

СПОСОБИ ЗНИЖЕННЯ КОНТАМІНАЦІЇ МІКРОСКОПІЧНИМИ ГРИБАМИ БДЖОЛИНОГО ОБНІЖЖЯ

О. О. Застулка
o.zastulka@gmail.com

Національний університет біоресурсів та природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

У статті представлені різні способи зниження контамінації мікроскопічними грибами підготовленого до реалізації бджолиного обніжжя, яке мало якісні фізико-хімічні показники щодо вмісту води, флавоноїдів, активної кислотності та вмісту сирого протеїну згідно з ДСТУ 3127-95, але підвищену кількість мікроскопічних грибів в 2,5–10 разів.

Мікологічні дослідження проб проводили на агарі Сабуро. Методика мікологічного дослідження дослідних (оброблених) і нативних (необроблених) проб полягала в тому, що відібраний 1 г обніжжя поміщали в колбу, куди додавали 0,9 % розчин NaCl, перемішували протягом 10–20 хв. У чашки Петрі в боксі асептично переносили 1 см³ суспензії, заливали розплавлений і охолоджений агар, ретельно перемішували суспензію з живильним середовищем круговими рухами. При цьому було проведено дослідження 6 проб бджолиного обніжжя з використанням заморожування, ІЧ-опромінення та розведення медом для обліку мікроскопічних грибів.

Подрібнення на електричному млині, заморожування та розморозжування 3 рази бджолиного обніжжя не дає можливості суттєво зменшити вміст мікроскопічних грибів у обніжжі. Розведення в 10 разів бджолиного обніжжя медом вірогідно ($P < 0,01$) знижує вміст грибів у 7,9 разу, а розведення в 20 разів медом зумовлює вірогідне ($P < 0,01$) зниження мікроскопічних грибів у 13,94 разу. У разі контамінації обніжжя мікроскопічними грибами родів *Mucor* та *Rhizopus* і відсутності контамінації грибами родів *Aspergillus* його безпечність можна підвищити шляхом опромінення інфрачервоними променями протягом 1 год або шляхом виготовлення 10 % обніжжя з медом для вживання людям або тваринам. Під час використання бджолиного обніжжя для виготовлення канді для бджіл та медово-пилкових продуктів для людей обов'язково необхідно проводити його мікологічний контроль. У разі виявлення контамінації бджолиного обніжжя грибами роду *Aspergillus* воно повинне проходити додаткове дослідження на можливість токсинування.

Ключові слова: БДЖОЛИНЕ ОБНІЖЖЯ, БАД, КВІТКОВИЙ ПИЛОК, МІКРОСКОПІЧНІ ГРИБИ, ІЧ-ВИПРОМІНЕННЯ

THE WAYS TO REDUCE CONTAMINATION OF MICROSCOPIC FUNGI IN BEE POLLEN

O. Zastulka
o.zastulka@gmail.com

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
15 Heroiv Oborony str., Kyiv 03041, Ukraine

The article describes different ways of reducing the contamination of microscopic fungi in bee pollen, that had qualitative physicochemical indices regarding water content, flavonoids content, active acidity and the content of crude protein according to the national standard 3127-95, but with 2.5–10 times high content of microscopic fungi.

Mycological research was carried out on Sabouraud agar. The method of mycological research of experimental (treated) and native (raw) samples consisted in the fact that the collected 1 g of bee pollen was placed in a flask, where 0.9 % NaCl solution was added and stirred for 10–20 min. Then we aseptically transferred 1 cm³ of suspension in Petri dishes, poured molten and cooled agar, carefully mixed the suspension with the nutrient medium in circular motions. At the same time, a study of 6 samples of bee pollen was conducted using freezing, infrared irradiation and honey dilution for recording microscopic fungi.

Grinding on an electric mill, freezing and defrosting 3 times of bee pollen do not allow reducing substantially the content of microscopic fungi in the forehead. Dilution of 10 times by honey in bee pollen significantly ($P < 0.01$) reduces the content of fungi by 7.9 times, and 20 times dilution with honey causes a significant ($P < 0.01$) decrease in microscopic fungi by 13.94 times. In case of contamination of the bee pollen with microscopic fungi by the genera *Mucor* and *Rhizopus* and the absence of contamination by *Aspergillus* genera, its safety can be increased by exposing infrared rays for 1 hour or by making 10 % honey-pollen product for use by humans or

animals. It is necessary to conduct mycological control of bee pollen, if using bee pollen for the manufacture of candy for bees and honey-pollen products for people. If, however, the bee pollen is contaminated by fungi of the genus *Aspergillus*, it should be subjected to an additional study on the possibility of toxin formation.

