

СОВРЕМЕННЫЕ ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ОЦЕНКИ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ производства пищевых продуктов

З.Е. ЕГОРОВА, Е.Н. ЗЕЛЕНКОВА, О.И. ДАВЫДОВА, Т.П. ЛИХТАРОВИЧ

В последнее время санитарно-гигиенический мониторинг на пищевых предприятиях приобретает особое значение в связи с повсеместным внедрением систем менеджмента безопасности, основанных на принципах НАССР. При этом формирование и реализация комплекса превентивных мероприятий, направленных на соблюдение санитарно-гигиенических норм на перерабатывающем предприятии и устранение риска микробиологической контаминации готовой продукции, предполагает использование экспресс-методов контроля текущего санитарного состояния производственных помещений, технологического оборудования и инвентаря, применяемых тары и упаковки.

Вместе с тем, до сих пор на отечественных предприятиях пищевой промышленности используются традиционные методы гигиенического контроля санитарного состояния производства, то есть методы классической микробиологии.

Так, одним из методов оценки эффективности мойки и дезинфекции технологического оборудования является проверка промывных вод микроскопированием и посевами на твердые питательные среды. При этом микроскопирование – наиболее быстрый способ, но определение общей микробиологической обсемененности путем посева – хотя и продолжительное, но более точное. При хорошем качестве санитарной обработки оборудования общее количество микроорганизмов в промывной воде не должно резко отличаться от их количества в воде, которую использовали для мойки оборудования. Вместе с тем, для некоторых пищевых производств крайне важно определить на

поверхности вымытого оборудования и инвентаря также и остаточное количество микроорганизмов, вызывающих порчу готовой продукции или нарушение технологического процесса. Данное обстоятельство вызывает необходимость осуществления дополнительных микробиологических исследований. Например, для пивоваренного производства недопустимо присутствие уксуснокислых, молочнокислых бактерий, бактерий семейства *Escherichiacia*, а также строгой анаэробной микрофлоры (например, род *Megasphaera*). Поэтому посев промывных вод рекомендуется также делать и на селективные среды, позволяющие обнаруживать наиболее опасных вредителей пивоварения.

Таким образом, методы классической микробиологии в силу своей длительности (до 72 ч инкубирования) и трудоемкости не вполне отвечают современным требованиям (критериям) системы мониторинга. В связи с этим в производственную практику пищевых предприятий стали внедрять быстрые методы оценки санитарно-гигиенического статуса, к которым относятся так называемые «индикаторные» методы.

Индикаторные методы основаны на определении некоторых метаболитов (аденозинтрифосфата, флавиномононуклеотида, гемина и др.), концентрация которых пропорциональна количеству микроорганизмов в пробе. Большинство из этих методов не являются универсальными, а применимы лишь для отдельных видов микроорганизмов. В то же время такие метаболиты, как АТФ (аденозинтрифосфат) и ФМН (флавиномононуклеотид), содержатся в достаточно больших количествах во всех клетках микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1 – Содержание АТФ, ФМН и гемина в некоторых биологических объектах

Биологический объект	Типичный диапазон концентраций, мкг/мг сухого веса		
	АТФ	ФМН	Гемин
Клетки млекопитающих	0,5 – 5	0,005 – 0,05	Изменяется в широких пределах
Бактерии	1 – 10	0,01 – 0,20	0,005 – 0,5*
Одноклеточные водоросли	0,5 – 5	Не известно	Изменяется в широких пределах

* Имеются штаммы, в которых отсутствует гемин.

Как показала международная практика, наиболее чувствительным и универсальным индикаторным методом определения биомассы микроорганизмов является метод АТФ-метрии (АТФ-биолюминесценции). Его выгодно отличают от других методов не только хорошая воспроизводимость и высокие чувстви-

тельность и скорость, но и универсальность, т. е. возможность суммарного определения всей микрофлоры, присутствующей в исследуемом образце.

Общую схему определения биомассы методом АТФ-метрии можно представить следующим образом (рис. 1):

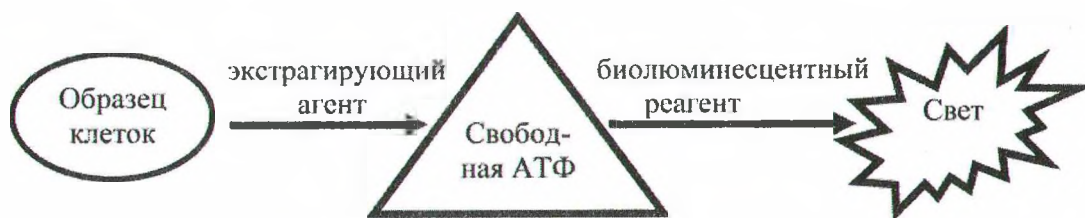


Рисунок 1 – Схема биолюминесцентного метода

Для экстракции АТФ из клеток микроорганизмов обычно используют следующие агенты:

- кислоты;
- органические растворители;
- поверхностно-активные вещества.

