

Облучение биологических объектов с применением ионизационного пучка с целью ингибирования условно-патогенной и патогенной микрофлоры сельскохозяйственного сырья

Михаил А. Завьялов	¹	grachev@mail.yandex.ru
Валерий А. Кухто	¹	grachev@mail.yandex.ru
Наталья В. Илюхина	¹	inv63@mail.ru
Анастасия Ю. Колоколова	¹	aykolokolova@mail.yandex.ru

¹ ФГБНУ ВНИИТек, Московская область, Ленинский район, г Видное ул. Школьная 78

Реферат. Использование радиационных технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности является общемировой тенденцией. Мировые потери продовольственной продукции на всех этапах производства достигают 30 процентов, особенно существенные потери плодовоовощной продукции. Радиационная обработка пищевой продукции способствует подавлению развития патогенных микроорганизмов и, тем самым, продлению сроков хранения. Несмотря на многочисленные исследования в данной области, существующие методы облучения требуют дополнительной оптимизации для обеспечения возможности эффективного применения облучения для всех видов плодовоовощной продукцией. Данная работа посвящена изучению эффективности облучения модельных систем содержащих условно-патогенную микрофлору пучками электронов с энергией 10 МэВ. Целью данных исследований является изучение эффективности применения облучения ионизационным пучком для подавления патогенных микроорганизмов, обуславливающих бактериальное загрязнение продуктов питания. В связи с этим были поставлены следующие задачи: определить степень устойчивости исследуемых микроорганизмов; определить различия между горизонтальным и вертикальным расположениями образцов при облучении. Результаты исследований показали, что, наиболее устойчивыми к ионизационному облучению оказались штаммы *Salmonella*, менее устойчивым – *S. aureus*. Отмечено различие полученных результатов для вертикального и горизонтального расположения образцов. При обработке образцов с исследуемыми штаммами культур в диапазоне доз от 4 до 5 кГр наблюдается увеличение роста микроорганизмов для всех условий обработки, а в остальных изучаемых диапазонах их ингибирование. Показана необходимость учитывать не только эффективность угнетения микрофлоры на конкретных продуктах, но и эффективность установки для конкретного образца.

Ключевые слова: ионизационная обработка, *S. aureus*, *Salmonella*

Irradiation of biological objects using an ionization beam in order to inhibit conditionally pathogenic and pathogenic microflora of agricultural raw materials

Mihail A. Zavyalov	¹	grachev@mail.yandex.ru
Valerii A. Kuhto	¹	grachev@mail.yandex.ru
Natal'ay V. Ilyuhina	¹	inv63@mail.ru
Anastasiay Yu. Kolokolova	¹	aykolokolova@mail.yandex.ru

¹ All-Russia Research Institute of Preservation Technology, Shkolnaya str., 78, Vidnoe, 142703, Russia

Summary. The use of radiation technologies in agriculture and the food industry is a common worldwide trend. Global reduction of food products at all stages of production has reached 30 percent. Especially significant reduction is in fruits and vegetables production. Radiation treatment of food products helps to suppress the development of pathogenic microorganisms as a result it extends the storage periods. Despite numerous studies in this field, existing methods of irradiation require optimization in order to ensure the possibility of using irradiation for all types of fruit and vegetable products. This research work is focused on the study of the effectiveness of irradiation of model systems containing conditionally pathogenic microflora by electron beams with an energy of 10 MeV. The aim of these developments is to study the effectiveness of electron beam irradiation application to suppress pathogenic microorganisms that cause bacterial contamination of food products. In this regard, the following tasks were set: to determine the degree of investigated microorganism's stability and to find the differences between horizontal and vertical positions of the samples during irradiation. The developments showed that *Salmonella* and *E. coli* strains were the most resistant to ionizing radiation, while *S. aureus* strains were less resistant. The difference of obtained results for vertical and horizontal positioning of the samples was noted. When processing samples with studied strains of cultures in the dose range from 4 to 5 kGy, there is an increase in the growth of microorganisms for all processing conditions. In the remaining studied ranges their inhibition are observed. It is important to take into account not only the effectiveness of the oppression of microflora on specific products, but also the efficiency of the installation for a specific sample.

