

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ, ЗАГОТОВКИ И КОНСЕРВАЦИИ МУСКУСА КАБАРГИ С ЦЕЛЬЮ СТАНДАРТИЗАЦИИ И ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

С.Л. Люблинский¹, И.Н. Люблинская^{2*}, В.П. Галочкина², Е.М. Колоскова²,
В.Н. Каркищенко¹, М.С. Нестеров¹, И.А. Берзин³, Р.А. Агельдинов¹, Р.С. Чурюкин⁴

¹ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1

² ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»
249010, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт, д. 6

³ Федеральное медико-биологическое агентство
123182, Российская Федерация, Москва, Волоколамское ш., д. 30

⁴ ООО «Теклеор»
249010, Российская Федерация, Калужская обл., Боровский р-н, д. Старомихайловское,
ул. 1-я Индустриальная, владение 4

Разработка новых методов консервации биологического сырья для получения активных фармацевтических субстанций продолжает оставаться актуальной. Получены сравнительные экспериментальные данные об эффективности консервации биологических объектов с помощью криоконсервации, лактопероксидазной системы и электронно-лучевой обработки. Показано выраженное антимикробное действие обработки мускуса кабарги и другого биологического сырья электронно-лучевым излучением с различной поглощённой дозой (4, 6 и 8 кГр) без ухудшения органолептических и физико-химических свойств, не снижающее при этом содержание основных биологически активных веществ (БАВ). Для консервации и гарантированного хранения мускуса в течение 1-го года рекомендован метод обработки электронно-лучевым излучением с поглощённой дозой 6 кГр (9,5 МэВ) с последующей криоконсервацией при -250°C . При этом данные, полученные ускоренным методом тестирования, позволяют прогнозировать продление срока хранения до 48-ми мес. Впервые определены основные показатели качества и безопасности мускуса как сырья для производства активной фармацевтической субстанции и лекарственного животного сырья, разработан стандарт организации на мускус кабарги как сырьё, а также опытно-промышленный регламент на его заготовку и консервацию.

Ключевые слова: мускус, консервация, электронно-лучевое излучение, хранение

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Люблинский С.Л., Люблинская И.Н., Галочкина В.П., Колоскова Е.М., Каркищенко В.Н., Нестеров М.С., Берзин И.А., Агельдинов Р.А., Чурюкин Р.С. Совершенствование технологии выделения, заготовки и консервации мускуса кабарги с целью стандартизации и получения фармацевтической продукции. *Биомедицина*. 2020;16(1):28–41. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-28-41>

Поступила 01.10.2019

Принята после доработки 23.01.2020

Опубликована 10.03.2020

IMPROVING THE TECHNOLOGY OF EXTRACTION, PREPARATION AND CONSERVATION OF MUSK DEER EXTRACT FOR THE STANDARDIZATION AND PRODUCTION OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

Stanislav L. Lyublinskiy¹, Irina N. Lyublinskaya^{2,*}, Valentina P. Galochkina²,
Elena M. Koloskova², Vladislav N. Karkischenko¹, Maxim S. Nesterov¹, Igor A. Berzin³,
Ruslan A. Ageldinov¹, Roman S. Churyukin⁴

¹ Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1

² Scientific-Production Firm "MOBITEK-M"
249010, Russian Federation, Kaluga region, Borovsk, Institute village, 6

³ Federal Medical and Biological Agency
123182, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoe highway, 30

⁴ Tekleor
249010, Russian Federation, Kaluga region, Borovsk district, Staromikhailovskoye village,
1-ya Industrial'naya str., building 4

The development of new methods for the conservation of biological raw materials, which can be used in the production of active pharmaceutical substances, is increasingly attracting research attention. This article presents the results of comparative studies into the effectiveness of biological conservation using cryopreservation, electron beam treatment and the lactoperoxidase system. Electron beam technologies demonstrated a pronounced antimicrobial effect in the treatment of musk deer extract and other biologically active substances. A recommendation was formulated to treat musk extract with electron-beam radiation at an absorbed dose of 6 kGy (9.5 MeV) following cryopreservation at -25°C over the period of 1 year. The data obtained using the method of accelerated testing allows an extended shelf life of up to 48 months to be predicted.

For the first time, the main indicators of the quality and safety of musk deer extract as a potential raw material for the production of active pharmaceutical substances and medicinal animal raw materials were determined. A standard for the quality of musk deer extract as a raw material, as well as an experimental-industrial regulation for its preparation and preservation, were developed.

Keywords: musk, conservation, electron beam radiation, storage

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Lyublinskiy S.L., Lyublinskaya I.N., Galochkina V.P., Koloskova E.M., Karkischenko V.N., Nesterov M.S., Berzin I.A., Ageldinov R.A., Churyukin R.S. Improving the Technology of Extraction, Preparation and Conservation of Musk Deer Extract for the Standardization and Production of Pharmaceutical Substances. *Journal Biomed.* 2020;16(1):28–41. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-28-41>

Submitted 01.10.2019

Revised 23.01.2020

Published 10.03.2020

Введение

В России разрешено к применению свыше пяти тысяч лекарств. Среди них постоянно расширяется группа препаратов, полученных из сырья микробияльного, растительного и животного происхождения.

Перспективным для дальнейшего использования в фармации является мускус — вещество, которое вырабатывается в мускусной железе самцов кабарги (обиходное название — струя), имеющее тысячелетнюю историю применения во многих стра-

нах мира [14]. БАВ, содержащиеся в этом сырье, обеспечивают широкий спектр фармацевтического воздействия, необходимый для лечения различных органов и систем организма человека [18]. При этом для сохранения фармакологических свойств лекарственного животного сырья (ЛЖС) огромное значение имеет способ его консервации и хранения.

Природное (органическое) сырьё является хорошей питательной средой для многих микроорганизмов, которые, развиваясь на нём, и вызывают порчу. Поэтому неправильные способы заготовки, перевозки, переработки, хранения и реализации этого сырья приводят к его порче и потерям [1].

