

УДК 579.676

# Обеспечение микробиологической безопасности пищевой продукции с применением ионизиационного облучения

**Горячева Елена Давидовна**

кандидат технических наук, заведующий кафедрой  
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»  
Адрес: город 125080, г. Москва, Волоколамское ш., 11  
E-mail: goryachevaed@mgurp.ru

**Колоколова Анастасия Юрьевна**

кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник  
Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования (ВНИИТеК)  
Адрес: 142703, Московская обл., город Видное, ул. Школьная  
E-mail: aykolokolova@yandex.ru

**Илюхина Наталья Викторовна**

кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник  
Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования (ВНИИТеК)  
Адрес: 142703, Московская обл., город Видное, ул. Школьная  
E-mail: inv63@mail.ru

Работа посвящена обоснованию возможности применения ионизирующего облучения в пищевой отрасли с целью снижения микробиологической обсемененности сельскохозяйственной и пищевой продукции в процессе использования и долгосрочного хранения. Целью данных исследований является обоснование возможности применения радиационного облучения в пищевой отрасли. В исследовании по эффективности угнетения микроорганизмов использовали следующие штаммы: *Escherichia coli* ATCC полученный из штамма ВКМ В 114191, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (f-49)2 полученный из штамма ВКМ201189 и *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Typhimurium* ATCC 140283. Облучение проводили на ускорителе УЭЛВ-10-10-С-70 Центра коллективного пользования физическими методами исследования в «Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской Академии Наук». Результаты исследований показали зависимость устойчивости изучаемых штаммов микроорганизмов. Исследования показали, что наиболее устойчивыми к ионизационному облучению являются штамм *Salmonella* и *E. coli*, меньше устойчив штамм микроорганизмов *S. aureus*. Зависимость количества микроорганизмов от дозы облучения носит немоноотонный, полимодальный характер – при обработке тест культур ионизационным облучением от 4 до 5 кГр наблюдается увеличение роста микроорганизмов для всех условий обработки, и только затем их ингибирование. При увеличении доз облучения свыше 5 кГр уровень возникающих клеточных радиационных повреждений будет превышать возможности снижения их защитными механизмами клетки и кривые доза-эффект будут соответствовать обычной линейной или квадратично-линейной функции. Снижение количества клеток при облучении до 4 кГр можно объяснить тем, что при низких дозах, сравнимых с уровнем естественной радиации, степень повреждения ДНК микроорганизмов слишком мала, чтобы активизировать адекватный уровень ферментативной репарации.

**Ключевые слова:** ионизационная обработка, ускоритель электронов, *Salmonella*, *E coli*, *S aureus*

Рациональное использования продуктов питания и их долгосрочного хранения имеет особое значение (Козьмин, Санжарова, Кибина, Павлов, Тихонов, 2015). В области сельского хозяйства и пищевой промышленности, возрождается интерес к использованию радиационных технологий, которые по сравнению с аналогичными способами обработки сырья и готовой продукции наиболее рентабельны и позволяют более рационально и безопасно использовать сырье без применения

консервантов, химикатов и т.д. (Метлицкий, Рогачев, Хрущев, 1967). В рамках программы координированных исследований изучаются возможности, позволяющие государству увеличить поставки пищевых продуктов на национальном уровне за счет снижения потерь урожая и предотвращения различных видов порчи продуктов. Для этого необходимо уделить особое внимание приемлемости облученных пищевых продуктов для регулирующих органов и потребителей; разработке методов производства с тем, чтобы и поставщики, и потребители получали высококачественные продукты (Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, 2015).

В настоящее время облучение применяют для обработки более 80-ти видов продукции. Россия является одной из первых стран, которая начала применять облучение для обработки пищевой продукции с 1958 г., и успешно использовала вплоть до 1990-х годов (Алексахин, 1980; Батыгин, Савин, 1966; Гудков, 1991; Каушанский, Кузин, 1984; Мейсель, Черняев, 1956; Корнеев и др., 1980; Павлов, 2016). Несмотря на имеющийся со времен СССР существенный научно-технический задел по обработке пищевых продуктов радиацией (Гельфанд, Завьялов, Петров, Прокопенко, Филиппович, 2013), в данном направлении отсутствует программа, в которой было бы полноценно описано все аспекты облучения продуктов питания с внедренной и разработанной научно-методической базой. И только в 2014 г. согласно с «Решениями по итогам заседания президиума Совета при Президенте России по модернизации экономики и инновационному развитию» определена задача по использованию радиационной обработки в сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

