzdevumi.

1. Noteikt stirnu un staltbriežu liemeņu virsmas un gaļas mikrobioloģiskā piesārņojuma pakāpi un mikroorganismu vairošanās dinamiku gaļas uzglabāšanas laikā dažādās temperatūrās;
2. Veikt stirnu un staltbriežu medījumu gaļas ieguves procesā iespējamā mikrobioloģiskā piesārņojuma veidojošo mikroorganismu identifikāciju.

MATERIĀLS UN METODIKA

Medību sezonā laikā periodā no 2009. gada oktobra līdz 2011. gada janvārim tika iegūti 110 medījamo dzīvnieku gaļas paraugi: t.sk. 30 stirnu (*Capreolus capreolus*) gaļas paraugi, un 80 nebrīvē audzētu staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļas paraugi.

Savvaļas medījamie dzīvnieki stirnas tika medīti dzinēju medībās dažādos medību kolektīvos, bet nebrīvē audzētie dzīvnieki tika nošauti speciāli paredzētā aplokā briežu audzēšanas saimniecībās. Vairumā gadījumu medības ilga vairāk nekā trīs stundas. Pēc dzīvnieku nošaušanas 15–20 minūšu laikā veikta kautķermeņu evescerācija. Pēc medību beigām visus nošautos dzīvniekus nogādāja gaļas pārstrādes uzņēmumā. Mikrobioloģiskajām analīzēm paredzētie paraugi tika noņemti, ievērojot standartu LVS ISO17604:2005 „Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija”.

Paraugu sagatavošana mikrobioloģiskai testēšanai tika veikta saskaņā ar standarta LVS EN ISO 6887 - 2:2004 punkta 9.2.3 noteikumiem.

Lai izvērtētu liemeņu mikroorganismu piesārņojumu uzglabāšanas procesā, paraugi tika aseptiski sadalīti trijās daļās, kurus uzglabājām atšķirīgās temperatūrās: +4 °C, +8 °C un +20 °C un attiecīgi 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 un 168 stundas jeb 7 diennaktis.

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

Datu interpretācijai izmantotas vienfaktoru un divfaktoru dispersijas analīze (ANOVA), un veikta šo datu korelācija. Medījumu gaļas mikrobioloģiskais piesārņojums raksturots ar vairākām pazīmēm – MAFAM un *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu izmeklējumu rezultātiem.

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Analizējot stirnu un staltbriežu medījumu gaļas paraugus pirms to ievietošanas atdzesēšanas kamerā, tika konstatēts ievērojams gaļas virsmas mikrobiālais piesārņojums: baktēriju kvv g⁻¹ kopskaita lg stirnu gaļai bija 3.46, bet staltbriežu gaļai – 4.13; savukārt enterobaktēriju kvv g⁻¹ kopskaita lg – attiecīgi 2.64 un 3.86. Iegūtie rezultāti parādīja, ka stirnu un briežu gaļas mikrobiālais piesārņojums uzglabāšanas laikā pārsniedza nekaitīguma kritēriju robežvērtību. – 5×10⁶ kvv g (lg 6.3) (Komisijas Regula (EK) Nr. 2073/2005).

Salīdzinot MAFAM mikroorganismu kopskaitu stirnu gaļā pēc 168 stundu uzglabāšanas pie +4 °C ar +8 °C, mikroorganismu kopskaits palielinās 0.8 reizes, savukārt, *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits 1.5 reizes. Stirnu gaļas uzglabāšana pie +20 °C tika salīdzināta pēc 12 stundām un pēc 48 stundām, jo turpmāko uzglabāšanu pārtrauca pūšanas process, attīstoties *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium putrificus*, *Clostridium anaerobius*. Stirnu gaļai MAFAM mikroorganismu kopskaits, +20 °C pēc 48

stundu uzglabāšanas, salīdzinot ar 12 stundu uzglabāšanu, palielinās 1.3 reizes, savukārt *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits - 1.4 reizes.