Под порчей органического лекарственного сырья понимают необратимые изменения, происходящие в нём в процессе хранения, связанные с ухудшением качества и невозможностью дальнейшего использования для получения фармацевтически активных субстанций. Это происходит в результате биохимического распада основных компонентов, катализируемого как его собственными ферментными системами, так и ферментами контаминирующих его микроорганизмов [19].

Известно, что в ЛЖС при хранении могут происходить различные нежелательные изменения, связанные с действием биохимических, микробиологических и физико-химических процессов (рис. 1).

При этом каждый вид сырья при установленных режимах хранения имеет предельный срок хранения, определённый на основании данных химико-технологических и биологических исследований.

Из всех видов порчи ключевой является микробиологическая порча, поскольку она наиболее опасна для человека из-за выделяющихся токсинов и развития болезнетворной микробиоты (рис. 2).

В целом проблемы хранения биологического сырья можно свести к регулированию биохимических процессов, которые явля-

ются основой разного вида порчи. Изменяя условия среды и действуя на микроорганизмы различными внешними и внутренними физико-химическими или биологическими факторами (рис. 2), можно регулировать состав и деятельность микрофлоры, а также характер течения ферментативных процессов в сырье.

Применение низких температур для препятствия развития большинства микроорганизмов является наиболее известным и широко используемым в настоящее время методом консервации и хранения ЛЖС [15, 17]. Причем чем ниже температура, тем длительнее срок хранения сырья. Помимо физических изменений (перекристаллизации льда, потери массы, усушки), даже при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в сырье протекают биохимические и химические процессы, заключающиеся в гидролитических и окислительных изменениях липидов, гидролизе и денатурации белковых веществ. Необходимо отметить, что основная группа протеолитических ферментов сырья утрачивает активность при температуре ниже $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, а липолитические ферменты — липазы, липооксидазы, фосфолипазы и др. — только ниже $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Одним из перспективных методов их консервации является применение лактопероксидазной системы, состоящей из фермента — лактопероксидазы, перекиси водорода и ионов тиоционата [2]. Лактопероксидаза катализирует окисление бромид-, йодид- и тиоционат ионов перекисью водорода. Тиоционат (OSCN-) реагирует с некоторыми радикалами, которые производятся в процессе бактериального метаболизма, в результате чего мембраны бактериальной клетки повреждаются. В то же время тиоционаты не причиняют вреда клеткам организма человека, т.к. все млекопитающие имеют эффективные механизмы их утилизации. Эта система уничтожает грамотрицательные бактерии и ингибирует рост грамположительных.



Рис. 1. Виды порчи природного сырья.
 Fig. 1. Types of damage to natural raw materials.

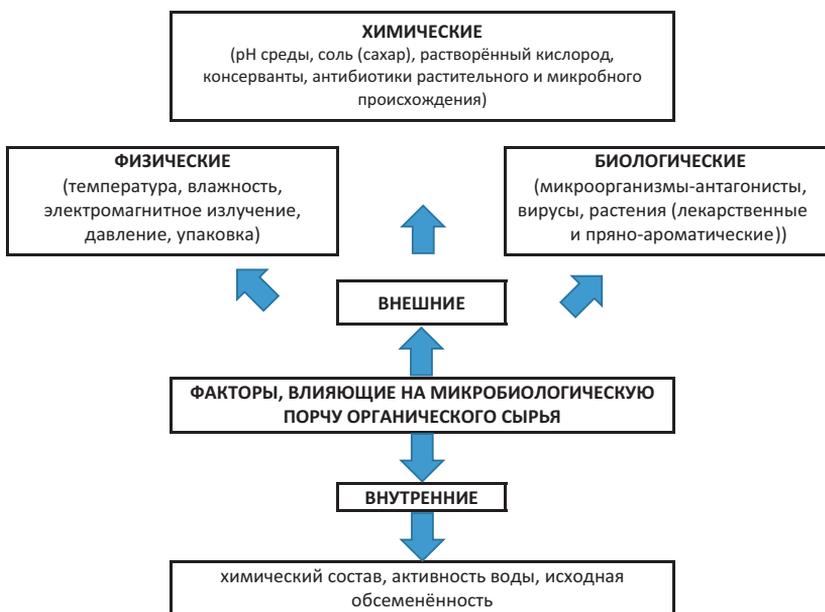


Рис. 2. Факторы, влияющие на микробиологическую порчу органического сырья.
 Fig. 2. Factors affecting the microbiological spoilage of organic raw materials.

Обработка ионизирующим излучением (радуризация) представляет собой одну из наиболее перспективных современных технологий обеспечения безопасности и увеличения срока годности сырья [6, 10, 11].

В 1980 году Объединённым комитетом экспертов ФАО/ВОЗ и МАГАТЭ принято решение о возможности облучения пищевых продуктов и сырья дозами до 10 кГр. Практический опыт показывает, что сроки

хранения охлаждённой птицы, мяса и рыбы, обработанных γ -лучами, увеличиваются в несколько раз по сравнению с необлучёнными. Вместе с тем такая обработка может привести к деструкции биополимеров, появлению постороннего вкуса и/или запаха, повышению скорости окисления липидов и витаминов.

В последние годы развиваются технологии стерилизации с помощью электронно-лучевого (ЭЛ) или β -излучения. ЭЛ-способ

использует электроны с высокой энергией (до 10 МэВ). Электроны и образующиеся под их воздействием продукты радиолиза разрывают ДНК- и РНК-цепочки микроорганизмов как на внутренней поверхности упаковки, так и внутри продукта, блокируя таким образом их дальнейшее размножение. Патогенные микробы гибнут, вследствие чего происходит стерилизация продукта.

Метод обладает рядом технологических преимуществ: высокой степенью инактивации микроорганизмов, возможностью стерилизации больших партий, автоматизации и стабильности процесса, стерилизации продукта в любой герметичной упаковке. Важным преимуществом является то, что температура стерилизуемого сырья не повышается.

