

**Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
(ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)**



Заместитель директора
по научной работе
ВНИИМС – филиала ФГБНУ
«ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН

Е.В. Топникова

« _____ » 2023 г.

**О Т Ч Е Т
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ**

**по договору на выполнение научно-исследовательских работ
от «29» августа 2023 г. «Оценка потенциала промышленного применения
приборов молекулярной очистки и обеззараживания воздуха на
основе пористых стеклянных носителях в молочной промышленности
и на производствах сыроделия»**

Руководитель темы:
руководитель
экспериментальной биофабрики,
к.т.н.

 Н.П. Сорокина

Углич 2023

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель экспериментальной биофабрики, к.т.н, руководитель

Н.П. Сорокина
04.12.2013

Н.П. Сорокина
(планирование, общий анализ и обобщение данных, оформление отчета)

Младший научный сотрудник, исполнитель

К.А. Смагина
07.12.2013

К.А. Смагина
(планирование, проведение и анализ данных исследований с бактериофагами)

Зав. лабораторией контроля качества, исполнитель

Т.В. Кожевникова
07.12.13

Т.В. Кожевникова
(планирование, проведение и анализ данных исследований с заквасочной микрофлорой, дрожжами и плесенями)

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	8
1. Методы дезинфекции воздушной среды в производственных помещениях	8
2. Цель работы	10
3. Организация работы	10
4. Результаты и обсуждения.....	14
4.1. Изучение эффективности уничтожения сухих молочнокислых бактерий	14
4.2. Изучение эффективности уничтожения бактериофагов молочнокислых бактерий	16
4.3. Изучение эффективности уничтожения дрожжей.....	18
4.4. Изучение эффективности уничтожения сухой культуры плесени <i>Penicillium requeforti</i>	20
ВЫВОДЫ.....	21
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	23

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Санитарное состояние воздуха производственных помещений молокоперерабатывающих предприятий имеет важное значение для обеспечения качества и безопасности молочных продуктов, а также оказывает существенное влияние на сроки годности готовой продукции. «Грязный» воздух является источником распространения посторонних микроорганизмов и бактериофагов и обсеменения ими молочных продуктов.

Чистый воздух – среда, не поддерживающая размножение микроорганизмов; это определяется отсутствием питательных веществ и недостатком влаги. При этом, в воздухе более выражено бактерицидное действие солнечных лучей УФ-спектра. Жизнеспособность микроорганизмов в воздухе обеспечивают взвешенные частицы воды, слизи, пыли и фрагментов почвы. В настоящее время общепринятой является точка зрения о том, что микроорганизмы в воздухе замкнутых помещений находятся в виде бактериального аэрозоля – коллоидной системы, состоящей из газообразной среды (воздуха), в которой находятся мельчайшие капельки жидкости или частицы твердого вещества, с заключенными в них микроорганизмами [1].

В местах скопления людей основное количество опасных микроорганизмов поступает в воздух от человека и продуктов его жизнедеятельности. Патогенные микроорганизмы выбрасываются в воздух вместе со средой, в которой они находятся. Например, человек может при разговоре выделить в окружающую среду до 800 частиц в минуту, а при однократном чихании – в среднем до 40000 [1]. Это справедливо и в отношении патогенных микроорганизмов, попадающих в воздух от больных людей. В производственных помещениях молочных предприятий различные микроорганизмы попадают в воздух не только от работающего персонала, но также из перерабатываемого сырья, материалов и молочных продуктов, особенно из сухих продуктов, сыров, созревающих с участием микрофлорой сырной слизи и плесневых грибов.

Нарушение показателей микроклимата в производственных помещениях, связанное с повышенной влажностью воздуха, высокой температурой в цехах, недостаточной эффективностью приточно-вытяжной вентиляции, приводит к росту дрожжей и плесеней на потолках и стенах помещений, которые впоследствии могут попадать в молочные продукты.

В молочной промышленности при изготовлении ферментированных молочных продуктов, технология которых основана на процессах размножения заквасочной микрофлоры, нередко встречается торможение молочнокислого брожения, основной причиной которого являются бактериофаги [2, 3, 4, 5]. К настоящему времени накоплен большой объём знаний о взаимодействиях бактериофагов с бактерией-хозяином, благодаря использованию генетических методов исследований. Стало понятно, что воздействие фаговой инфекции на молочнокислые бактерии, возможно, никогда не удастся полностью исключить [3, 6, 7].

