

# ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАБОТЫ ПРИБОРА FRESH AIR И ГЕНЕРАТОРА ОЗОНА BREEZE АТ КОМПАНИИ ECOQUEST В СНИЖЕНИИ ЖИЗНеспОСОБНОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПОВЕРХНОСТЯХ ИЗ НЕРЖАВЕЮЩЕЙ СТАЛИ

М.Т. Ортега, Л.Д. Франклен, П.Р. Хатесол, Д.Л. Марсден

Кафедра зоотехнии и промышленного животноводства Институт науки о продуктах питания штата Канзас Университет штата Канзас, Манхэттен, KS 66506

## Краткий обзор и выводы

Исследование проведено с целью выяснения эффективности использования матрицы RCI - радиально-катализической ионизации - в приборе Fresh Air компании EcoQuest для инактивации (лишение жизнеспособности) следующих болезнетворных микроорганизмов: *Escherichia coli* (Кишечная палочка), *Listeria monocytogenes* (Листериоз), *Streptococcus* spp. (Стрептококки), *Pseudomonas aureuginos* (Синегнойная палочка), *Bacillus* spp. (Сибирская язва), *Staphylococcus aureus* (бактерия Золотистый стафилококк), *Candida albicans* (Кандидоз) и *S. chartarum* на поверхностях из нержавеющей стали.

Исследование состояло из серии опытов с различным временем воздействия RCI на вышеуказанные микроорганизмы, помещенные в камеру для проведения испытаний с контролируемым потоком воздуха.

Кроме того, в аналогичных экспериментальных условиях дополнительно была выполнена оценка работы озонового генератора Breeze AT компании EcoQuest для выяснения эффективности его воздействия (инактивации) на *Candida albicans* (Кандидоз) и *S. chartarum*.

В настоящее время все осознают необходимость использования более совершенных технологий для дезинфекции контактных поверхностей на предприятиях, где ведется переработка и выпуск пищевых продуктов, с целью предотвращения вспышек пищевых инфекций, которые вызываются указанными выше болезнетворными микроорганизмами. Лишь недавно было одобрено использование технологий с генерацией озона для обработки поверхностей, соприкасающихся с продуктами питания. В этом исследовании оценивается эффективность применения газообразного озона и других газов с окислительными свойствами с целью сокращения популяций перечисленных выше микроорганизмов на поверхностях из нержавеющей стали.

Использование обеих технологий было крайне эффективным (результатами гибели микроорганизмов составили, по крайней мере, 90 % после 24-часового воздействия). Эффективность технологии RCI - радиально-катализической ионизации прибора Fresh Air производства компании EcoQuest была выше, по сравнению с работой озонового генератора Breeze AT производства той же компании.

## Введение

Пищевая промышленность и промышленность безалкогольных напитков, преследуя цель выпуска безопасной и полезной продукции, сталкиваются с рядом трудностей.

Патогенные формы микроорганизмов, вызывающие пищевые инфекции, такие как *E.Coli*0157:H7, *Listeria monocytogenes* и *Salmonella* spp уже в течение нескольких лет являются предметом растущего беспокойства производителей.

Производителей также волнуют вопросы, связанные с контролем микроорганизмов, вызывающих порчу. Такие микробы значительно сокращают сроки хранения пищевых продуктов и приносят компаниям миллионные убытки. К производствам,

которые страдают от этих патогенных форм микроорганизмов, можно отнести предприятия мясной промышленности, производителей морепродуктов, птицы, производства пекарной, консервной, молочной промышленности, а также многие другие производства на рынке продуктов питания.

Министерство сельского хозяйства США оценивает ущерб, понесенный страной от болезней, возникших в результате заражения людей пищевыми инфекциями, вызванных болезнетворными микроорганизмами в продуктах питания, в сумму от 5.5 до 22 миллиардов американских долларов ежегодно. Эта цифра не включает миллиарды долларов, которые теряются в результате порчи пищевых продуктов, которые после этого должны быть либо выброшены, либо проданы со скидкой. Почти в каждой сфере пищевой промышленности существует острая необходимость внедрения усовершенствованных мер по дезинфекции поверхностей и контролю патогенных микроорганизмов.