ЭЛ-излучение не предполагает глубинного проникновения в толщу продукта, как это делает γ -излучение. В зависимости от плотности продукции ЭЛ-излучение проникает на глубину до 40 см от поверхности. Действие ЭЛ-излучения ограничивается несколькими секундами, в отличие от многочасового воздействия на продукт γ -излучением, что снижает возможные побочные эффекты, сводя к минимуму нарушения в структуре как продукта, так и упаковочного материала.

Стоимость стерилизации ионизирующим излучением в 4–5 раз ниже, чем стоимость стерилизации термическим или газовым способом.

Органы и ткани животных, которые используются для производства лекарственных средств, могут быть обсеменены эндогенно, ещё при жизни животного, и экзогенно — после его убоя. Это бактериальное обсеменение называют первичным количественным содержанием бактерий [9].

Вторичным содержанием бактерий обозначают то количество микроорганизмов, которое образуется сразу после убоя животного во время технологических операций и заносится на поверхность сырья

из загрязнённого кожного покрова животного, его пищеварительного тракта, а также из окружающей среды — с инструментов, рук, одежды людей при первичной разделке, хранении и транспортировке.

По качественному составу микробиота животного сырья может включать сапрофитные, патогенные и условно-патогенные, преимущественно аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, бактерии группы кишечной палочки (БГКП), родов *Proteus*, *Aeromonas*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*. Их количество может достигать 10^3 – 10^5 клеток на 1 см² поверхности. Многие микроорганизмы длительно сохраняются в сырье при замораживании. Например, сальмонеллы сохраняют жизнеспособность в замороженном мясе 13 мес., в яйцах — 12 мес. Животное сырьё может содержать также различные вирусы.

Большое значение при выборе методов консервации мускуса имеет его исходный микробиологический состав, представляющий собой сложнейшую симбиотическую систему множества различных микроорганизмов, участвующих в синтезе огромного количества биологически активных соединений, обеспечивающих защитные, репродуктивные и коммуникативные биологические функции препуциальной железы, а также фармакологические свойства мускуса. Предварительные исследования [20] показали, что в его составе встречаются представители многих семейств, десятков родов и сотен видов бактерий, грибов, плесеней и т.д. (рис. 3). Столбцы на рис. 3 представляют относительную распространённость 20-ти наиболее часто встречающихся в мускусе бактериальных таксонов (родов и порядков).

Жизненный цикл получения лекарственных препаратов из животного сырья [5] состоит из 5-ти стадий: выращивания животного, стадии забоя и транспортировки, стадии хранения, поступления сырья на фармацевтическое предприятие и стадии получения ак-

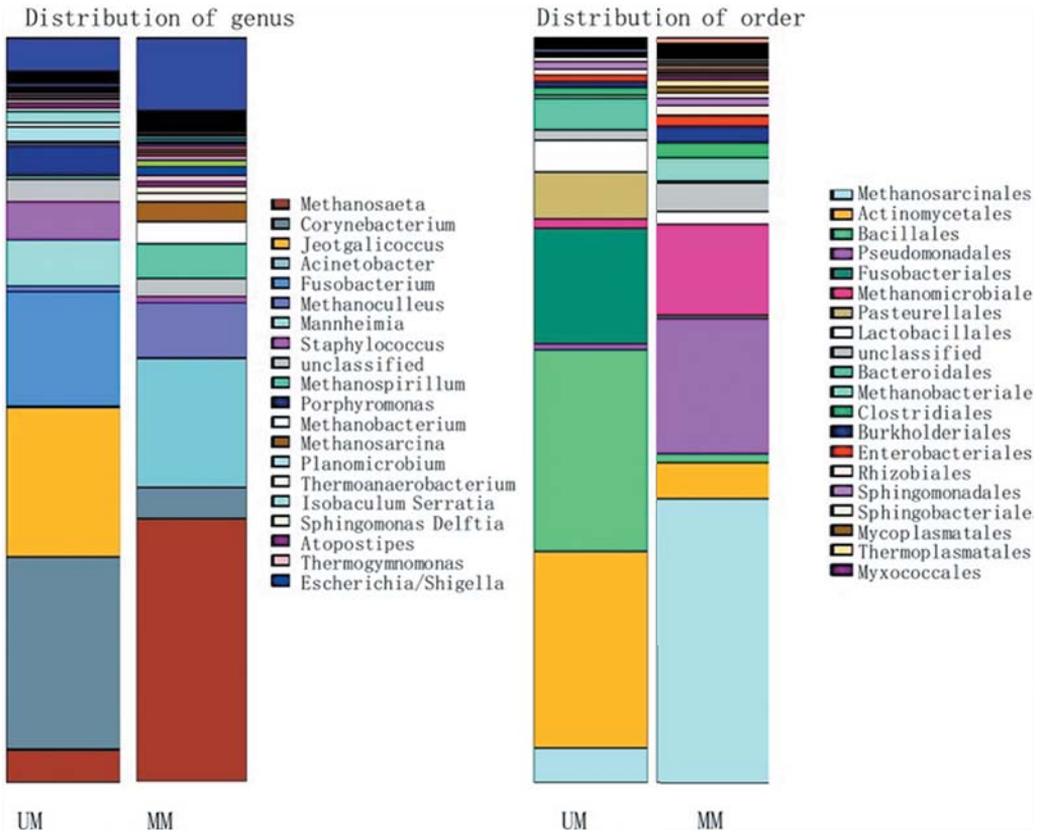


Рис. 3. Анализ изменения состава микробиоты у неполовозрелых (UM) и половозрелых (MM) самцов кабарги с использованием 16S рРНК в виде биомаркеров.

Fig. 3. Analysis of changes in the composition of microbiota in immature (UM) and sexually mature (MM) male musk deer using 16S rRNA in the form of biomarkers.

тивной фармацевтической субстанции (АФС) и готовой лекарственной формы.