В последние десятилетие в России активно ведутся работы по созданию новых и модернизации существующих радиационно-ускорительных комплексов для облучения медицинской, текстильной и пищевой продукции. В 2016-2017 годах в России введены в эксплуатацию два новых радиационных комплекса на основе электронных ускорителей: ООО «Теклеор», Калужская область и ООО «Акцентр», индустриальный парк «Родники», Ивановская область. В радиационном центре ООО «Теклеор» используется ускоритель электронов на энергию 10 МэВ со средней мощностью пучка 15 кВт, который разрабатывался в НИИЯФ МГУ и изготовлялся в АО «НПП «Торий». В проекте комплекса для повышения производительности предполагается установка второго ускорителя.

В стерилизационном центре ООО «Акцентр» используется ускоритель электронов с перестраиваемой энергией от 2 МэВ до 10 МэВ со средней мощностью пучка 12 кВт разработки ООО «НПП «Корад» совместно с НИЯУ МИФИ. Данный ускоритель показал рекордное значение КПД «от розетки» до 21%.

Для внедрения в производство принятой нормативно-правовой базы на сегодняшний день требуется разработка технических регламентов по облучению отдельных продуктов питания на конкретных радиационно-ускорительных установках. В основу разработки технических регламентов ключевой задачей является ингибирование микроорганизмов находящиеся как на поверхности, так и непосредственно в продукте питания. Один из этапов исследований имеющий фундаментальный характер должен проводиться на разных модельных средах. Только на основе моделирования можно спрогнозировать эффекты микробной деконтаминации, а также обеспечить целостность и качество продукции. Основным преимуществом применения ионизирующего облучения является возможность снижения микробиологической обсемененности пищевых продуктов. Целью данных исследований является обоснование возможности применения радиационного облучения в пищевой отрасли. Необходимо решение вопросов, на основе изучения радиобиологических показателей эффективности радиационной обработки в зависимости от исходных микробиологических показателей, дозиметрических характеристик ионизирующих излучений (доза, мощность дозы, распределение поглощенной дозы в облучаемой продукции) и свойств биологической среды продукции (Павлов, 2016).

Интенсивность облучения пищевой продукции может варьироваться от ряда характеристик:

- обсемененность продукта до и после облучения (зная величину, исходной обсемененности продукта, можно рассчитать дозу, после облучения которой количество живых клеток достигнет нормируемого уровня);
- спектра микроорганизмов (устойчивость к воздействию ионизирующих излучений у различных микроорганизмов неодинакова. Наиболее чувствительными к облучению среди бактерий являются грамотрицательные, особенно *Ps. aeruginosa*, *E. coli*. Несколько более устойчивы грамположительные бактерии. Слабой устойчивостью к облучению отличаются психрофильные бактерии. Очень

устойчивыми к ионизирующим излучениям оказались некоторые микрококки и споры родов *Bacillus* и *Clostridium* (Чиж, Козьмин, Полякова, Мельникова, 2011);

- физико-химические свойства продукта (агрегатное состояние).

Для качественного облучения продуктов питания особенно так же важно учитывать равномерность распределения по массе продукта. Такой подход обеспечивают надежные методы прогнозирования доставки дозы излучения, для гарантии полной инактивации патогенных микроорганизмов. Таким образом, к изучению влияния ионизирующего облучения на пищевую продукцию и сельскохозяйственное сырье необходимо подходить комплексным решением задач, основанных на характеристиках изучаемой продукции.

## Методика

### Материалы

В исследовании по эффективности угнетения микроорганизмов использовали следующие штаммы: *Escherichia coli* ATCC, полученный из штамма ВКМ В 114191, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (f-49), полученный из штамма ВКМ201189, и *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Typhimurium* ATCC 140283. Штаммы получены из официально признанной коллекции микроорганизмов ФГУП ГосНИИгенетика, и ФГБНУ «НЦЭСМП» Минздрава России и Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии. Штаммы идентифицированы в соответствии с *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, Krieg, Sneath, Staley, Williams, 1994).