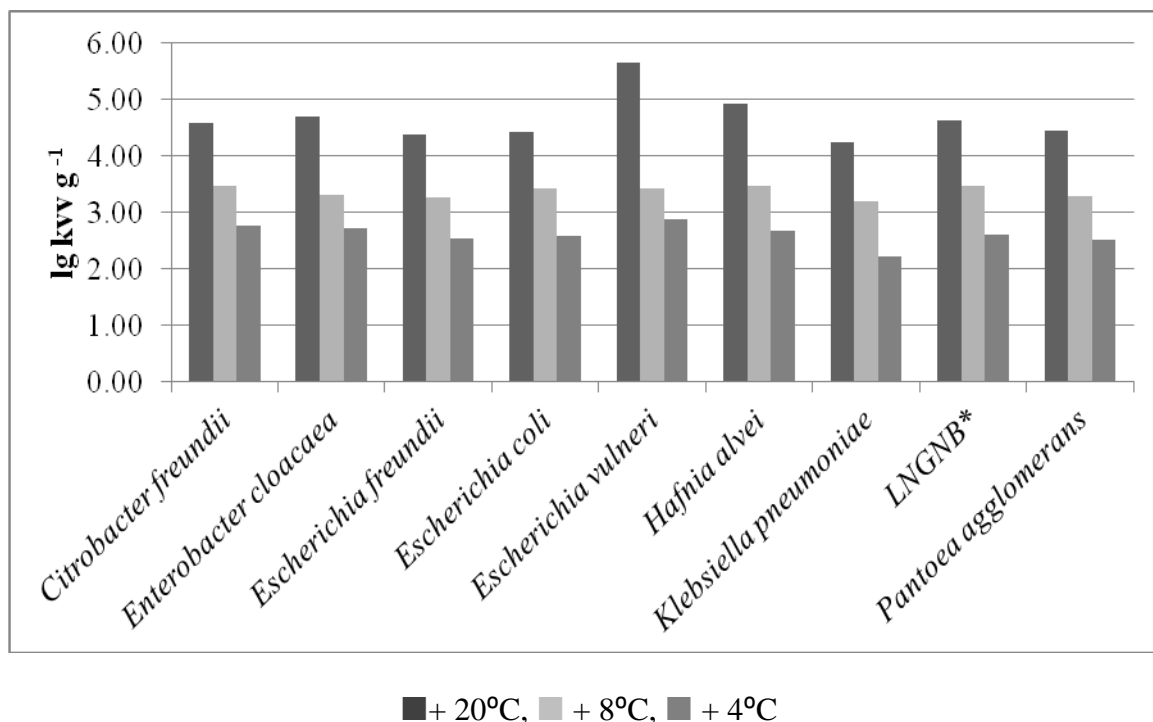
Salīdzinot MAFAM mikroorganismu kopskaitu staltbriežu gaļā pēc 168 stundu uzglabāšanas pie +4 °C ar +8 °C, mikroorganismu kopskaits palielinās 1.4 reizes, savukārt, *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits - 1.3 reizes.

Staltbriežu gaļai MAFAM mikroorganismu kopskaits, salīdzinot pie +20 °C pēc 12 stundu uzglabāšanas ar pēc 48 stundu uzglabāšanas palielinās 1.2 reizes, savukārt *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits - 1.3 reizes.

Varam secināt, ka uzglabājot gaļas paraugus attiecīgi temperatūrās +4 °C, +8 °C MAFAM vairojas ātrāk staltbriežu gaļā, bet *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismi atrodami vairāk stirnu gaļā. Uzglabājot pie +20 °C stirnu un staltbriežu gaļu, 48 stundas (kas ir kritiskais laiks), sākas izteikts medījumu gaļas pūšanas process. Pēc 48 stundu uzglabāšanas stirnu gaļā MAFAM un *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits ir šiem rādītājiem lielāks ir salīdzinot ar staltbriežu gaļu.

Identificējot *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijas sugu līmenī, konstatējām, ka visbiežāk medījumu gaļu kontaminēja *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Escherichia freundii*, *Escherichia vulneri*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*; *Kluyvera cryocrescens*, LNGNB* un *Pantoea agglomerans*.

Stirnu gaļas paraugos visbiežāk tika konstatēti MAFAM no kuriem *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismi bija *Citrobacter freundii*; *Enterobacter cloacae*; *Escherichia freundii*; *Escherichia vulneri*; *Hafnia alvei*; *Klebsiella pneumoniae*; LNGNB; *Pantoea agglomerans* (skat. 1. att.).