Keywords: ionization treatment, electron beam, *S. aureus*, *Salmonella*

Для цитирования

Завьялов М.А., Кухто В.А., Илюхина Н.В., Колоколова А.Ю. Облучение биологических объектов с применением ионизационного пучка с целью ингибирования условно-патогенной и патогенной микрофлоры сельскохозяйственного сырья // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 80. № 3. С. 278–282. doi:10.20914/2310-1202-2018-3-278-282

For citation

Zavyalov M.A., Kyhto V.A., Ilyuhina N.V., Kolokolova A.Yu. Irradiation of biological objects using an ionization beam in order to inhibit conditionally pathogenic and pathogenic microflora of agricultural raw materials. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2018. vol. 80. no. 3. pp. 278–282. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2018-3-278-282

Введение

Ключевой задачей пищевой промышленности является обеспечения качества и безопасности пищевой продукции, согласно нормативной документации. Вопросы продовольственной безопасности продуктов питания и сырья не утрачивают своей актуальности [1]. Для получения натуральных и высококачественных продуктов питания является плодоовощное сырье. Технологии переработки плодов и овощей должны быть направлены на рациональное использование продуктов питания и сырья с сохранением пищевой ценности компонентов сырья и увеличением гарантийных сроков хранения готовой продукции, однако полноценно стабилизировать процесс сохранности, пока не удастся. Проблема заключается в том, что в процессе хранения в результате микробиологической контаминации происходит порча продукта, а также в не переработанной плодоовощной продукции не прекращаются процессы жизнедеятельности от сбора урожая до употребления человеком, поддержание этих процессов на минимальном уровне, способствует сохранности сырья [1, 3]. Присутствие на поверхности свежих овощей и фруктов условно-патогенных и патогенных микроорганизмов представляет собой наиболее значительную угрозу для сохранности этих продуктов. Имеются многочисленные исследования, в которых было показано, что уровень размножения популяций этих микроорганизмов зависит от многих факторов, таких как: видовое разнообразие и физические характеристики продукции; вид штамма микроорганизма; уровень начальной обсемененности продукции; температуры хранения и других характеристик. Таким образом, одним из важных вопросов является изучение методов, позволяющих обеспечить снижение контаминации пищевых продуктов, сохраняя при этом пищевую ценность готового продукта на длительный срок [1–5]. На сегодняшний день разработаны многочисленные методы для контроля порчи продуктов и повышения их безопасности [2]. К ним относятся такие технологии как: консервирование, пастеризация, заморозка, сушка, стерилизация, облучение [2].

С 2015 года в России последовательно вводятся нормативные документы в направлении по облучению пищевых продуктов [13–17]. В данных руководствах представлены характерные режимы обработки сухого плодоовощного сырья и фитосанитарной обработки свежей сельскохозяйственной и мясной продукции. После принятия основной нормативно-правовой базы на сегодняшний день требуется разработка технических регламентов облучения отдельных продуктов питания на конкретных радиационных

установках. В основу разработки технических регламентов по уничтожению микроорганизмов должны быть положены исследования фундаментального характера на разных модельных средах.

Только на основе моделирования можно спрогнозировать и обеспечить распределения дозы с гарантией угнетения нежелательной микрофлоры, находящейся как на поверхности, так и внутри продукта [1].

В связи с этим целью работы являлось изучение параметров инактивации условно-патогенных и патогенных микроорганизмов *Salmonella*, *S. aureus* в различных режимах облучения.

Таким образом, к изучению влияния ионизирующего облучения на пищевую продукцию и сельскохозяйственное сырье необходимо подходить комплексным решением задач, основанных на характеристиках изучаемой продукции таких как:

- физико-химические свойства продукта;
- обсемененность продукта до и после облучения (зная величину, исходной обсемененности продукта, можно рассчитать дозу, после облучения которой, количество живых клеток достигнет нормируемого уровня);
- устойчивость к воздействию ионизирующих излучений у различных микроорганизмов [3].

Целью исследований являлось изучение эффективности применения облучения электронным пучком для подавления патогенных микроорганизмов и изучение характера их угнетения при облучении в горизонтальном и вертикальном расположении образцов, обеспечивающим различное по площади пятно контакта образца с воздухом.

Материалы и методы

В исследовании по эффективности угнетения микроорганизмов использовали следующие штаммы: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (f-49) 2 полученный из штамма ВКМ 201189 и *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Typhimurium* ATCC 140283. Облучение полученных модельных систем проводили на ускорителе

Модельные системы облучали дозами ионизирующего облучения в интервале 0–10 кГр.