В качестве субстрата выбраны два вида питательных сред в различном агрегатном состоянии модулирующие жидкие и твердые продукты питания.

### Оборудование

В исследовании использовали следующие виды оборудования: термостат суховоздушный ТМ-80, Россия; автоклав MLS-3781L «Sanyo», Япония; дозатор пипеточные электрические (мининасосы) Eppendorf, Германия; ламинарный бокс БАВНП-01-«ЛАМИНАР-С»-1,8, Россия; весы аналитические GH-200, Германия; программа *Statistic, Exel*; Детектор пленочный (рабочий) СО ПД(Э)-1/10 ГСО 8916-2007, Россия.

Облучение полученных модельных систем проводили на ускорителе УЭЛВ-10-10-С-70 Центра коллективного пользования физическими методами исследования в «Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской Академии Наук (ИФХЭ РАН)».

### Методы исследований

На Рисунке 1 представлена блок схема, по которой проводилось исследование.

#### Подготовка твердого и жидкого субстрата.

Приготовление жидкого субстрата. В термоустойчивый химический стакан помещали порошок готовой питательной среды «Питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон) фирмы ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ) и взвешивали на электронных весах 20 г. с последующим добавлением 1000 мл дистиллированной воды. Далее, стакан помещали на электрическую плитку и кипятили на слабом огне 10-15 мин., постоянно перемешивая стеклянной палочкой до растворения веществ, далее устанавливали нужный pH  $7,0 \pm 0,2$ . Готовый раствор фильтровали через бумажный фильтр и доливали до первоначального объема дистиллированной водой. Пробирки маркировали с указанием названия среды и датой выработки. Питательную среду, не охлаждая, осторожно через воронку разливали в пробирки по 5 мл и стерилизовали 15 мин при  $121^\circ \text{C}$ .



Рисунок 1. Блок схема методики проведения исследования.

Приготовление твердого субстрата проводили

аналогично приготовлению жидкого субстрата, за исключением добавления в раствор 30 г. бактериологического агара фирмы ФБУН ГНЦ ПМБ.

### Подготовка суспензии культур

Подготовку культур проводили в ламинарных боксах с соблюдением требований стерильности. В качестве исходной суспензии использовали рабочие запасы коллекций патогенных биологических агентов, находящихся в ФГБНУ «ВНИИТеК». Рабочие запасы культур, в свою очередь, были подготовлены из ампул, приобретенных во Всероссийских Коллекциях Патогенных Микроорганизмов.

Рабочая культура была перенесена на три косяка твердого субстрата с помощью бактериологической петли, далее посеы культивировались в суховоздушном термостате при температуре 37°C в течение 24 часов.

По истечению времени суспензию суточной культуры (каждую из изучаемых культур) вносили в пробирки, содержащие 5 мл жидкой и плотной сред из расчета 1% инокулята от массы модельной системы.

Модельные системы подвергали ионизационному облучению интенсивностью в 0 - 3,0 - 5,0 - 7,0 - 10 кГр. Интенсивность облучения контролировали с помощью пленочных детекторов. Далее определяли количество остаточной и начальной микрофлоры в облученных и контрольных образцах.

Исследования проводили согласно действующей нормативной документации по определению количества мезофильно-аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов ГОСТ 10444.15-95. Для повышения точности полученных экспериментальных данных использовалась

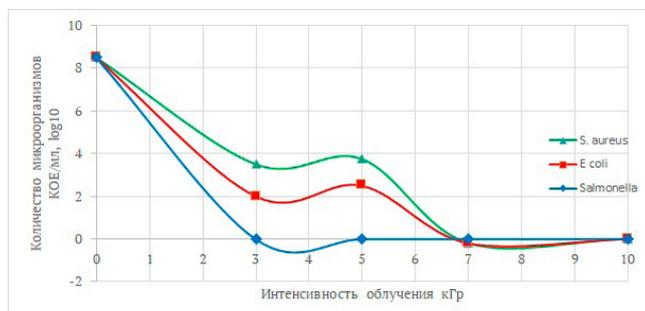


Рисунок 2. Динамика ингибирования роста микроорганизмов на жидкой питательной среде при облучении образцов в вертикальном положении с различной интенсивностью облучения.