Keywords: BEE POLLEN, BAA, FLOWER POLLEN, MICROSCOPIC FUNGI, IR-IRRADIATION

СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ КОНТАМИНАЦИИ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ ПЧЕЛИНОЙ ОБНОЖКИ

О. А. Застулка

o.zastulka@gmail.com

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборона, 15, г. Киев, 03041, Украина

В статье представлены различные способы снижения контаминации микроскопическими грибами подготовленной к реализации пчелиной обножки с качественными физико-химическими показателями по содержанию воды, флавоноидов, активной кислотности и содержанию сырого протеина согласно ДСТУ 3127-95, но с повышенным содержанием микроскопических грибов в 2,5–10 раз.

Микологические исследования проб проводили на агаре Сабуро. Методика микологического исследования опытных (обработанных) и нативных (необработанных) проб заключалась в том, что отобранный 1 г обножки помещали в колбу, куда добавляли 0,9 % раствор NaCl, перемешивали в течение 10–20 мин. В чашки Петри в боксе асептически переносили 1 см³ полученной суспензии, заливали в расплавленный и охлажденный агар, тщательно перемешивали суспензию с питательной средой круговыми движениями. При этом было проведено исследование 6 проб пчелиной обножки с использованием замораживания, ИК-излучения и разведения медом для учета микроскопических грибов.

Измельчение на электрической мельнице, замораживание и размораживание 3 раза пчелиной обножки не дает возможности существенно уменьшить содержание микроскопических грибов в обножке. Разведение в 10 раз пчелиной обножки медом достоверно ($P < 0,001$) снижает содержание грибов в 7,9 раза, а разведение в 20 раз медом вызывает достоверное ($P < 0,001$) снижение микроскопических грибов в 13,94 раза. При контаминации обножки микроскопическими грибами родов *Mucor* и *Rhizopus* и отсутствии контаминации грибами родов *Aspergillus* ее безопасность можно повысить путем облучения инфракрасными лучами в течение 1 часа или путем изготовления 10 % обножки с медом для употребления людям или животным. При использовании пчелиной обножки для изготовления канди для пчел и медово-пыльцевых продуктов для людей обязательно необходимо проводить микологический контроль пчелиной обножки. Если же обножка контаминирована грибами рода *Aspergillus*, она должна подвергаться дополнительному исследованию на возможность токсинообразования.

Ключевые слова: ПЧЕЛИНАЯ ОБНОЖКА, БАД, ЦВЕТОЧНАЯ ПЫЛЬЦА, МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ, ИК-ИЗЛУЧЕНИЯ

Бджолине обніжжя має неймовірний потенціал для використання як харчовий продукт і як корм. Воно містить протеїни, вуглеводи, ліпіди, вітаміни, мінерали та амінокислоти. Обніжжя як ліки та харчовий продукт традиційно використовувалося на Далекому Сході, особливо в Китаї. Прадавні єгиптяни називали обніжжя «пилом, що дає життя» [2]. «Батьки західної медицини» (Гіппократ, Гай Пліній Секунд, Піфагор) вірили у цілющі властивості бджолиного обніжжя, вони часто виписували його для своїх хворих. Поняття «пилок» вперше було використано в *Historia plantarum* (1686) Джоном Реєм. У великих кількостях бджолине обніжжя

почали використовувати для харчування лише після Другої світової війни, коли розробили пилковловлювачі [3]. Відомо, що свіжозібрана біологічна добавка містить 20–30 % води. Така вологість є ідеальним середовищем для розвитку мікроорганізмів. Згідно з технологією виробництва, зібране бджолине обніжжя повинне одразу ж висувуватись у сушильний шафі за температури 37–40 °C (конвективна сушка) не більше 3 діб до досягнення вмісту води не більше 10 % [1, 5]. Проте навіть за такої вологості більшість бджолиного обніжжя, що реалізується на ринку України, містить значно завищену кількість мікроскопічних грибів,

що регламентує ДСТУ 3127-95 [6, 8]. Літературні джерела вказують лише на можливість обробки свіжозібраного квіткового пилку для зменшення мікроорганізмів заморожуванням та обробкою ІЧ-променями [4, 7]. У доступних нам літературних джерелах ми не знайшли повідомлень щодо способів зменшення контамінації мікроскопічними грибами готового бджолиного обніжжя. Метою роботи було провести експериментальні дослідження, спрямовані на пошук способів зниження кількості мікроскопічних грибів у готовому висушеному бджолиному обніжжі.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження було бджолине обніжжя, придбане на сільськогосподарському ярмарку ННЦ «Інститут бджільництва ім. П. І. Прокоповича» у 2016 р. Після визначення фізико-хімічних показників (вміст води, вміст флавоноїдів, активна кислотність та вміст сирого протеїну), згідно з ДСТУ 3127-95, якісні проби підлягали мікробіологічному дослідженню щодо вмісту кількості мікроскопічних грибів. Мікологічні дослідження проб проводили на агарі Сабуру. Методика мікологічного дослідження дослідних (оброблених) і нативних (необроблених) проб полягала в тому, що відібраний 1 г обніжжя поміщали в колбу, куди додавали 9 см³ 0,9 % розчину NaCl, перемішували