Аналогичные работы были проведены исследователями [1, 6–12], которые показали эффективность облучения по инактивации условно-патогенной и патогенных микроорганизмов на различных объектах исследования.

Во многих работах указано, что эффективность облучения может зависеть от геометрических параметров объекта облучения, однако экспериментальных исследований в данной области отсутствуют в необходимом количестве.

В связи с этим было принято решения об исследовании одинаковых объектов, облучённых как вертикально, так и горизонтально. В качестве носителя культуры была выбрана твердая питательная среда, приготовленная по ГОСТ 11133–1–2014 п 3.2.7 на основе мясного бульона с добавлением бактериологического агара. Инокуляцию модельных систем проводили следующим образом: суспензию, содержащую определенное количество микроорганизмов одной из изучаемых культур, вносили в пробирки, содержащие 5 мл твердой незастывшей среды из расчета 2 % инокулята от массы среды.

Процесс облучения контролировалось пленочными дозиметрами, расположенными вблизи пробирок и внутри пробирок с аналогом субстрата.

Эффективность облучения определяли путем исследования остаточной микрофлоры образцов подвергшиеся различной интенсивностью облучения согласно действующей нормативной документации по определению количество мезофильно-аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов ГОСТ 10444.15–95.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали различную устойчивость изучаемых штаммов микроорганизмов к ионизационному облучению (рисунок 1).

Исследования по эффективности угнетения различных видов микроорганизмов на твердой среде при вертикальном расположении образцов при облучении (рисунок 2), показали, что наиболее устойчивыми микроорганизмами оказались *Salmonella*, (грамотрицательные) менее устойчивым *S aureus* (грамположительные).

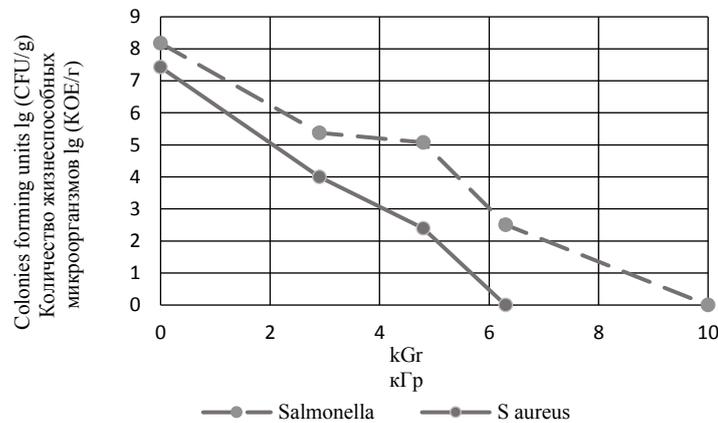


Рисунок 1. Эффективность облучения культур *Salmonella*, *S. aureus* при вертикальном расположении образцов. Более радиочувствительным из изучаемых микроорганизмов к облучению оказался *S. aureus*

Figure 1. Effectiveness of irradiation of crops *Salmonella*, *S. aureus* at the vertical location of the specimens. More sensitive microorganisms to irradiation turned out to be *S. aureus*