Озон, являясь газом с дезинфицирующими свойствами, обладает огромной способностью к окислению различных веществ. Он действует в тысячи раз быстрее хлора и очищает воду в 3 - 4 раза эффективней. В процессе окисления какого-либо вещества озон буквально уничтожает его молекулу. Озон способен окислять различные органические формы, такие, как бактерии, плесень, он эффективно стерилизует воздух и удаляет из него различные неприятные запахи и ядовитые газы. Уже в течение многих лет озон успешно применяется в промышленности для различных целей, например, для удаления неприятных запахов, очищения воды и в качестве дезинфицирующего вещества (Морк, 1993). Недавнее решение правительства о санкционировании использования озона для обработки продуктов и рабочих поверхностей на производстве открыло двери, ведущие к заманчивым перспективам для этой технологии. В июне 2001 года Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов в США (FDA) одобрило использование озона в качестве дезинфицирующего средства для обработки производственных рабочих поверхностей, где есть контакт с пищевыми продуктами. Кроме того, было получено разрешение на прямую обработку пищевых продуктов озоном.

До того, как это произошло, в пищевой промышленности в качестве дезинфицирующего средства чаще всего использовался хлор. Озон является лучшим выбором для дезинфицирующей обработки поверхностей в сравнении с хлором. Хлор, являясь галогенным химикатом, агрессивно воздействует на поверхности из нержавеющей стали и других металлов, из которых обычно сделано оборудование для переработки и изготовления пищевых продуктов. Кроме того, хлор представляет собой значительную опасность для здоровья рабочих пищевых производств. Вступая в реакцию даже с небольшим количеством чистящего средства на основе аммиака или кислоты, хлор может привести к образованию ядовитого для человека газа.

Хлор является широко используемым в производстве

мясных изделий и полуфабрикатов дезинфицирующим веществом, достаточно эффективным и безопасным, когда выдерживаются рекомендованные пропорции. Однако, он значительно уступает озону по своим дезинфицирующим свойствам. Кроме того, его использование может привести к образованию хлороформа, тетрахлорида углерода, хлористого метила и три-галоидметана.

Озон, в отличие от этого, во время окислительной реакции не образует опасные побочные продукты. Еще одним преимуществом в использовании озона в качестве дезинфицирующего вещества является то, что продукт после такой обработки может называться "органическим" или натуральным (изготовлен без обработки химикалиями). Чтобы получить право называться таким, "органическое" дезинфицирующее вещество должно быть зарегистрировано в Агентстве по охране окружающей среды США (EPA). Озон прошел такую регистрацию в данном Агентстве и был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов в США (FDA) для использования в качестве дезинфицирующего вещества для обработки производственных рабочих поверхностей, где есть контакт с пищевыми продуктами, и прямой обработки пищевых продуктов.

Озон, используемый в последние годы на производствах по переработке и изготовлению пищевых продуктов, нашел применение не только в качестве дезинфицирующего вещества для контактных рабочих поверхностей. В недавней рекомендации, данной Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов в США (FDA), говорится о том, что "Озон является веществом, которое может сократить численность болезнетворных микроорганизмов, включая патогенные штаммы *Escherichia coli* (Кишечная палочка) и *Cryptosporidium* (Криптоспоридия) в соках. Озон также рекомендуется использовать в качестве пищевой добавки, которая не представляет опасности для здоровья человека и может быть использована в качестве противомикробного вещества во время обработки, хранения и переработки определенных продуктов питания в условиях применения, описанных в 21 CFR 173.368 (Свод федеральных правил)".

## **ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### **Приготовление культур**

**В исследовании были использованы следующие виды культур бактерий и грибков:**

***Bacillus globigii* (ATCC # 31028, 49822,49760);**

***Staphylococcus aureus* (ATCC # 10832D, 25178, 11987);**

***Candida albicans* (ATCC # 96108, 96114, 96351);**

***Stachybotrys chartarum* (ATCC # 18843, 26303, 9182);**

***Pseudomonas aureuginosa* (ATCC # 12121, 23315, 260);**

***Escherichia coli* (ATCC # 27214, 19110, 67053);**

***Streptococcus pneumoniae* (ATCC # 27945, 29514, 10782);**

***Staphylococcus aureus*, устойчивый к метициллину штамм (ATCC # 33591).**

\*ATCC#... - номер в Американской коллекции типовых культур.

Культуры были получены с учетом рекомендаций ATCC (биоресурсный центр с Американской коллекцией типовых культур).

Штаммы бактерий, дрожжей и плесени индивидуально выращивались на соевом бульоне TSB (trippticase soy broth) и YB (на основе дрожжей) бульоне (Difco Laboratories) до середины фазы среднего экспоненциального роста, после чего следовало промывание и ресуспендривание (повторное получение суспензии) в 0,1% растворе пептонной воды.