В качестве люминесцентного реагента применяют специфические ферменты – люциферазы, обеспечивающие крайне высокий энергетический выход реакции. Отличительной особенностью такой реакции, катализируемой люциферазой, является то, что она протекает с образованием интенсивной люминесценции в сине-зеленой области спектра (~ 490 нм).

Поскольку на каждую молекулу прореагировавшего субстрата (АТФ) образуется от 0,3 до 1,0 кванта света, то чувствительность биолюминесцентных методов определения аденозинтрифосфата на много порядков превышает чувствительность других методов определения этих

соединений и составляет $10^{-13} - 10^{-18}$ моль в измеряемом растворе. Другой важной особенностью люциферазных реакций является их абсолютная специфичность по отношению к нуклеотиду, что дает возможность анализировать сложные смеси без их предварительного разделения. Наконец, приборы для измерения свечения по конструкции гораздо проще, чем, например, спектрометры или флуориметры, что также упрощает практическое использование биолюминесцентных систем.

Данный принцип пригоден и для биолюминесцентного определения ФМН, но пока практического применения не нашел.

Использование гемина для определения микробной биомассы нецелесообразно из-за ряда принципиальных недостатков, обусловленных особенностями строения и свойств геминовых соединений, а также тем, что содержание их в клет-

ках микроорганизмов гораздо меньше, чем АТФ или ФМН, а в некоторых видах гемин отсутствуют [1 – 3].

Таким образом, можно утверждать, что индикаторные методы являются более удобными и перспективными в отличие от классических микробиологических методов для оценки санитарно-гигиенического статуса производства, которые применяются в настоящее время, так как они позволяют значительно сэкономить время, необходимое для получения окончательного результата. Кроме того, чувствительность АТФ-метрии является достаточной для оценки чистоты поверхностей оборудования в пищевой промышленности, а сам метод не требует больших трудозатрат и каких-либо специальных навыков для осуществления анализа.

Среди последних разработок, основанных на биолюминесцентном методе, можно выделить следующие системы: технология RIDA ATP и система «SystemSure II with Ultrasnap™ ATP», с помощью которых анализ чистоты поверхности выполняется всего за две минуты.

Система RIDA ATP включает в себя следующие компоненты:

- экстрагент (лизис клеток высвобождает АТФ);
- чистые (без АТФ) сухие хлопковые тампоны для сбора проб;
- пробирки с тонкопленочными реагентами;
- люминометр для считывания результатов.

Для удобства работы имеется также программа для передачи результатов измерения на компьютер, ввода в память люминометра из компьютера идентификаторов серии и места исследования, а также программа для формирования «санитарно-гигиенической карточки» того или иного места исследования.

Эта технология обеспечивает высокую точность измерения, поскольку потери АТФ полностью исключены. Специальная конструкция оптического датчика люминометра обеспечивает сбор и регистрацию люминесценции, испуска-

емой пробиркой во все стороны, таким образом исключая занижение результата вследствие неравномерного распределения АТФ на тампоне. К преимуществам использования технологии RIDA ATP для решения самого широкого круга задач в сфере производственной гигиены на предприятии относятся:

- экспрессность (продолжительность анализа составляет менее двух минут);
- высокая корреляция между количеством АТФ и биолюминесцентным сигналом и высокая чувствительность;
- хорошая сходимость (относительное стандартное отклонение менее 5 %);
- стабильность реакции и простота интерпретации результатов;
- возможность ведения электронных баз данных санитарно-гигиенического состояния предприятия и использования технологии RIDA ATP даже в полевых условиях.

Система «SystemSure II with Ultrasnap™ ATP» состоит из люминометра «SystemSure II» и одноразового устройства «Ultrasnap™ ATP». Люминометр представляет собой средство измерения, одноразовое устройство – набор биолюминесцентных реагентов для специфического анализа, содержащий все компоненты, кроме АТФ, необходимые для протекания люциферазной реакции.

Люминометр «SystemSure II» может работать и с другими одноразовыми устройствами, такими, например, как «SpotCheck™», «SpotCheck Plus™», «Aquasnap™», «Snapshot™».

«SpotCheck™» позволяет определять остатки пищевых продуктов, содержащих глюкозу. Тест с помощью данного устройства производится очень быстро, так как находящийся в нем реагент становится зеленым в течение 60 с при наличии глюкозы на исследуемой поверхности, и тем самым «SpotCheck™» дает возможность незамедлительно предпринимать корректирующие действия.

При помощи устройства «SpotCheck Plus™» удобно определять не только глюкозу, но и лак-

тозу, поэтому оно прекрасно подходит для использования в маслодельной и молочной промышленности.

«Aquasnap™» – это устройство, предназначенное для анализа проб воды. Его новизна состоит в том, что в нем впервые используется стабильный жидкий реагент, в то время как в других аналогичных системах отсутствуют ферменты, подвергнутые сублимационной сушке. Этот реагент позволяет получать более точные, устойчивые во времени и воспроизводимые результаты.