В ГОСТ Р 52259-2009 [8] указаны обязательные стадии производства АФС, на которые распространяются требования этого стандарта. В нем рекомендуется усиление требований GMP для производства АФС, получаемых из ЛЖС, к которым относится в т.ч. и мускус кабарги, на конечных трёх стадиях производства. Однако для получения гарантированного качества конечной АФС на основе мускуса необходимо расширение действия стандарта также на начальную стадию — «Измельчение, смешивание и/или первоначальная обработка». Это обуславливает важность внедрения современ-

ных высокоэффективных и безвредных методов консервации такого редкого и ценного сырья, каковым является мускус кабарги.

Традиционный способ заготовки мускуса кабарги — медленное высушивание всей мускусной железы или извлечённого из неё мускуса [12]. Недостатками этого способа являются длительность и неполное высушивание, микробальное загрязнение и, как следствие, частичная порча (30% и более массы кабарговой струи) [3, 13]. Очевидно, что для получения стандартизованных и высокоэффективных препаратов из этого сырья необходимо отработать стандартные методы консервирования мускуса, в т.ч. в условиях стационарных заго-

товительных пунктов, оснащенных низкотемпературными морозильными камерами.

Разведение кабарги в питомниках и прижизненный отбор мускуса открывает новые возможности для заготовки мускуса кабарги с максимальным сохранением его биологической активности и дальнейшего использования, в т. ч. для получения лекарственных препаратов.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении современных инновационных методов консервации и их влияния на показатели качества и безопасности, а также состав и содержание наиболее значимых групп БАВ в мускусе кабарги.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- проведение сравнительного анализа существующих методов консервации и хранения органического сырья, в т. ч. ЛЖС;
- определение основных показателей качества и безопасности мускуса для разработки и регистрации нормативно-технической документации на это сырьё;
- оценка влияния современных методов консервации и хранения на основные показатели качества и безопасности мускуса.

Разработка нормативной базы для ЛЖС мускуса

Сегодня в РФ отсутствует нормативная база (ГОСТ, ОСТ, ТУ и т. д.) на мускус кабарги в качестве исходного сырья для последующей промышленной переработки. В связи с этим существует необходимость регламентирования требований к качеству и безопасности данного сырья с целью разработки и последующей регистрации нормативно-технической документации на него. Наличие контролируемых санитарно-гигиенических показателей является также важнейшим условием для изучения методов консервации и хранения мускуса.

Согласно ГОСТ Р 52428 мускус кабарги можно отнести к эндокринно-ферментно-

му сырью [7]. Показатели качества и безопасности сырья на основе мускуса регламентируются требованиями Технического регламента Таможенного союза (ТР ТС) 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» и ТР ТС 03/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции».

Согласно требованиям ТР ТС, а также результатам предварительных исследований предложены следующие показатели качества и безопасности мускуса кабарги как сырья.

По органолептическим показателям мускус должен представлять собой крупнодисперсный влажный порошок тёмно-коричневого цвета со своеобразным вкусом с лёгкой горечью и специфическим, ярко выраженным запахом мускуса.

Массовая доля влаги в мускусе составляет $55 \pm 10\%$, золы — $4 \pm 2\%$, рН 1% р-ра — $7,0 \pm 1,0$; температура внутри продукта при хранении — минус 25 ± 5 °С. Посторонние примеси органического (иглолки, веточки, листья) и неорганического (песчинки и т. п.) происхождения не допускаются. По содержанию токсичных элементов, пестицидов, радионуклидов и микробиологическим показателям (табл. 1) сырьё должно соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011.

На основании действующих правил и норм, а также требований ТР ТС 021/2011 и ТР ТС 03/2013 в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России впервые разработан и зарегистрирован стандарт организации (СТО) 58709973-001-2019 «Мускус кабарги (сырьё)», а также проведена сертификация мускуса в системе Международного банка веществ и технологий.

Материалы и методы

Были проведены комплексные исследования согласно МУК 4.2.1847-04 «Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов» по изучению влияния

Таблица 1. Микробиологические показатели мускуса
Table 1. Microbiological indicators of musk

Показатель	Значения показателя
Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), КОЕ/г, не более	1×10^4
БГКП (колиформы), в 0,1 г	Не допускаются
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, в 0,1 г	Не допускаются
<i>E. coli</i> , в 1 г	Не допускаются
<i>S. aureus</i> , в 1 г	Не допускается

различных способов консервации на показатели качества и микробиологической безопасности, а также на сохранность отдельных групп БАВ в мускусе кабарги в процессе хранения.

Материалы исследований

Перед началом эксперимента предварительно извлечённый из мешочков (струи) мускус взвешивали и упаковывали по 5 г в пакеты из многослойных полимерных материалов. Эта упаковка позволяет предохранять продукт от вторичной контаминации микрофлоры и окисления.

Для изучения каждого из способов консервации брали по 10 образцов.

Методы исследований

Изучались традиционный, наиболее применяемый на сегодня для консервации биологического сырья способ — замораживание, а также современные методы консервации сырья при помощи лактопероксидазной системы и обработки β -излучением с последующей криоконсервацией. В первом случае образцы сразу же замораживались при температуре $-25\text{ }^\circ\text{C}$. Во втором случае образцы обрабатывались из расчёта 1 и 5 г консерванта «Униконс “Гамма”» на 1 кг сырья (0,1 и 0,5%) в соответствии с рекомендациями производителя.

В третьем случае перед замораживанием производилась обработка образцов сырья ускоренными электронами с поглощенной дозой 4, 6 и 8 кГр (9,5 МэВ) в соответствии с ГОСТ ИСО 14470-2014 [10] в Центре антимикробной обработки растительного

и животного сырья ускоренными электронами «Tecleog» (Россия).

Для исследования показателей качества и безопасности обработанного сырья применялись соответствующие стандартные методы, утверждённые Роспотребнадзором России.

Определение общего белка (водорастворимой фракции) проводили по методу Бредфорда, определение холестерина и стероидов — на ГХ–МС анализаторе с масс-спектрометрическим детектором «Хроматэк», сопряженным с газовым хроматографом «Хроматэк-Кристалл 5000» и жидкостным дозатором ДАЖ-2 М (3 Д).