### **Подготовка образцов и обработка их озоном**

Данные виды микроорганизмов, использованные для оценки эффективности воздействия озонных генераторов, были представлены в исследованиях в виде микробного коктейля, который засевался на 8 пластинках из нержавеющей стали размером 6,3 x 1,8 см (суммарная площадь обеих сторон составляла 17,64 см<sup>2</sup>). Четыре пластинки из нержавеющей стали одновременно погружались в микробный посевной материал (инокулум) и проворачивались в нем в течение 15 секунд для обеспечения равномерного распределения микробов по пластинке. После этого, чтобы пластины хорошо обсохли, они подвешивались при помощи стерильного зажима на 1 час к охладительной решетке, находящейся в шкафчике с ламинарным потоком воздуха. Первоначальные данные о численности микробной популяции, находящейся на данных пластинах, колебались в пределах от 5 до 8 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup> [CFU/cm<sup>2</sup>]. Затем пластины с засеянной микробной популяцией помещались в камеру для проведения испытаний с контролируемым воздушным потоком (специальная камера, воссоздающая различные условия окружающей среды - Terra Universal, Анахайм, штат Калифорния [Anaheim, CA]) при температуре 26°C и 46% относительной влажности. Это создавало благоприятные условия для роста и размножения популяций микробов. В этой камере пластины с заселенными на них болезнесторными микроорганизмами подвергались воздействию матрицы RCI - радиально-каталитической ионизации - производства компании EcoQuest. В данном исследовании изучался эффект такого воздействия на микроорганизмы в течение разных промежутков времени, а именно: начальная стадия (0 часов), спустя 2, 6 и 24 часа. Кроме того, отдельно было изучено воздействие на микроорганизмы озонового генератора Breeze AT компании EcoQuest. Как и в предыдущем исследовании, оценивался эффект воздействия по истечении разных периодов времени: спустя 2, 6 и 24 часа. Во время данных исследований велось постоянное наблюдение за уровнем генерируемого озона (при помощи прибора Model 500, Aeroqual производства Новой Зеландии).

### **Работа с образцами по окончании эксперимента**

По истечении времени исследования, в процессе которого пластины с засеянными на них патогенными микроорганизмами подвергались воздействию озона, эти пластины погружали в 30 мл 0,1% раствора пептонной воды на 30 секунд, где их хорошо проворачивали в разные стороны. После этого данные образцы, засеянные на пластинах разными микробными культурами, были разжижены и помещены на соевый agar tripticase - растительный студень - (TSA, Difco Laboratories). Затем, образцы помещались на 24 часа в термостат, где была выставлена температура 35°C. Затем следовало дальнейшее разжижение образцов в несколько раз. После этого образцы с засеянной на них культурой дрожжей высевались в чашку с картофельным агаром с декстрозой (PDA, Difco Laboratories), а образцы с засеянной на них культурой плесени высевались в чашку с кукурузной мукой. И те, и другие чашки помещались в термостат с выставленной температурой 30°C на 5 дней. После такого выращивания микроорганизмов велся подсчет популяций, выраженный в КОЕ на 1 кв. см. (колониеобразующая единица [англ.эквивалент КОЕ - CFU]).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлена картина снижения численности микробных популяций, высеваемых на 8 пластинах из нержавеющей стали, подвергшихся воздействию RCI-технологии (радиально-катализитической ионизации). Обработка озоном данных микробных популяций (уровень озона составлял 0.02 миллиона доли) в течение 2 часов сократила численность популяций, по крайней мере, на величину  $0.7 \log_{10}$  КОЕ/см<sup>2</sup>. Результатом более длительного времени воздействия явилось более значительное сокращение численности микробной популяции с максимальным значением сокращения, достигнутым по прошествии 24 часов обработки озоном. Спустя 24 часа воздействия, средние значения сокращения микробных популяций были следующими по каждому из микроорганизмов, участвующих в эксперименте:

**Staphylococcus aureus (1,85 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**Escherichia coli (1, 81 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**Bacillus spp. ( 2,38 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**Staphylococcus aureus metr (2,98 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**Streptococcus spp. (1,64 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**P. aeruginosa (2,0 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**L. monocytogenes (2,75 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**Candida albicans (3,22 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>);**  
**Stachybotrys chartarum (3,32 log<sub>10</sub> КОЕ/см<sup>2</sup>).**

Результаты сокращения численности популяции микробов, подвергшихся воздействию озонового генератора Breeze AT компании EcoQuest, представлены на рис. 2.