методика, в которой каждый исследуемый образец делился на две части, после чего подготавливали серию разведений и производили глубинный посев на твердую среду.

## Результаты

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием программы «Statistica». Достоверность различий сравниваемых групп составляет 0,05%.

Результаты эксперимента выявили зависимость устойчивости изучаемых штаммов микроорганизмов от дозы ионизационного облучения. Исследования показали, что наиболее устойчивыми к ионизационному облучению являются штамм *Salmonella* и *E. coli*, меньше устойчив штамм микроорганизмов *S. aureus*.

## Обсуждение

Зависимость количества микроорганизмов от дозы облучения носит немонотонный, полимодальный характер (Рисунки 2-5). При обработке тест культур ионизационным облучением от 4 до 5 кГр наблюдается увеличение роста микроорганизмов для всех видов культур и только затем их ингибирование. При увеличении доз облучения свыше 5 кГр уровень возникающих клеточных радиационных повреждений будет превышать возможности снижения их защитными механизмами клетки, и кривые доза-эффект будут соответствовать обычной линейной или квадратично-линейной функции. Снижение количества клеток при облучении до 4 кГр можно

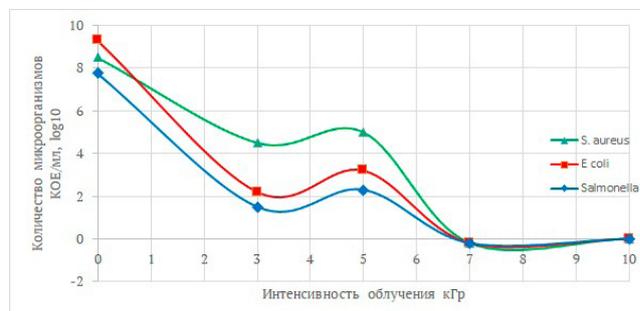
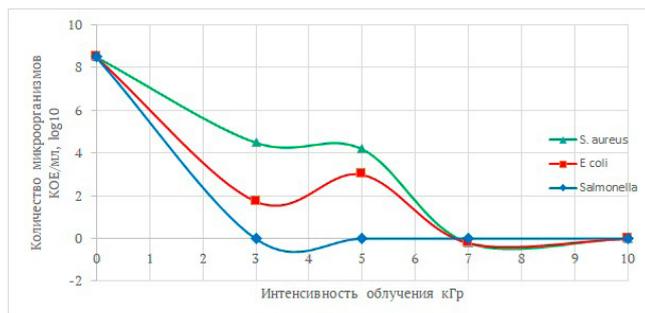


Рисунок 3. Динамика ингибирования роста микроорганизмов в плотной питательной среде при облучении образцов в вертикальном положении с различной интенсивностью облучения.



**Рисунок 4.** Динамика ингибирования роста микроорганизмов в жидкой питательной среде при облучении образцов в горизонтальном положении с различной интенсивностью облучения.

объяснить тем, что при низких дозах, сравнимых с уровнем естественной радиации, степень повреждения ДНК микроорганизмов слишком мала, чтобы активизировать адекватный уровень ферментативной репарации.

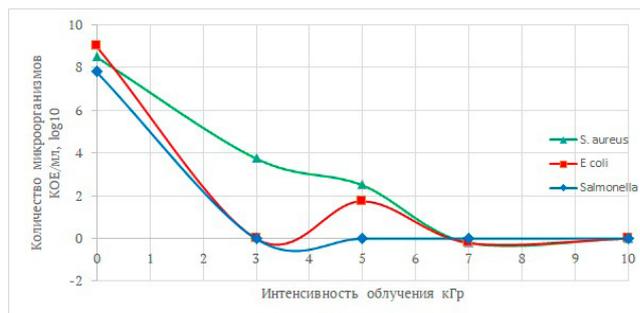
## Заключение

Результаты исследований показали зависимость устойчивости изучаемых штаммов микроорганизмов от дозы ионизационного облучения. Исследования показали, что наиболее устойчивыми к ионизационному облучению являются штаммы Salmonella и E. coli, меньше устойчив штамм микроорганизмов S. aureus. Зависимость количества микроорганизмов от дозы облучения носит немонокотный, полимодальный характер (Рисунки 2-5) – при обработке тест культур ионизационным облучением от 4 до 5 кГр наблюдается увеличение роста микроорганизмов для всех видов культур и только затем их ингибирование.