ли протягом 10–20 хв. У три порожні стерильні чашки Петрі в боксі асептично переносили 1 см³ суспензії у розведенні 1:10, виливали в розплавлений і охолоджений агар з температурою +50...+55 °С, ретельно перемішували суспензію з живильним середовищем круговими рухами. Кількість грибів КУО в пробах визначали після 5 днів інкубації за 25 °С. При цьому було проведено дослідження по 6 проб бджолиного обніжжя з використанням заморожування, ІЧ-опромінення та розведення медом для обліку мікроскопічних грибів. Проби розтирали на електричному млині, після чого відбирали по 1 г обніжжя і заморожували та розморозували тричі за температури –20 °С. Аналогічні проби опромінювали в боксі за кімнатної температури лампою з інфрачервоним промінням. Також із дослідних проб готували мед із вмістом 5 % та 10 % пилку.

Результати й обговорення

Результати досліджень наявності мікроскопічних грибів до обробки бджолиного обніжжя наведені у табл. 1. З даних таблиці видно, що всі проби бджолиного обніжжя мали якісні фізико-хімічні показники — вміст води, флавоноїдів, активну кислотність та вміст сирого протеїну згідно з ДСТУ 3127-95. Разом з тим, було виявлено підвищений вміст мікроскопічних грибів у 2,5–10 разів порівняно з нормою.

Таблиця 1

Характеристика якісних проб бджолиного обніжжя
Characteristics of bee pollen samples quality

№ проби No. of sample	Фізико-хімічні показники бджолиного обніжжя Physico-chemical indicators of bee pollen				Кількість мікроскопічних грибів, КУО/г Amount of microscopic fungi, CFU/g
	вміст води (%) water content (%)	вміст флавоноїдів (%) flavonoid content (%)	активна кислотність (pH) active acidity (pH units)	вміст сирого протеїну (%) crude protein content (%)	До обробки Before processing
1	8,24	4,5	4,74	23,89	240
2	8,75	5,16	5,32	23,68	290
3	10	5,02	5,31	20,93	410
4	8,28	11	5,13	21,37	1050
5	9,54	5,45	5,2	24,88	590
6	9,26	5,16	5,1	22,47	600
M±m	9,01±0,33	6,05±0,92	5,13±0,08	22,87±0,72	530±121

Таблиця 2

Наявність мікроскопічних грибів (КУО/г) у бджолиному обніжжі після заморожування, ІЧ-опромінення та виготовлення медово-пилкового продукту

The presence of bee pollen's microscopic fungi (CFU/g) after freezing, infrared irradiation and production of honey-pollen product

№ проби No. of sample	Після заморожування After freezing	Після опромінення After irradiation	Після виготовлення 10 % медово-пилкового продукту After making 10 % of honey-pollen product	Після виготовлення 5 % медово-пилкового продукту After making 5 % of honey-pollen product
1	200	130	25	17
2	320	350	40	23
3	600	375	70	40
4	910	740	125	64
5	420	350	55	38
6	684	514	85	46
M±m	522±117	410±81	67±15*	38±7**

Примітка: * — $P < 0,01$; ** — $P < 0,01$.

Note: * — $P < 0,01$; ** — $P < 0,01$.

Результати дослідження наявності мікроскопічних грибів у бджолиному обніжжі після обробки наведені у табл. 2. Подрібнення бджолиного обніжжя і триразове заморожування сприяло зниженню мікроскопічних грибів в 1,02 разу за проведення посіву на агар Сабу-ро. Таким чином, трьохразове заморожування і розморожування готового бджолиного обніжжя не сприяє суттєвому зменшенню контамінації мікроскопічними грибами.

У наступному експерименті подрібнені на електричному млині проби обніжжя розмішували на столі у стерильному боксі на відстані 40 см від лампи з інфрачервоними променями. Опромінення проводили протягом 1 год. З даних табл. 2 видно, що опромінення сприяло вірогідному ($P < 0,01$) зменшенню кількості мікроскопічних грибів в 1,29 разу за висіву та обліку результатів на агарі Сабу-ро. При цьому у трьох пробах різко зменшилась кількість грибів роду *Mucor* та *Rhizopus*.