Для надежной идентификации использовали автоматическую базу поиска и идентификации данных хромато-масс-спектрометрии NIST17 MS Library.

Результаты и их обсуждение

Изучение органолептических и физико-химических показателей в образцах мускуса, обработанного первым и третьим способами, через 1 мес. хранения значимых изменений не выявило.

Образцы, обработанные вторым способом, по истечении месяца хранения приобрели специфическую горечь, свидетельствующую о наличии перекисного окисления липидов, присутствующих в мускусе в большом количестве, что подтверждалось также снижением pH в этих образцах. Микробиологический анализ также показал, что обработка лактопероксидажной системой приводит к снижению числа микроорганизмов, но количество

Таблица 2. Микробиологические показатели мускуса при различных способах консервации после хранения в течение 1 мес. при -25°C

Table 2. Microbiological indicators of musk with various preservation methods after storage for 1 month at -25°C

Способ консервации	Микробиологические показатели**					
	1	2	3	4	5	6
Норма*	1×10^4		Не допускаются			Не норм.
До обработки			Сплошной рост			
Криоконсервация			Сплошной рост			
Униконс 0,1 %	$2,4 \times 10^3$		Не выделены			3×10^2
0,5 %	$2,5 \times 10^3$		Не выделены			4×10^2
Обработка ЭЛ-излучением с поглощенной дозой: 4 кГр	<10		Не выделены			<10
6 кГр	<10		Не выделены			<10
8 кГр	<10		Не выделены			<10

Примечание: * — по СТО 58709973-001-2019 «Мускус кабарги (сырьё)», ** — КМАФАНМ, КОЕ/г, не более; 2 — БГКП, в 0,1 г; 3 — патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы; 4 — *E. coli*, в 1 г; 5 — *S. aureus*, в 1 г; 6 — дрожжи и плесени.

Note: * — according to STO 58709973-001-2019 “Musk of musk deer (raw material)”; ** — КМАФАНМ, CFU/g, not more; 2 — BGKP, 0.1 g; 3 — pathogenic microorganisms, including salmonella; 4 — *E. coli*, 1 g; 5 — *S. aureus*, 1 g; 6 — yeast and mold.

дрожжей и плесеней остаётся значительно выше безопасной нормы (табл. 2). Поэтому в дальнейших экспериментах этот консервант не использовался.

Дальнейшие исследования образцов выявили, что органолептические и физико-химические показатели через 3 и 6 мес. после обработки β -излучением и хранения при -25°C не изменились.

После 6-ти мес. хранения с помощью криоконсервации сохранялась исходная контаминация мускуса. Эффективной оказалась обработка мускуса ЭЛ-излучением: общая обсеменённость образцов по сравнению с исходным сырьём уменьшилась до менее 10 КОЕ/г, что соответствует показателю для парного мяса.

Учитывая состав мускуса, для моделирования эффективности его стерилизации дополнительно были проведены исследования ЭЛ-обработки образцов соевого лецитина, гемоглобина крови крупного рогатого скота, йодированных белков молочной сыворотки, а также коллагенового напитка — многокомпонентного пищевого продукта, включающего до 15% куриного жира, содержащего быстро окисляющиеся липиды.

Данные исследования (табл. 3) подтвердили антимикробную эффективность этого способа консервации, а также отсутствие изменений в органолептических и физико-химических показателях изученных продуктов. Необходимо также отметить, что обработка ЭЛ-излучением позволила уменьшить содержание дрожжей и плесневых грибов в коллагеновом напитке с 80 до <10 КОЕ/г.

После выбора метода консервации при помощи ЭЛ-излучения было продолжено изучение обработанных этим способом образцов мускуса. Результаты контролировались через 3 и 6 мес. с помощью наиболее распространённых микробиологических тестов, характеризующих порчу продукта, — КМАФАНМ (общего количества микроорганизмов), а также количества дрожжей и плесневых грибов.

Первый показатель зависит от режима обработки (в т. ч. консервации) продукта и фиксирует нарушения температурного режима при его транспортировке, хранении и реализации. Увеличение КМАФАНМ однозначно свидетельствует о размножении микроорганизмов, в числе которых могут

Таблица 3. Общая обсеменённость различных продуктов после обработки ЭЛ-излучением
Table 3. Total contamination of various products after treatment with EL radiation

Обработанные продукты	Исходный КМАФАнМ	КМАФАнМ после обработки β-излучением, поглощённая доза, кГр		
		4	6	8
Соевый лецитин	$2,6 \times 10^3$	$2,2 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
Гемоглобин крови	$6,4 \times 10^3$	<10	<10	<10
Йодированные белки молочной сыворотки	$8,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	<50	<10
Коллагеновый напиток	$1,5 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	<80

оказаться и патогенные, и порче продукта. В ходе хранения образцов изучалось также содержание в них дрожжей и плесневых грибов. Несмотря на то что этот показатель для мускуса не регламентируется требованиями ТР ТС 021/2011, он был принят во внимание в связи с широкой представленностью этих микроорганизмов в микробиоте мускуса.

В настоящее время при длительном хранении продуктов прибегают к методу ускоренного тестирования их срока хранения — ASLT (Accelerated Shelf Life Testing), сокращая процесс получения необходимых экспериментальных данных [4]. ASLT как самый простой и широко используемый метод основан на применении единичного фактора ускорения — температуры — для изучения соответствующих кинетических моделей в ходе испытаний, подтверждающих приемлемый «срок жизни» продукта за короткий период времени, с учётом технологии и реальных условий хранения и реализации продукта потребителю. Данная модель представляет собой модель Аррениуса, связывающую скорость химической реакции с изменениями температуры, и описывается уравнением Аррениуса (1):

$$K = K_0 \times \exp^{-E_a/RT}, \quad (1)$$

где K_0 — константа, E_a — энергия активации, R — газовая постоянная, T — абсолютная температура.