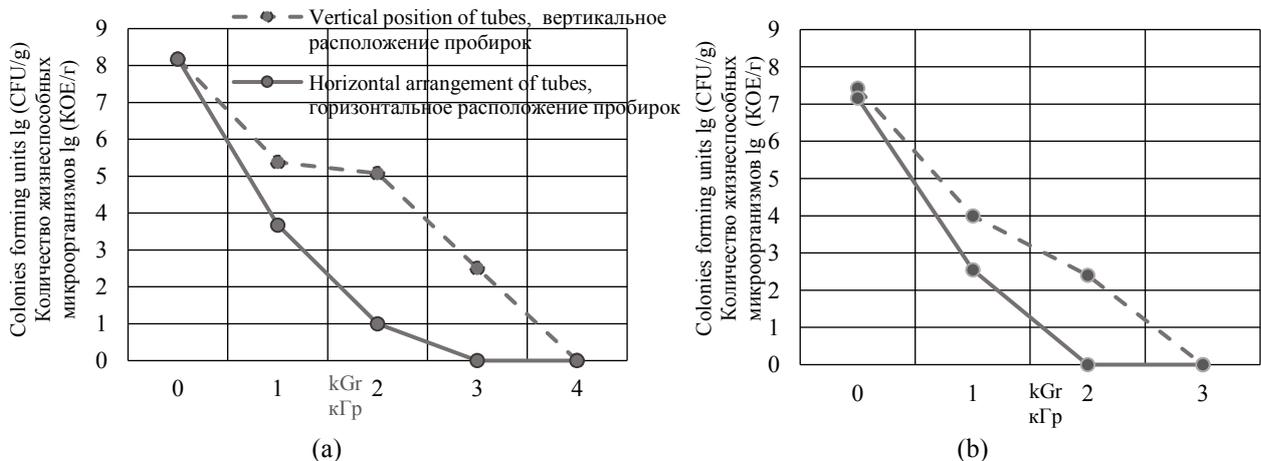


Рисунок 2. Ингибирование культуры *Salmonella^a* и *S. aureus^b* в горизонтальном расположении пробирок и вертикальном расположении пробирок

Figure 2. Inhibition of *Salmonella^a* and *S. aureus^b* horizontal arrangement of tubes, vertical position of tubes

Снижение начального микробного количества культуры *Salmonella* при облучении интенсивностью 3 кГр в горизонтальном расположении снизилась lg (с 8.1 до 3.67), в вертикальном расположении lg (с 8.1 до 5.3). При интенсивности облучения 5кГр в горизонтальном расположении снизилась lg (с 8.1 до 1.0), при вертикальном расположении lg (с 8.1 до 5.07). При интенсивности облучения в 7–10 кГр наблюдается полное угнетение начальной степени обсеменения, для горизонтального расположения, в вертикальном расположении при 10 кГр также наблюдается полное угнетение микроорганизмов, а при 7 кГр lg (с 8.1 до 2.5).

Исследования образцов содержащих культуру *Salmonella* показали, что наиболее эффективный вариант угнетения патогенной микрофлоры при облучении в горизонтальном расположении пробирки.

Снижение начального микробного количества культуры *S. aureus* при облучении интенсивностью 3 кГр в горизонтальном расположении снизилась lg (с 7.1 до 1), в вертикальном расположении lg (с 7.4 до 5.0). При интенсивности облучения 5кГр в горизонтальном расположении снизилась lg (с 7.1 до 0), в вертикальном расположении lg (с 7.4 до 2.5). При интенсивности

облучения в 7–10 кГр наблюдается полное угнетение начальной степени обсеменения.

Аналогичные исследования [1, 3, 5, 7–12] также показывают эффективность угнетения условно-патогенной и патогенной микрофлоры на различных объектах пищевой продукции таких как мясо, рыба, фрукты, люцерна, молоко и т. д. Результаты представленные в данной работе дополняют проведенные уже ранее исследования, и показывают значимость работ не только с точки зрения эффективности облучения на определенные объекты, но и зависимость различных геометрических параметров на снижение микробиологической обсеменённости, что необходимо рассчитывать при разработке режимов облучения для каждого объекта.

Выводы

Из изученных культур, наиболее устойчивыми к ионизирующему облучению оказались штамм *Salmonella* (грамотрицательные), менее устойчив штамм микроорганизмов *S. aureus* (грамположительные). Отмечено различие результатов для вертикального и горизонтального расположения пробирок. Наиболее эффективное расположение образцов при облучении является горизонтальное.

ЛИТЕРАТУРА

1 Чиж Т.В., Козьмин Г.В., Полякова Л.П., Мельникова Т.В. Радиационная обработка как технологический прием в целях повышения уровня продовольственной безопасности // Вестник Российской Академии Естественных Наук. 2011. № 4. С. 44–49.

2 Кузин А.М. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. М.: Наука, 1995. 158 с.

3 Sumner S.S., Wallner-Pendleton E.A., Froning G.W., Stetson L.V. Inhibition of *Salmonella typhimurium* on agar medium and poultry skin by ultraviolet energy // J Food Prot. 1996. № 59(3). P. 319–21.

4 Ян ван Коэй Лучевая обработка пищевых продуктов // Бюллетень МАГАТЭ. Т. 23. № 3.