Отже, інфрачервоне опромінення у 50% досліджених проб зумовило інактивацію мікроскопічних грибів родів *Mucor* та *Rhizopus*. У цих пробах збільшилася кількість грибів роду *Aspergillus*, які не могли прорости внаслідок високої концентрації мукоральних грибів. Тобто за незначного перевищування (на 29 %) мікроскопічних грибів у бджолиному обніжжі його безпечність можна підвищити подрібненням на електричному млині та опроміненням інфрачервоними променями протягом 1 год.

Таким чином, опромінення інфрачервоними променями можна також використовувати у разі значного ураження бджолиного обніжжя грибами родів *Mucor* та *Rhizopus* для підвищення його безпечності.

Під час отримання пилково-медового продукту 10 г розмеленого обніжжя розмішували з 90 г меду. Мед розігрівали за температури 40 °C і перемішували з бджолиним обніжжям. З даних табл. 2 видно, що розведення обніжжя медом у 10 разів сприяло різкому зменшенню (у 7,9 разу) мікроскопічних грибів, які вирости на агарі Сабу-ро. Під час отримання пилково-медового продукту 5 г розмеленого обніжжя розмішували з 95 г меду. Мед розігрівали за температури 40 °C і перемішували з бджолиним обніжжям. З даних табл. 2 видно, що розведення обніжжя медом в 20 разів сприяло різкому зменшенню в 13,94 разу мікроскопічних грибів, які вирости на агарі Сабу-ро.

Висновки

Подрібнення на електричному млині, трьохразове заморожування та розморожування бджолиного обніжжя не дає можливості суттєво зменшити кількість у ньому мікроскопічних грибів. Розведення в 10 разів бджолиного обніжжя медом вірогідно ($P < 0,001$) знижує кількість грибів у 7,9 разу, а розведення у 20 разів медом зумовлює вірогідне ($P < 0,001$) зниження мікроскопічних грибів у 13,94 разу.

За контамінації обніжжя мікроскопічними грибами родів *Mucor* та *Rhizopus* і відсутності контамінації грибами родів *Aspergillus* його безпечність можна підвищити опроміненням інфрачервоними променями протягом 1 год або виготовленням 10 % обніжжя з медом для вживання людям або тваринам. Під час використання бджолиного обніжжя для виготовлення канді для бджіл і медово-пилкових продуктів для людей обов'язково необхідно проводити його мікологічний контроль. Якщо ж обніжжя контаміноване грибами роду *Aspergillus*, воно повинне проходити додаткове дослідження на можливість токсиноутворення. Якщо в такому обніжжі гриби роду *Aspergillus* виділяють мікотоксини, таке обніжжя повинне знищуватися.

Перспективи подальших досліджень.

Перспективним є подальше вивчення різної експозиції опромінення інфрачервоними променями бджолиного обніжжя. Також доцільно вивчити вплив різних режимів обробки бджолиного обніжжя ультразвуком на вміст мікроскопічних грибів. При цьому вивчити етіологічний спектр мікологічних грибів до та після опромінення інфрачервоними променями і за різних режимів обробки ультразвуком.

1. Bee pollen (flower pollen) and mix of it — Determination of water content, active acidity, flavonoids content, crude protein content. Ukrainian standard. 3127-95: 1995, 25 p. (in Ukrainian)

2. Brindza J., Grof J., Bacigalova K. Pollen microbial colonization and food safety. *Acta Chimica Slovaca*, 2010, vol. 1, pp. 95–102.

3. Campos M., Frigerio C., Lopes J., Bogdanov S. What is the future of bee-pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2010, vol. 2, pp. 131–144.

4. Chekryga G. P. Environmental factors forming microbiota and methods of its control in beekeeping products. Dr. Biological sci. diss. Krasnoobsk, 2014, 405 p. (in Russian)

5. Cherkasova A. I., Soloshenko L. M., Gubskaya I. V. *Production technology of bee pollen (flower pollen)*. Kyiv, 2005, 19 p. (in Ukrainian)

6. Galatiuk O. O., Yakubchak O. M., Solodka L. O. Organoleptic, physico-chemical and microbiological indices of bee pollen of various regions of Ukraine. Collection of scientific works, vol. 30, no 2. Veterinary science. Problems of Zoo Engineering and Veterinary Medicine, 2015, pp. 241–244. (in Ukrainian)

7. Shevtsova T., Petrova J., Brindza J. The microbiological quality of anemophilous pollen with allergenic potential after collection and storage. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 2015, pp. 81–87. DOI: 10.15414/jmbfs.2015.5.1.81-87.

8. Zastulka O., Yakubchak O., Solodka L., Halatyuk O. The Contamination of Bee Pollen by Microscopic Fungi. *Scientific Bulletin of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*, 2015, vol. 223, pp. 40–46. (in Ukrainian)