Существует обширная база данных по значениям энергии активации различных реакций химической порчи пищевых

продуктов, которую можно использовать для получения обоснованной оценки влияния температуры на скорость реакции. Если использовать отношение между скоростями реакции при изменении температуры на 10°C , то можно существенно упростить эту модель, исключив оценку K_0 . В данном случае отношение скоростей известно как критерий Q_{10} , который показывает, насколько быстрее протекает реакция при повышении температуры на каждые 10°C (2):

$$Q_{10} = K_t + 10/KT. \quad (2)$$

Эта информация может использоваться для прогнозирования ожидаемого срока годности продукта. Простота использования критерия Q_{10} позволяет быстро получить необходимые результаты при минимальных практических усилиях.

С этой целью образцы хранили при температуре -25 и $+5^\circ\text{C}$ и контролировали в них изменения органолептических, физико-химических и микробиологических показателей. Через 6 мес. хранения в органолептических и физико-химических показателях изменений не произошло, выявлено лишь незначительное снижение pH в образцах, хранившихся при $+5^\circ\text{C}$.

Данные микробиологического анализа (табл. 4 и рис. 4) показали отсутствие роста общей обсеменённости в образцах, хранившихся при -25°C , и незначительный рост — в хранившихся при $+5^\circ\text{C}$. Эти показатели были соответственно в 1000 и в 100 раз меньше нормативного значения для сырья мускуса.

Таблица 4. Общая обсеменённость образцов мускуса, обработанного ЭЛ-излучением, при хранении в течение 6-ти мес. при различной температуре

Table 4. Total contamination of musk samples treated with EL radiation when stored for 6 months at different temperatures

Температура хранения, °С	Поглощённая доза, кГр	КМАФАнМ* (КОЕ г/см³) по истечении:		
		1 мес.	3 мес.	6 мес.
+ 5	4	<50	8,1×10	1,1×10 ²
+ 5	6	<30	7,5×10	1,2×10 ²
+ 5	8	<20	5,8×10	1,0×10 ²
-25	4	<10	<10	<10
-25	6	<10	<10	<10
-25	8	<10	<10	<10

Примечание: * — норма по СТО 58709973-001-2019 «Мускус кабарги (сырьё)» — 1×10⁴.

Note: * — the norm according to STO 58709973-001-2019 “Musk deer extract (raw material)” — 1×10⁴.

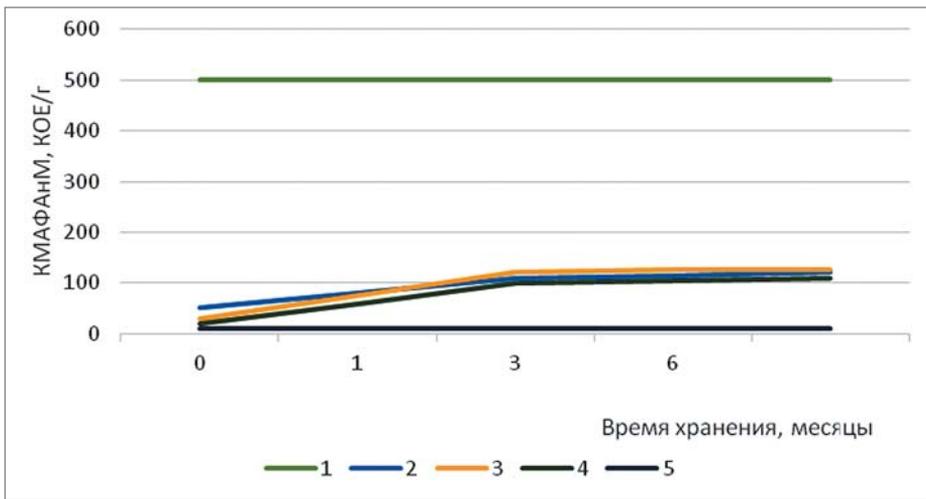


Рис. 4. Рост микрофлоры в образцах мускуса при хранении в течение 6-ти мес. в различных условиях: 1 — исходный образец мускуса, хранившийся при -25 °С: сплошной рост микрофлоры; 2 — образец с поглощённой дозой 4 кГр, хранившийся при +5 °С; 3 — образец с поглощённой дозой 6 кГр, хранившийся при +5 °С; 4 — образец с поглощённой дозой 8 кГр, хранившийся при +5 °С; 5 — образцы с поглощённой дозой 4, 6 и 8 кГр, хранившиеся при -25 °С.

Fig. 4. Microflora growth in musk samples during storage for 6 months under various conditions: 1 — the original musk sample stored at -25 °C: continuous growth of microflora; 2 — a sample with an absorbed dose of 4 kGy stored at +5 °C; 3 — a sample with an absorbed dose of 6 kGy stored at +5 °C; 4 — a sample with an absorbed dose of 8 kGy stored at +5 °C; 5 — samples with an absorbed dose of 4, 6 and 8 kGy, stored at -25 °C.

Таблица 5. Влияние обработки мускуса ЭЛ-излучением (поглощённая доза 4, 6 и 8 кГр) на содержание основных БАВ в образцах, хранившихся при -25 °С

Table 5. The effect of EL radiation (absorbed dose of 4, 6 and 8 kGy) on the content of basic biologically active substances in musk samples stored at -25 °C

Показатели	Мускус до обработки	Мускус, обработанный ЭЛ-излучением, поглощённая доза, кГр								
		через 1 мес.			через 3 мес.			через 6 мес.		
		4	6	8	4	6	8	4	6	8
Белок (водорастворимая фракция), %	8,8	8,8	8,8	8,8	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,5
Стероиды, мг %	155	155	155	153	154	154	151	153	153	149
Холестерин, мг %	78	77	77	76	76	76	74	75	75	72

Общим положительным фактом для всех образцов, хранившихся при различных температурах, является отсутствие роста дрожжей и плесневых грибов, суммарное количество которых по сравнению с началом эксперимента не изменилось и осталось меньше 10 КОЕ г/см³.