5 Павлов А.Н. Исследование радиобиологических показателей эффективности экспериментально-производственного процесса радиационной обработки сельскохозяйственной продукции растительного происхождения. 2016.

6 Acharya N.G. Food irradiation and development of an alternative method for the detection of 2-alkylcyclobutanone by amit kumar b.v.sc & a.h. India: Ranga Agricultural University, 2004.

7 Thayer D.W., Boyd G., Fett W.F. Synergy Between Irradiation and Chlorination in Killing of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria Monocytogenes* // Journal of food science. 2006. V. 71. № 6.

8 Mervat A.M. Abostate, Dalia A. Zahran, Hala N. El. Hifnawi Incidence of *Bacillus cereus* in Some Meat Products and the Effect of Gamma Radiation on Its Toxin(s) // International journal of agriculture & biology. URL: 1560–8530/2006/08–1–1–4 <http://www.fspublishers.org>

9 Hossein Ahari Mostafavi, Seyed Mahyar Mirmajlessi, Hadi Fathollahi The Potential of Food Irradiation: Benefits and Limitations. URL: www.intechopen.com

10 Ruth Kava Irradiated foods. 2003

11 Vytuolis Z., Jūratė R., Romualdas M., Algis N. et al. Effect of low intensity laser radiation on cows milk microflora and somatic cell count // Medycyna Wet. 2008. № 64 (1).

12 Wilson Wijeratnam' R.S., Sivakumar' D., Ratnayaka A. Effect of gamma irradiation on microorganisms, essential oil content and volatile oil component of spice // J. food. sci. agric. 2000. №3(1). P. 82–85.

13 ГОСТ 33340–2015 Пищевые продукты, обработанные ионизирующим излучением. Общие положения

14 ГОСТ ISO 14470–2014 Радиационная обработка пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и повседневному контролю процесса облучения пищевых продуктов ионизирующим излучением.

15 ГОСТ 33271–2015 Пряности сухие, травы и приправы овощные. Руководство по облучению в целях борьбы с патогенными и другими микроорганизмами

16 ГОСТ 33302–2015 Продукция сельскохозяйственная свежая. Руководство по облучению в целях фитосанитарной обработки, Мясо свежее и мороженое. Руководство по облучению для уничтожения паразитов, патогенных и иных микроорганизмов

17 ГОСТ 33825–2016 Полуфабрикаты из мяса упакованные. Руководство по облучению для уничтожения паразитов, патогенных и иных микроорганизмов

REFERENCES

1 Chizh T.V., Kozmin G.V., Polyakova L.P., Melnikova T.V. Radiation processing as a technological method in order to increase the level of food security. *Vestnik RAN* [Bulletin of the Russian Academy of Natural Sciences] 2011. no. 4. pp. 44–49. (in Russian)

2 Kuzin A.M. Idei radiatsionnogo gormezisa v atomnom veke [The ideas of radiation hormesis in the atomic age] Moscow, Nauka, 1995. 158 p. (in Russian)

3 Sumner S.S., Wallner-Pendleton E.A., Froning G.W., Stetson L.V. Inhibition of Salmonella typhimurium on agar medium and poultry skin by ultraviolet energy. *J Food Prot.* 1996. no. 59(3). pp. 19–21.

4 Jan van Koei Radiation processing of food products. *Byulleten; MAGATE* [IAEA Bulletin] vol. 23. no. 3. (in Russian)

5 Pavlov A.N. Issledovanie radiobiologicheskikh pokazatelei effektivnosti eksperimentalno-proizvodstvennogo protsessa radiatsionnoi obrabotki sel'skokhoziaistvennoi produktsii rastitel'nogo proiskhozhdeniia [The study of radiobiological indicators of the efficiency of the experimental-production process of radiation processing of agricultural products of plant origin] 2016 (in Russian)

6 Acharya N.G. Food irradiation and development of an alternative method for the detection of 2-alkylcyclobutanone by amit kumar b.v.sc & a.h. India: Ranga Agricultural University, 2004.

7 Thayer D.W., Boyd G., Fett W.F. Synergy Between Irradiation and Chlorination in Killing of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria Monocytogenes*. *Journal of food science.* 2006. vol. 71. no. 6.