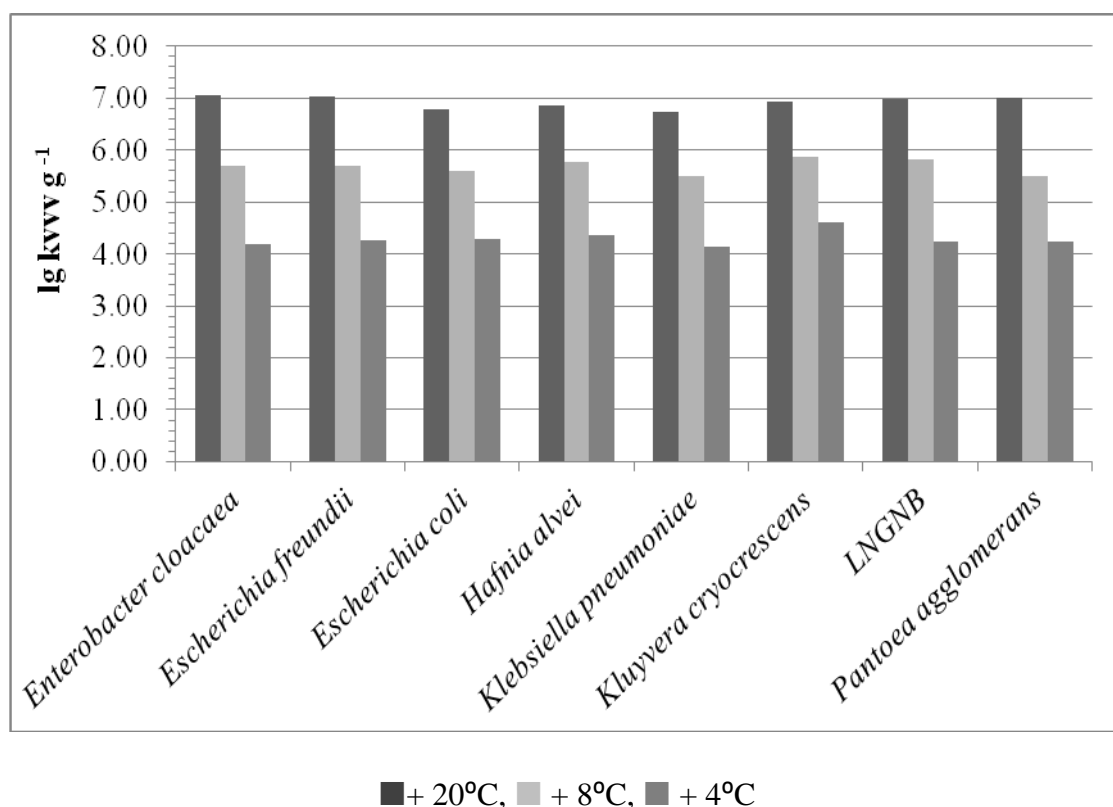
1. attēls. Stirnu gaļas paraugos biežāk konstatētie mikroorganismi un to daudzums lg, kvv g⁻¹ dažādos temperatūras režīmos (+4 °C, +8 °C un +20 °C)

Figure 1. The most identified microorganisms in roe deer meat samples and its count in lg / cfu g⁻¹ under different temperature conditions (+4 °C, +8 °C and +20 °C)

LNGNB* pie šīs baktēriju grupas pieder sekojošas ģintis: *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Providencia*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Proteus* u.c.

Izvērtējot iegūtos datus par stirņu gaļā iespējamo visaugstāko mikroorganismu piesārņojumu ar *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismiem, +4 °C konstatējām *Escherichia vulneri* – kvv skaita lg – 2.88 g⁻¹, +8 °C *Citrobacter freundii* – kvv skaita lg 3.46 g⁻¹, *Hafnia alvei* – kvv skaita lg 3.49 g⁻¹, LNGNB – kvv skaita lg 3.47 g⁻¹, +20 °C *Escherichia vulneri* – kvv skaita lg 5.65 g⁻¹. Visos iepriekš minētos temperatūras režīmos vismazāko piesārņojumu novērojām ar *Enterobacteriaceae* dzimtas, *Klebsiella pneumoniae* sugas mikroorganismiem.

Staltbriežu gaļas paraugos visbiežāk tika konstatēti MAFAM no kuriem *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismi *Enterobacter cloacae*; *Escherichia freundii*; *Escherichia coli*; *Hafnia alvei*; *Klebsiella pneumoniae*; *Kluyvera cryocrescens*; LNGNB; *Pantoea agglomerans* (skatīt 2. attēlā).