## Литература

### Статьи из журналов и сборников

- Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 1. С. 26-33.
- Гельфанд С.Ю., Завьялов М.А., Петров А.Н., Прокопенко А.В., Филиппович В.П. Современные аспекты радиационной обработки пищевых продуктов // Хранение и переработка сельхозсырья. 2013. № 2. С. 25-27.
- Кузин А.М. Идеи радиационного гормезиса в



**Рисунок 5.** Динамика ингибирования роста микроорганизмов в плотной питательной среде при облучении образцов в горизонтальном положении с различной интенсивностью облучения.

атомном веке. М.: Наука, 1995. 158 с.

- 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.
- Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
- Kauffman J.M. Radiation hormesis: demonstrated, deconstructed, denied, dismissed, and some implications for public policy // Journal of Scientific Exploration. 2003. Vol. 17. № 3. P. 389-407.
- Kume T. et al. Quantity and Economic Scale of Food irradiation in the world // Food Irradiation. 2008. Vol. 43. № 1-2. P. 46-54.
- Miteva D., Dimov K., Nacheva I., Todorov Y., Doneva M., Metodieva P., Tsvetkov T. Modern technological approaches for ensuring of harmless and quality fruits // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2014. Vol. 20. № 2. P. 243-245.
- Pollycove M., Feinendegen L.E. Radiation-induced versus endogenous DNA damage: Possible effect of inducible protective responses in mitigating endogenous damage // Human and Experimental Toxicology. 2003. Vol. 22. № 6. P. 290-306.

### Монографии и сборники

- Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Под общ. ред. Козьмина Г.В., Гераськина С.А., Санжаровой Н.И. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2015. 400 с.
- Метлицкий Л.В., Рогачев В.И., Хрущев В.Г. Радиационное облучение пищевых продуктов. М.: Экономика, 1967. 159 с.
- Bryazgin A.A., Marcov N.V. Radiation technologies: view from Russia. M.: Radtech Association, 2015. 68 p.

**Авторефераты**

Павлов А.Н. Исследование радиологических показателей эффективности экспериментально-производственного процесса радиационной обработки сельскохозяйственной продукции растительного происхождения: автореферат. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2016. 11 с.

**Статьи в материалах конференций.**

Козьмин Г.В., Санжарова Н.И., Кибина И.И., Павлов А.Н., Тихонов В.Н. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности // Достижения науки и техники АПК. 2015. Т. 29. № 5. С. 87-92.

# Ensuring the Microbiological Safety of Food Products with The Use of Ionization Radiation

**Elena D. Goryacheva**

*Moscow State University of Food Production  
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation  
E-mail: goryachevaed@mgupp.ru*

**Anastasiya Yu. Kolokolova**

*All-Russia Research Institute of Preservation Technology  
78, Shkolnaya, Vidnoe, Moscow region, 142703, Russian Federation  
E-mail: aykolokolova@yandex.ru*

**Natalia V. Ilyukhina**

*All-Russia Research Institute of Preservation Technology  
78, Shkolnaya, Vidnoe, Moscow region, 142703, Russian Federation  
E-mail: inv63@mail.ru*

The work is devoted to substantiation of the possibility of using ionizing radiation in the food industry in order to reduce the microbiological contamination of agricultural and food products in the process of use and long-term storage. The purpose of these studies is to justify the possibility of radiation exposure in the food industry. In the study on the effectiveness of oppression used the following strains of microorganisms: *Escherichia coli* ATSS derived from the strain of VCM in 114191, *Staphylococcus aureus* ATSS 25923 (f-49)2 derived from the strain VKM201189 and *Salmonella enterica* subspecies. *Enterica* serovar *Typhimurium* ATCC 140283. Irradiation was carried out at the welw accelerator-10-10-S-70 center for collective use of physical methods of research in the "Institute of physical chemistry and electrochemistry. A. N. Frumkin of the Russian Academy of Sciences". The results showed the dependence of the stability of the studied strains of microorganisms. Studies have shown that the most resistant to ionization radiation is the strain of *Salmonella* and *E. coli*, less resistant strain of *S. aureus* microorganisms. The dependence of the number of microorganisms on the dose of irradiation is non – monotonic, polymodal in nature-when processing the test of cultures with ionization irradiation from 4 to 5 kg, an increase in the growth of microorganisms for all processing conditions is observed, and only then their inhibition. With an increase in radiation doses of more than 5 kGy, the level of cell radiation damage will exceed the possibility of reducing their protective mechanisms of the cell and the dose-effect curves will correspond to the usual linear or quadratic-linear function. The decrease in the number of cells exposed to 4 kGy can be explained by the fact that at low doses, comparable to the level of natural radiation, the degree of damage to the DNA of microorganisms is too small to activate an adequate level of enzymatic repair.