Спустя 2 и 6 часов такого воздействия в популяции микробов наблюдалось сокращение численности, равные, по крайней мере,  $0,2 \log_{10}$  КОЕ/см<sup>2</sup> и  $0,4 \log_{10}$  КОЕ/см<sup>2</sup> соответственно.

После 24 часов такой обработки озоном среднее сокращение численности популяции микробов для *Candida Ibisicans* и *Stachybotrys chartarum* составило  $1,48 \log_{10}$  КОЕ/см<sup>2</sup> и  $1,32 \log_{10}$  КОЕ/см<sup>2</sup> соответственно.

Таким образом, можно сделать выводы, что в результа-

те воздействия работы приборов компании EcoQuest Radiant Catalytic Ionization (Active Pure) Cell и Breeze AT Ozone generator, уже спустя 2 часа наблюдалось существенное сокращение численности популяций патогенных микробов, а при более длительном времени воздействия это сокращение достигало максимальных значений.

Технология Radiant Catalytic Ionization (Active Pure) Cell показала более эффективные результаты по сокращению микробных популяций в экспериментах, дляящихся 2 и 6 часов, в сравнении с результатами, полученными в аналогичных опытах с Breeze AT Ozone generator.

Данное исследование наглядно продемонстрировало, что газообразный озон обладает значительным потенциалом, чтобы быть использованным в качестве эффективного дезинфицирующего средства на предприятиях по переработке и изготовлению пищевых продуктов. В настоящее время продолжается серия экспериментов. Целью второй фазы данного научного проекта, который планируется завершить к концу этого года, является оценка эффективности системы для устранения воздушного загрязнения. В исследовании планируется использовать такие же виды микроорганизмов и окислительные технологии.

## ССЫЛКИ

Mork D.D. 1993. *Removing sulfide with ozone* (Удаление сульфидов при помощи озона). Глава "Загрязнение и очистка воды", стр. 34-37.

## Публикация

Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов в США [FDA], 2004. Рекомендации производителям яблочного сока или сидра по использованию озона в целях сокращения патогенной флоры. Публикация доступна заинтересованным лицам на веб-ресурсе: <http://www.cfsan.fda.gov/dms/juicgu13.html>.

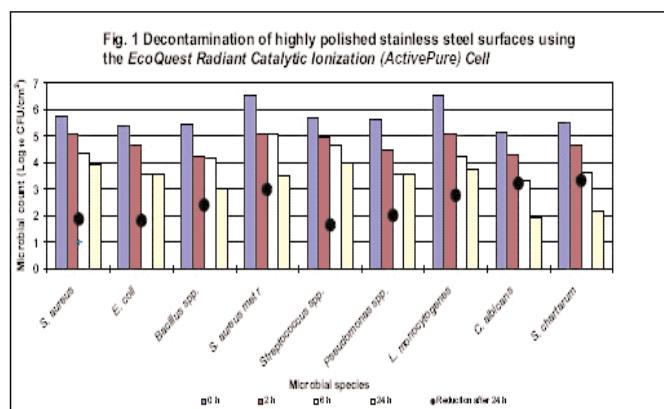


Рис. 1. Результаты работы прибора Active Pure (RCI - технология)

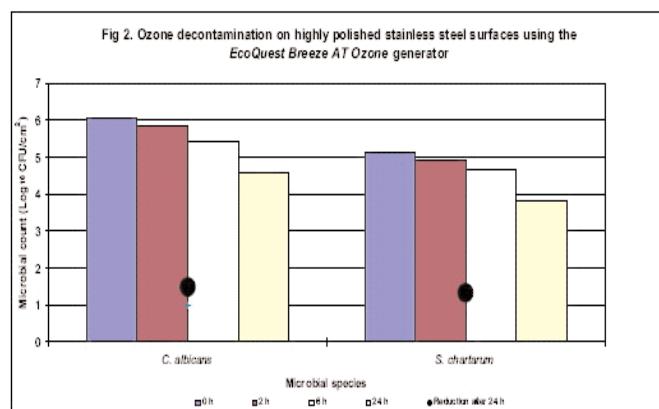


Рис. 2. Результаты работы озонового генератора Breeze AT