8 Mervat A.M. Abostate, Dalia A. Zahran, Hala N. El. Hifnawi Incidence of *Bacillus cereus* in Some Meat Products and the Effect of Gamma Radiation on Its Toxin(s). *International journal of agriculture & biology.* Available at: 1560–8530/2006/08–1–1–4 <http://www.fspublishers.org>

9 Hossein Ahari Mostafavi, Seyed Mahyar Mirmajlessi, Hadi Fathollahi The Potential of Food Irradiation: Benefits and Limitations. Available at: www.intechopen.com

10 Ruth Kava Irradiated foods. 2003

11 Vytuolis Z., Jūratė R., Romualdas M., Algis N. et al. Effect of low intensity laser radiation on cows milk microflora and somatic cell count. *Medycyna Wet.* 2008. no. 64 (1).

12 Wilson Wijeratnam' R.S., Sivakumar' D., Ratnayaka A. Effect of gamma irradiation on microorganisms, essential oil content and volatile oil component of spice. *J. food. sci. agric.* 2000. no. 3(1). pp. 82–85

13 GOST 33340-2015 Pishchevye produkty obrabotannye ioniziruiushchim izlucheniem Obshchie polozeniia [Food products treated with ionizing radiation. Generalities] (in Russian)

14 GOST ISO 14470-2014 Pishchevye produkty obrabotannye ioniziruiushchim izlucheniem Obshchie polozeniia [Radiation treatment of food products. Requirements for the development, validation and day-to-day monitoring of food irradiation with ionizing radiation] (in Russian)

15 GOST 33271-2015 Prianosti sukhie travy i pripravy ovoshchnye Rukovodstvo po oblucheniiu v tseliakh borby s patogennymi i drugimi mikroorganizmami [Spices, herbs and vegetable seasonings. Guidance on training to control pathogens and other microorganisms] (in Russian)

16 GOST 33302-2015 Produktsiia sel'skokhoziaistvennaia svezhaia Rukovodstvo po oblucheniiu v tseliakh fitosanitarnoi obrabotki Miaso svezhee i morozhenoe Rukovodstvo po oblucheniiu dlia unichtozheniia parazitov patogennykh i inykh mikroorganizmov [Products of farm fresh. Manual training for phytosanitary treatment, Meat fresh and frozen. Training manual for the destruction of parasites, pathogens and other microorganisms] (in Russian)

17 GOST 33825-2016 Polufabrikaty iz miasa upakovannye Rukovodstvo po oblucheniiu dlia unichtozheniia parazitov patogennykh i inykh mikroorganizmov [semi-Finished products from meat Packed. Training manual for the destruction of parasites, pathogens and other microorganisms] (in Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Михаил А. Завьялов д.т.н., профессор, ФГБНУ ВНИИТЭК, Московская область Ленинский район г Видное ул. Школьная 78, grachev@mail@yandex.ru

Валерий А. Куhto, ФГБНУ ВНИИТЭК, Московская область Ленинский район г Видное ул. Школьная 78, grachev@mail@yandex.ru

Наталья В. Илюхина к.х.н., ФГБНУ ВНИИТЭК, Московская область Ленинский район г Видное ул. Школьная 78, inv63@mail.ru

Анастасия Ю. Колоколова к.т.н., ФГБНУ ВНИИТЭК, Московская область Ленинский район г Видное ул. Школьная 78, aykolokolova@yandex.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 20.04.2018

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 20.07.2018

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Mihail A. Zavyalov doctor of technical sciences, professor, All-Russia Research Institute of Preservation Technology, Russia, 142703, Vidnoe 78, Shkolnaya str., 78, Vidnoe, 142703, Russia, grachev@mail@yandex.ru

Valerii A. Kuhto, All-Russia Research Institute of Preservation Technology, Shkolnaya str., 78, Vidnoe, 142703, Russia, grachev@mail@yandex.ru

Natal'ay V. Ilyuhina candidate of chemical sciences, All-Russia Research Institute of Preservation Technology, Shkolnaya str., 78, Vidnoe, 142703, Russia, inv63@mail.ru

Anastasiya Yu. Kolokolova candidate of technical sciences, All-Russia Research Institute of Preservation Technology, Shkolnaya str., 78, Vidnoe, 142703, Russia, aykolokolova@yandex.ru

CONTRIBUTION

All authors equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 4.20.2018

ACCEPTED 7.20.2018