Устройство «Snapshot™» может быть использовано при работе с другими люминометрами, предлагаемыми на рынке таких приборов.

Таким образом, метод АТФ-биолюминесценции может быть использован не только для гигиенического контроля чистоты поверхностей технологического оборудования и оценки эффективности его санитарной обработки в режиме реального времени, но и для определения биозагрязнения охлаждающей и технологической воды, степени микробного загрязнения молока и т. д.

Вместе с тем, несмотря на очевидные достоинства метода АТФ-метрии, он не нашел широ-

кого применения в нашей стране. Это связано не только с относительно высокой стоимостью для наших предприятий люминометров и расходных материалов к ним, но и с отсутствием официально признанной стандартизированной методики применения люминесценции для оценки санитарного состояния производственных объектов и интерпретации полученных результатов с точки зрения соответствия санитарным правилам и нормам.

Сотрудниками и студентами кафедры физико-химических методов сертификации продукции БГТУ совместно со специалистами заводской центральной лаборатории ОАО «Пивзавод Оливария» были проведены исследования по определению корреляции между результатами, полученными методом люминесценции и классической микробиологии. Исследования проводили с декабря 2005 г. по март 2006 г. включительно. Объектами исследования были технологическое оборудование на участке розлива пива и потребительская тара для пива.

Результаты, отражающие степень корреляции между данными, полученными экспресс-методом и микробиологическим методом, представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Сравнительная оценка значений микробиологической обсемененности технологического оборудования и потребительской тары, полученных разными методами

Объект исследований	Количество микроорганизмов, КОЕ/100 см ²	
	Показания люминометра	Подсчет КОЕ на чашках Петри
Технологическое оборудование:		
1	51	56
2	31	30
3	156	70
4	16	21
5	6	8
Стекланная бутылка	7	6
Кроненпробка	33	48

Из приведенных данных видно, что результаты, полученные с помощью люминометра и микробиологическим методом, весьма близки, что подтверждает достаточную для оценки санитар-

но-гигиенического состояния производства точность экспресс-метода.

Кроме этого, результаты исследований позволяют установить пороговые значения микробио-

логической обсемененности поверхности технологического оборудования, которые можно использовать при разработке системы мониторинга за критическими контрольными точками (ККТ) и корректирующих действий в рамках процедуры санитарной обработки оборудования и мойки потребительской тары.

Литература

1. Бурмакина С.В. Система мониторинга микроорганизмов на основе генов биолюминесценции. – М.: Академия, 1996. – 101 с.
2. Исмаилов А.Д. Бактериальная биолюминесценция: механизмы образования и взаимодействия с люциферазой альдегидных и флавиновых субстратов. – М.: Биохимия, 1995 – 67 с.
3. Угарова Н.Н., Бровко Л.Ю. Биолюминесцентные методы в микробиологии. // В сб.: Прикладная биохимия и микробиология. – М.: Изд-во МГУ, 1987. – Т. 23, № 1, с. 14 – 23.

Таким образом, люминометрия – перспективный метод для пищевых предприятий, внедривших систему управления качеством и безопасностью на основе принципов НАССР, позволяющий оперативно оценить и вносить коррективы при выходе некоторых элементов системы за критические пределы.

Зинаида Евгеньевна ЕГОРОВА,
кандидат технических наук,

*доцент кафедры физико-химических методов
сертификации продукции БГТУ*

Елена Николаевна ЗЕЛЕНКОВА,
студентка V курса факультета

технологии органических веществ БГТУ

Ольга Ивановна ДАВЫДОВА,

*начальник заводской центральной лаборатории
ОАО «Пивзавод Оливария»*

Татьяна Павловна ЛИХТАРОВИЧ,

*инженер-микробиолог I категории заводской
центральной лаборатории ОАО «Пивзавод Оливария»*

Белорусским государственным технологическим университетом
издано учебное пособие

«СЕРТИФИКАЦИЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННЫХ ТОВАРОВ»

для студентов специальности

«Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции»
учреждений, обеспечивающих получение высшего образования.

Авторы: З.Е. Егорова; Н.Д. Коломиец

*Рецензенты: В.Н. Корешков, Н.А. Прохорчик, В.П. Филонов, М.А. Гриц, а также кафедра
товароведения и организации торговли учреждения образования «Могилевский государственный
университет продовольствия»*

В учебном пособии освещены гигиенические основы питания, вопросы качества и безопасности продовольственных товаров, экспертизы и сертификации пищевых продуктов. Также уделено внимание вопросам управления качеством и безопасностью продовольственного сырья.

В основу книги положены современные научные знания в области нутрициологии, международный опыт в области экспертизы и оценки соответствия продовольственных товаров, нормативно-правовая база Республики Беларусь по рассматриваемым аспектам. Авторы использовали результаты собственных исследований, опубликованных в открытой печати, а также опыт работы в области сертификации продовольственных товаров, консалтинга и аудита систем менеджмента качества и систем НАССР.