Первоисточником фагов на молочном предприятии является сырое молоко, в котором всегда присутствуют молочнокислые бактерии и, соответственно, бактериофаги. Температурные режимы пастеризации молока, особенно в сыроделии, не всегда приводят к гибели всей популяции фагов, часть которой остаётся в пастеризованном молоке. К наиболее опасным источникам фагов относится сыворотка, в которой к концу технологического цикла выработки молочной продукции накапливается значительное число фаговых частиц [2, 3, 7]. В производственных условиях фаги могут переходить в состояние аэрозольных частиц в результате слива сыворотки, открывания производственных емкостей, движения воздуха и персонала. Большую проблему составляет распространение по воздуху бактериофагов, особенно на сыродельных и творожных производствах, на которых при сливе сыворотки происходит попадание в воздух мелкодисперсных частиц сыворотки, содержащей миллионы и даже миллиарды фаговых частиц в 1 мл. Обсеменение молока бактериофагами приводит к поражению заквасочной микрофлоры и

торможению молочнокислого брожения и, как следствие, к снижению качества и безопасности ферментированных молочных продуктов [2, 3, 5].

В соответствии с «Методическими рекомендациями по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов) МР 2.3.2.2327-08 осуществляется санитарно-гигиенический контроль всех производственных участков. Чистоту воздуха на молочных предприятиях контролируют седиментационным методом по двум микробиологическим показателям – общему микробному числу бактерий и наличию дрожжей и плесеней. Например, если общее количество колоний, выросших на чашках Петри с питательной средой КМАФАнМ при оседании в течение 5 мин, не превышает 70 КОЕ, количество дрожжей и плесневых грибов не превышает 5 КОЕ, то санитарное состояние воздуха оценивают как «хорошее». К предприятиям, выпускающим продукцию с длительным сроком хранения, устанавливаются более жесткие требования.

Контроль воздуха на наличие бактериофагов молочнокислых бактерий не является обязательным. Кроме этого, для определения бактериофагов требуется не только питательная среда, но и индикаторные культуры, чувствительные к большому количеству фагов, а работы с посевами бактериофагов следует проводить при строгом выполнении требований, аналогичные для микроорганизмов 3-4 группы патогенности с целью предотвращения распространения бактериофагов из лаборатории, а проводивший работу микробиолог не должен посещать заквасочное отделение и производственные цеха.

Для обеспечения возможности осуществления определения наличия бактериофагов в различных производственных объектах ВНИИМС выпускает набор специально подобранных фагочувствительных тест-культур «Фаготест». Набор включает три индикаторные тест-культуры по одному штамму видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. В нём отсутствует индикаторная культура термофильного стрептококка, бактериофаги к которым получают всё более

широкое распространение на молочных заводах. При этом, применение всего трёх фагочувствительных индикаторных культур не даёт полной гарантии, что использованная культура оказалась доступной в качестве хозяина для всех циркулирующих на предприятии типов фагов и что все они будут выявлены. Поэтому может быть сделан ложный вывод об отсутствии бактериофагов в воздушной среде положительная оценка. В связи с этим на предприятиях отсутствует контроль обсеменённости воздуха бактериофагами несмотря на то, что фаговое поражение молочнокислых бактерий представляет серьёзную угрозу качеству и безопасности ферментированных молочных продуктов и сыров и, нередко приводит к экономическим потерям.

Таким образом, вполне очевидно, что внедрение новых способов и приборов обеззараживания воздуха на молочных предприятиях является актуальным и перспективным.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Методы дезинфекции воздушной среды в производственных помещениях

В целях улучшения санитарного состояния воздушной среды в производственных помещениях молокоперерабатывающих предприятий и исключения попадания посторонних и патогенных микроорганизмов и бактериофагов из воздуха в продукты используются следующие методы:

- приточно-вытяжная система;
- ультрафиолетовая обработка воздуха с помощью бактерицидных ламп открытого и закрытого типа;
- аэрозольная обработка с применением различных дезинфицирующих средств.

Производственные и лабораторные помещения молочной промышленности должна быть оснащены приточно-вытяжной вентиляцией. При очистке воздуха в той или иной степени происходит и его обеззараживание. Физическое удаление микроорганизмов из помещения с помощью вентиляции является одним из методов очистки и обеззараживания воздуха в помещении. Но вентиляция не обеспечивает быстрой и полной очистки воздуха.