2. attēls. Staltbriežu gaļas paraugos biežāk konstatētie mikroorganismi un to daudzums lg, kvv g⁻¹ dažādos temperatūras režīmos (+4 °C, +8 °C un +20 °C)

Figure 2. The most identified microorganisms in red deer meat samples and its count in lg / cfu g⁻¹ under different temperature conditions (+4 °C, +8 °C and +20 °C)

Izvērtējot iegūtos datus par staltbriežu gaļā iespējamo mikroorganismu visaugstāko piesārņojumu ar *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismiem, konstatējām, ka tā ir pie izolētā +4 °C *Kluyvera cryocrescens* ar kvv skaita lg – 4.61 g⁻¹, +8 °C *Kluyvera cryocrescens* – ar kvv ar skaita lg – 5.87 g⁻¹ un +20 °C *Enterobacter cloacae* – kur kvv skaita lg ir 5.65 g⁻¹. Viszemāko *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu piesārņojumu konstatējām visos iepriekš minētos temperatūras režīmos. *Klebsiella pneumoniae* dzimtas mikroorganismu piesārņojums staltbriežu gaļā bija līdzīgs kā stirņu gaļas piesārņojuma gadījumos.

Varam secināt, ka medību gaļas mikrobiālais piesārņojums atkarīgs no temperatūras režīma un gaļas uzglabāšanas ilguma. Divfaktoru dispersiju analīze apstiprina, ka

mikroorganismu sugas būtiski neietekmē medījumu gaļas piesārņojumu, jo starp tiem ir novērojama pozitīva korelācija, bet piesārņojumu intensitātē ir atšķirības starp temperatūru režīmiem un uzglabāšanas laikiem.

Pētījuma rezultāti pierādīja noteiktu likumsakarību: pieaugot medījumu gaļas uzglabāšanas temperatūrai un uzglabāšanas laikam, abu dzīvnieku sugu gaļas paraugos būtiski pieaug MAFAM kopējais un *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits ($p < 0.005$). Izvērtējot abu dzīvnieku sugu gaļas paraugu uzglabāšanu $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrā, arī tika konstatēts straujš minēto mikroorganismu skaita pieaugums. Pētījumos tika pierādīts, ka mikroorganismu skaita savairošanās atkarīga kā no temperatūras režīma, tā arī no uzglabāšanas laika, ko apstiprināja divfaktoru dispersiju analīze, bet dzīvnieku suga nav noteicošais riska faktors ($p < 0.05$). Iespējams, viens no cēloņiem ir saistīts ar gremošanas trakta traumēšanu eviscerācijas laikā, ko ietekmēja nepietiekamā mednieku vai kautuves strādnieku kvalifikācija. Literatūrā ir norādes (Gill, 2007), ka gaļas kvalitātes nodrošināšanā būtiska nozīme ir laika period, no dzīvnieka nošaušanas līdz brīdim, kad tā liemenis tiek ievietots atdzesēšanas kamerā. Donnison un Ross, (2004), Lawrie un Ledward, (2006) norāda, 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.

Daudzu autoru veiktie pētījumi apstiprina mūsu gūtās atziņas, ka medījumu gaļas piesārņotība sākas jau medību procesā un medījumu higiēna un nošauto dzīvnieku gaļas kvalitāte ir atkarīgas 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 et al., 2008; García-Ruiz et al., 2010; Membre et al., 2011; Hofbauer, Smulders, 2011). Kā atzīmē Wiklund et al., (2002;) Paulsen, Winkelmayr, (2004;) Atanassova et al., (2008), svarīgi ir kontrolēt, lai dzīvnieks, kas ievainots vēderā, tiktu nošauts ātrāk un nenotiktu muskulatūras piesārņošanās ar zarnu mikrofloru. Nodrošinot gaļas kvalitāti, nozīmīgs ir arī gaļas nogatavināšanās process. Nepietiekamas medījumu gaļas nogatavināšanās rezultātā tai ir augsti dzīvnieka organisma vielu maiņas nelabvēlīgi atliekvielu rādītāji. Apstākļi gaļas izturēšanas laikā var paātrināt pēcnāves metabolisma procesus liemeņa muskulatūrā.