Изучение основных групп БАВ в мускусе, обработанном β -излучением, через 6 мес. его хранения показало сохранность исходных количеств всех важнейших биологически активных компонентов мускуса — белков, стероидов, холестерина (табл. 5).

Известно, что с повышением стандартной температуры на 10 °С скорость химической реакции в животном (мясном) сырье увеличивается в два раза [16], т.е. показатель $Q_{10}=2$.

Сроком годности продукта считается период, в течение которого он хранится без существенных потерь качества и функциональных свойств. Таким образом, исходя из рассмотренных выше теоретических предпосылок определения срока годности сырья мускуса ускоренным методом тестирования (ASLT) с использованием модели Аррениуса и критерия Q_{10} , который в нашем случае будет равен 8, при –25 °С продукт будет стабилен: 8×6 мес.=48 мес., или 4 года.

Тем не менее на данном этапе изучения мускуса для гарантии его качества и безопасности срок хранения сырья составляет 1 год.

Выводы

На основании проведенных исследований:

1. Разработаны основные показатели качества и безопасности сырья мускуса кабарги для производства активной фармацевтической субстанции и лекарственного животного сырья в соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза.

2. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о выраженном антимикробном действии обработки мускуса кабарги электронно-лучевым излучением без ухудшения органолептических и физико-химических свойств, не снижающим при этом содержание основных биологически активных веществ.

3. Установлено, что метод обработки мускуса электронно-лучевым излучением с поглощённой дозой 6 кГр (9,5 МэВ) с последующей криоконсервацией при –25 °С можно рекомендовать для консервации и гарантированного хранения этого сырья в течение одного года.

4. Данные, полученные ускоренным методом тестирования, позволяют продлить срок хранения до 48-ми мес. Для его уточнения необходимо провести дополнительное изучение срока хранения мускуса в реальном времени.

5. Впервые разработана и утверждена нормативно-техническая документация (СТО) на мускус кабарги как сырьё, а также опытно-промышленный регламент на его заготовку и консервацию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Базарнова Ю.Г., Бузова Т.Е., Марченко В.И., Смелик В.А., Третяков Н.А. *Биохимические основы переработки и хранения сырья животного происхождения*. СПб.: Проспект Науки, 2011. 192 с. [Bazarnova Yu.G., Burova T.Ye., Marchenko V.I., Smelik V.A., Tret'yakov N.A. *Biokhimicheskiye osnovy pererabotki i khraneniya syr'ya zhivotnogo proiskhozhdeniya* [Biochemical fundamentals of processing and storage of raw materials of animal origin]. St. Petersburg: Prospect Nauki Publ., 2011. 192 p. (In Russian)].
2. Беннетт А. Лактопероксидазная система консервирования сырого молока. *Молочная промышленность*. 2008(9):70–73. [Bennett A. Laktoperoksidaznaya sistema konservirovaniya syrogo moloka [Lactoperoxidase preservation system of raw milk]. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy industry]. 2008(9):70–73. (In Russian)].
3. Богачёв А.С., Богачёв С.А. *О сырье народной медицины*. Уссурийск, 1993. С. 76–79. [Bogachov A.S., Bogachov S.A. *O syr'ye narodnoy meditsiny* [About the raw materials of traditional medicine]. Ussuriysk, 1993. P. 76–79. (In Russian)].