**Keywords:** Ionization treatment, electron accelerator, *Salmonella*, *E. coli*, *S. aureus*

## References

- Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Zhizhina G.P., Konradov A.A. *Novye aspekty zakonornostej dejstviya nizkointensivnogo oblucheniya v malyh dozah* [New aspects of regularities in the action of low-intensity radiation in small doses] // *Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya*. 1999. T. 39. № 1. S. 26-33.
- Gelfand S.Yu., Zavyalov M.A., Petrov A.N., Prokopenko A.V., Filippovich V.P. *Sovremennye aspekty radiacionnoj obrabotki pishchevyyh produktov* [Modern aspects of radiation treatment of food products] // *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya*. 2013. № 2. S. 25.
- Kuzin A.M. *Idei radiacionnogo gormezisa v atomnom veke* [Ideas of radiation hormesis in the atomic age]. M.: Nauka, 1995. 158 s.
- Chizh T.V., Kozmin G.V., Polyakova L.P., Melnikova T.V. *Radiacionnaya obrabotka kak tekhnologicheskij priem v celyah povysheniya urovnya prodovolstvennoj bezopasnosti* [Radiation treatment as a technological method to improve food security] // *Vestnik Rossijskoj Akademii Estestvennyh Nauk*. 2011. № 4. S. 44-49.
- Kauffman J.M. *Radiation hormesis: demonstrated, deconstructed, denied, dismissed, and some*

- implications for public policy // Journal of Scientific Exploration. 2003. Vol. 17. № 3. P. 389-407.
- Kume T. et al. Quantity and Economic Scale of Food irradiation in the world // Food irradiation. 2008. Vol. 43. № 1-2. P. 46-54.
- Miteva D., Dimov K., Nacheva I., Todorov Y., Doneva M., Metodieva P., Tsvetkov T. Modern technological approaches for ensuring of harmless and quality fruits // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2014. Vol. 20. № 2. P. 243-245.
- Pollycove M., Feinendegen L.E. Radiation-induced versus endogenous DNA damage: Possible effect of inducible protective responses in mitigating endogenous damage // Human and Experimental Toxicology. 2003. Vol. 22. № 6. P. 290-306.
- Radiacionnye tekhnologii v selskom hozyajstve i pishchevoj promyshlennosti [Radiation technologies in agriculture and food industry] // Pod obshch. red. Kozmina G.V., Geraskina S.A., Sanzharovoj N.I. Obninsk: VNIIRAEH, 2015. 400 s.
- Metlickij L.V., Rogachev V.I., Hrushchev V.G. Radiacionnoe obluchenie pishchevyh produktov [Radiation exposure of food products]. M.: Ekonomika, 1967. 159 s.
- Bryazgin A.A., Marcov N.V. Radiation technologies: view from Russia. M.: Radtech Association, 2015. 68 p.
- Pavlov A.N. Issledovanie radiologicheskikh pokazatelej ehffektivnosti ehksperimentalno-proizvodstvennogo processa radiacionnoj obrabotki selskohozyajstvennoj produkcii rastitelnogo proiskhozhdeniya [Research of radiological indicators of efficiency of experimental and production process of radiation treatment of agricultural products of plant origin]: avtoreferat. Obninsk: VNIIRAEH, 2016. 11 s.
- Kozmin G.V., Sanzharova N.I., Kibina I.I., Pavlov A.N., Tihonov V.N. Radiacionnye tekhnologii v sel'skom hozyajstve i pishchevoj promyshlennosti [Radiation technologies in agriculture and food industry] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2015. T. 29. № 5. S. 87-92.