Mēs savos pētījumos novērojām: ja medījumi ir vājas miesas uzbūves, tad muskulatūrā vērojamas krāsas izmaiņas, un novēro piesārņojumu vēdera dobuma orgānos, tad parasti par cēloni tam ir MAFAM un *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu vidējais piesārņojums ir augsts, šis novērojums sakrīt ar Paulsen un Winkelmayr, (2004). Pētījuma laikā par būtisku faktoru tika uzskatīts, ka mikroorganismi ietekmē gaļas piesārņojumu pie medījumu atšaušanas un gremošanas trakta evascerācijas procesā. To novēro tad, ja netiek pienācīgi izvērtēts laika periods no medījumu iegūšanas līdz atdzesēšanai, kā arī temperatūras režīms līdz medījums nonāk atdzesēšanas kamerā. Mūsu pētījumi pierādīja, ka nepieciešama nepārtraukta atdzesēšanas ķēde, ko atzīmē arī Paulsen un Winkelmayr, (2004), Deutz et al., (2006). Atdzesēšanas telpās nepieciešama atbilstoša ventilācija, lai efektīvāk mazinātu mitruma līmeni medījumu liemeņos. Primārā ir liemeņu apstrādes apstākļi medījumu gaļai šobrīd nav standartizēti, sakarā ar ko nav rodama mikrobiālā piesārņojuma normatīvā bāze, kas būtu steidzīgi jānodrošina. Mūsu pētījumi ir ierosme šo robežu noteikšanai. Ja stingri tiek ievērota labas higiēnas prakses $1\text{g kvv} / \text{cm}^2$ ir 3 – 5, lai gan norādīts literatūras avotos ir pieļauts 7 – 8 $1\text{g kvv} / \text{cm}^2$. *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismi pie labas higiēnas prakses nepārsniedz 1.5 – 2.5 $1\text{g kvv} / \text{cm}^2$, bet neievērojot primāro apstrādi šis rādītājs var sasniegt 5 – 6 $1\text{g kvv} / \text{cm}^2$ (Atanassova et al., 2008; Hofbauer, Smulders, 2011).

SECINĀJUMI

1. Ievērojams medījumu liemeņa virsmas un gaļas mikrobiālais piesārņojums tika konstatēts medījumu gaļas paraugos pēc dzīvnieka nošaušanas un pirms to ievietošanas atdzesēšanas kamerā.
2. Pieaugot medījumu gaļas uzglabāšanas temperatūrai un laikam, abu dzīvnieku sugu gaļas paraugos attiecīgi pieauga MAFAM kopējais un *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismu skaits, ($p < 0.005$).
3. Uzglabājot stirnu un nebrīvē audzējamo staltbriežu (*Cervus elaphus*) gaļu +4 °C, +8 °C un +20 °C temperatūrā, tajā dominēja 60% *Enterobacteriaceae* dzimtas mikroorganismi.
4. 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.

LITERATŪRA

1. Atanassova, V., Apelt, J., Reich, F., Klein, G. Microbiological quality of freshly shot game in Germany. *Meat Science*, 2008; 78(4): 414 - 419.
2. Daszkiewicz, T., Janiszewski, P., Wajda, S. Quality characteristics of meat from wild red deer (*Cervus elaphus* L.) hinds and stags. *Journal of Muscle Foods*, 2009; 20(4): 428 - 448.
3. Deutz, A., Volk, F., Pless, P., Fotschl, H., Wagner, P. Game meat hygiene aspects of dogging red deer and roe deer. *Archiv für Lebensmittelhyg=Archives of Food Hygiene*, 2006; 57(6): 19 - 202.
4. Donnison, A.M., Ross, C.M. Thermotolerant campylobacter. *Encyclopedia of Meat Sciences*, Vol. 2. 2004; 798 - 804.
5. García-Ruiz, A., Mariscal, C., Gonzalez, V. S. *Journal Food Science*, 2010; (4): 386 - 394.
6. Gill, C.O. Microbiological conditions of meats from large game animals and birds. *Meat science*, 2007; 77 (2): 149 - 160.
7. Hofbauer, P., Smulders, F.J.M. A summary of methods to assess major physical–chemical and sensory quality traits of fresh (whole tissue) meat. In: *Game meat hygiene in focus: microbiology, epidemiology, risk analysis and quality assurance*. Paulsen P., Bauer A., Vodnansky M., Winkelmayr R., Smulders F.J.M. (eds.). 2011; 15 - 324.
8. Membré, J.M., Laroche, M., Magras, C. Assessment of levels of bacterial contamination of large wild game meat in Europe. *Food Microbiology*. 2011; 1072 - 1079.
9. Paulsen, P., Winkelmayr, R. Seasonal variation in the microbial contamination of game carcasses in an Austrian hunting area. *European Journal of Wildlife Research*, 2004; 50(3): 157 - 159.
10. Lawrie, R.A., Ledward, D.A. *Lawrie's Meat Science*. 7th ed. Cambridge, Woodhead Publishing, 2006; 442.
11. Wiklund, E., Drew, K.R., Ahman, B. Wild and tender deer meat. Conference proceedings of the 5th International Deer Biology Congress, 2002; 10 - 15.