4. Валентас К., Ротштейн Э., Сингх Р.П. *Пищевая инженерия: справ.* СПб.: Профессия, 2004. 386 с. [Valentas K., Rotshteyn E., Singkh R.P. *Pishchevaya inzheneriya: sprav.* [Food Engineering: A Handbook]. St. Petersburg: Professiya Publ., 2004. 386 p. (In Russian)].
5. Габидова А.Э. *Анализ микробиологического риска в производстве пищевых продуктов и лекарственных препаратов* / Под ред. Галынкина В.А. СПб.: Проспект Науки, 2016. 384 с. [Gabidova A.E. *Analiz mikrobiologicheskogo riska v proizvodstve pishchevykh produktov i lekarstvennykh preparatov* [Microbiological risk analysis in food and drug production]. Ed. by V.A. Galynkin. St. Petersburg: Prospect Nauki Publ., 2016. 384 p. (In Russian)].
6. ГОСТ ИСО 14470-2014. *Радиационная обработка пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и повседневному контролю процесса облучения пищевых продуктов ионизирующим излучением.* [GOST ISO 14470-2014. *Radiatsionnaya obrabotka pishchevykh produktov. Trebovaniya k razrabotke, validatsii i povsednevnomu kontrolyu protseсса oblučeniya pishchevykh produktov ioniziruyushchim izlucheniym* [Radiation processing of food products. Requirements for the development, validation and daily monitoring of the process of irradiation of food with ionizing radiation]. (In Russian)].
7. ГОСТ Р 52428. *Продукция мясной промышленности. Классификация.* [GOST R 52428. *Produktsiya myasnoy promyshlennosti. Klassifikatsiya* [Products of the meat industry. Classification]. (In Russian)].
8. ГОСТ Р 52249-2009. *Правила производства и контроля качества лекарственных средств (GMP).* М.: Стандартинформ, 2010. 131 с. [GOST R 52249-2009. *Pravila proizvodstva i kontrolya kachestva lekarstvennykh sredstv (GMP)* [Rules for the production and quality control of medicines (GMP)]. Moscow: Standartinform Publ., 2010. 131 p. (In Russian)].
9. Журавская Н.К., Алехина Л.Т., Отряшенкова Л.М. *Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов.* М.: Агропромиздат, 1985. 296 с. [Zhuravskaya N.K., Alekhina L.T., Otryashenkova L.M. *Issledovaniye i kontrol' kachestva myasa i myasoproduktov* [Research and quality control of meat and meat products]. Moscow: Agropromizdat Publ., 1985. 296 p. (In Russian)].
10. Кобянюк В.О., Полякова И.В., Саруханов В.Я., Исамов Н.Н., Фролова Н.А. *Радиационная обработка полуфабрикатов и пищевых продуктов, готовых к употреблению. Метод. науч.-практ. конф., посв. памяти Горбатова В.Н.* 2017:(1):155–159. [Kobyanyuk V.O., Polyakova I.V., Sarukhanov V.Ya., Isamov N.N., Frolova N.A. *Radiatsionnaya obrabotka polufabrikatov i pishchevykh produktov, gotovykh k upotrebleniyu* [Radiation processing of convenience foods and ready-to-eat foods]. *Metod. nauch.-prakt. konf., posv. pamyati Gorbatova V.N.* [Method. scientific and practical conference memory of Gorbatov V.N.]. 2017:(1):155–159. (In Russian)].
11. Козы Я.В. *Лучевая обработка пищевых продуктов. Бюллетень МАГАТЭ.* 2010:23(3):37–41. [Koev Ya.V. *Lučevaya obrabotka pishchevykh produktov* [Radiation processing of food products]. *MAGATE bulletin*, 2010:23(3):37–41. (In Russian)].
12. Кузнецов Б.А. *Товароведение второстепенных видов животного сырья.* М.: Международная книга, 1947. С. 275–277. [Kuznetsov B.A. *Tovarovedeniye vtorostepennykh vidov zhitovnogo syr'ya* [Commodity research of secondary types of animal raw materials]. Moscow: Mezhdunarodnaya kniga Publ., 1947. P. 275–277. (In Russian)].
13. Патент РФ 2147801, А01N 1/02 «Способ консервирования кабарговой струи», 27.04.2000 г., БИ. № 12, 2000. [Patent of RF 2147801, A01N 1/02 “Sposob konservirovaniya kabargovoy strui” [Method for preserving the musk deer jet], 27.04.2000, BI. No. 12, 2000. (In Russian)].
14. Приходько В.И. *Кабарга. Происхождение, систематика, экология, поведение и коммуникация.* М.: Геос, 2003. 443 с. [Prikhodko V.I. *Kabarga. Proiskhozhdeniye, sistematika, ekologiya, povedeniye i kommunikatsiya* [Musk deer. Origin, systematics, ecology, behavior and communication]. Moscow: Geos Publ., 2003. 443 p. (In Russian)].
15. Рогов И.А., Куцакова В.Е., Фролов В.И. *Консервирование пищевых продуктов холодом (теплофизические основы).* М.: Колос, 1998. 158 с. [Rogov I.A., Kutsakova V.Ye., Frolov V.I. *Konservirovaniye pishchevykh produktov kholodom (teplofizicheskiye osnovy)* [Cold food preservation (thermophysical basis)]. Moscow: Kolos Publ., 1998. 158 p. (In Russian)].
16. Стем З. *Срок годности пищевых продуктов. Расчёт и испытание.* СПб.: Профессия, 2006. 480 с. [Stem Z. *Srok godnosti pishchevykh produktov. Raschyot i ispytanie* [Shelf life of food products. Calculation and testing]. St. Petersburg: Profession Publ., 2006. 480 p. (In Russian)].
17. Стрингер М., Деннис К. *Охлаждённые и замороженные продукты* / Под науч. ред. Н.А. Уваровой. СПб.: Профессия, 2004. 495 с. [Stringer M., Dennis K. *Okhlazhdonnyye i zamorozhennyye produkty* [Chilled and frozen foods]. Sci. ed. by N.A. Uvarova. St. Petersburg: Professiya Publ., 2004. 495 p. (In Russian)].
18. Уйба В.В., Котенко К.В., Коржачкина Н.Б., Петрова Н.Б., Михайлова А.А. *Применение мускуса кабарги в клинической практике (метод. реком.).* М., 2013. 18 с. [Uyba V.V., Kotenko K.V., Korzhachkina N.B., Petrova N.B., Mikhaylova A.A. *Primeneniye muskusa kabargi v klinicheskoy praktike (metod. rekom.)* [The use of musk musk deer in clinical practice (guidelines)]. Moscow, 2013. 18 p. (In Russian)].

19. Huis J., In't Veld J.H. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International J. of Food Microbiology*. 1996;33(1):1–18.

20. Li D., Chen B., Zhang L., Gaur U., Ma T., et al. *The musk chemical composition and microbiota of Chinese forest musk deer males*. Scientific Report. 2016.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Люблинский Станислав Львович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: mobitek-m@mail.ru

Stanislav L. Lyublinskiy, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: mobitek-m@mail.ru

Люблинская Ирина Николаевна*, ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»»;
e-mail: mobitek-m@mail.ru

Irina N. Lyublinskaya*, Scientific-Production Firm «MOBITEK-M»;
e-mail: mobitek-m@mail.ru

Галочкина Валентина Петровна, д.б.н., ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»»

Valentina P. Galochkina, Dr. Sci. (Biol.), Scientific-Production Firm «MOBITEK-M»

Колоскова Елена Михайловна, к.б.н., ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»»;
e-mail: heleko3@yandex.ru

Elena M. Koloskova, Cand. Sci. (Biol.), Scientific-Production Firm «MOBITEK-M»;
e-mail: heleko3@yandex.ru

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Vladislav N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Нестеров Максим Сергеевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: mdulya@gmail.com

Maxim S. Nesterov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: mdulya@gmail.com

Берзин Игорь Александрович, д.м.н., проф., заслуженный врач РФ, Федеральное медико-биологическое агентство;
e-mail: berzin27@yandex.ru

Igor A. Berzin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Honored Doctor of the Russian Federation, Federal Medical and Biological Agency;
e-mail: berzin27@yandex.ru

Агельдинов Руслан Андреевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Ruslan A. Ageldinov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Чурюкин Роман Сергеевич, к.б.н., ООО «Теклеор»;
e-mail: rchuryukin@tecleor.com

Roman S. Churyukin, Cand. Sci. (Biol.), Tekleor;
e-mail: rchuryukin@tecleor.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author