Инактивация микроорганизмов УФ-излучением давно является общепризнанным физическим методом с высокой эффективностью [1, 4, 8]. Для обеззараживания УФ-излучением часто применяют открытые облучатели, поскольку эффективность использования бактерицидного потока ультрафиолетового излучения лампы в этом случае наиболее высокая. В настоящее время для обеззараживания воздуха и поверхностей наблюдается тенденция применения все более мощных УФ-облучателей, обеспечивающих высокие дозы излучения за короткое время обработки. Уф-обработку воздуха открытыми излучателями нельзя проводить в присутствии людей. Лучи не проникают в пространство под оборудование, поэтому не весь объём воздуха подвергается дезинфекции. Для обеззараживания воздуха с помощью УФ-

установок закрытого типа (рециркуляторов) требуется значительное время и полного уничтожения микроорганизмов не наблюдается.

Довольно широко распространен химический способ обеззараживания воздуха с использованием генераторов холодного, горячего туманов и турбоциклонов. Но, несмотря на высокую эффективность с точки зрения безопасности применения, данный способ аэрозольной дезинфекции не регламентирован органами Роспотребнадзора для предприятий молочной промышленности. Особым свойством аэрозоля является то, что его капли имеют столь малый размер, что дезинфектант легко проникает во все скрытые уголки помещения, попадает в вентиляционные системы, осаждаются на потолках, стенах и недоступных поверхностях технологического оборудования. Но при этом способе санации воздуха в помещении должен отсутствовать производственный персонал, а работник, который проводит дезинфекцию, должен быть обеспечен средствами защиты органов дыхания, зрения и кожи. Кроме этого, после такой обработки требуется финишная мойка [10].

Новый подход к решению проблемы очистки воздуха дало открытие фотокаталитического метода. Сущность метода состоит в окислении токсичных примесей и микроорганизмов на поверхности фотокатализатора под действием ультрафиолетового излучения. Реакция протекает при комнатной температуре и при этом токсичные примеси не накапливаются на фильтре, а разрушаются до безвредных компонентов чистого воздуха. В процессах очистки воздуха от органических примесей в качестве фотокатализатора используют исключительно TiO_2 . На сегодняшний день показано, что на поверхности TiO_2 могут быть окислены практически любые органические соединения до углекислого газа и воды, следовательно, использование приборов на основе этого метода разрушения органических соединений, в т.ч. различных микроорганизмов является весьма эффективным [1]. Фото-каталитические приборы могут работать в присутствии людей, они довольно широко используются в медицинских учреждениях. Установлена эффективность таких приборов для уничтожения различных патогенных микроорганизмов, что позволяет пони-

зять вероятность возникновения и распространения внутрибольничных инфекций [12]. Фотокаталитическая обработка воздушной среды успешно применяется в ветеринарной практике [13].

В доступных источниках научно-технической литературы отсутствует информация об эффективности обработки воздушной среды фотокаталитическими обеззараживателями в отношении бактериофагов лактококков, микрофлоры сухих бактериальных заквасок, а также плесневых грибов, используемых для изготовления сыров. При изготовлении сыров, созревающих с участием плесеней, воздушная среда камер созревания и соседних помещений обсеменяется спорами плесеней и для предотвращения обсеменения спорами плесеней воздушной среды и другой выпускаемой молочной продукции требуются эффективные способы очистки воздуха от этих микроорганизмов.

2 Цель научно-исследовательской работы

Целью работы является определение эффективности очистки воздуха от бактериофагов лактококков, молочнокислых бактерий из сухих бактериальных заквасок, дрожжей и плесневых грибов с помощью фотокаталитического обеззараживателя воздуха на пористых стеклянных носителях производительностью до 1000 м³/ч (далее очиститель воздуха) и оценка его промышленного применения в молочной промышленности и на производствах сыроделия

3 Организация работы

3.1 Схема проведения исследований

Схема проведения исследований включает следующие виды работ:

- предварительная и промежуточная санитарно-гигиеническая обработка помещения с аэрозольной дезинфекцией воздуха гипохлоритом натрия и УФ-облучением;
- культивирование 10 бактериофагов, отделение вирионов на вакуумной фильтровальной установке, составление коктейля фагов;
- накопление клеток дрожжей;

- распыление бактериофагов, определение их количества в воздухе после распыления, обработка воздушной среды помещения очистителем воздуха в соответствии с рекомендациями заказчика, определение количества бактериофагов после обработки воздуха;

- распыление дрожжей, определение их количества в воздухе после распыления, обработка воздушной среды помещения очистителем воздуха в соответствии с рекомендациями заказчика, определение количества дрожжей после обработки воздуха;

- распыление сухой плесени, определение их количества в воздухе после распыления, обработка воздушной среды помещения очистителем воздуха в соответствии с рекомендациями заказчика, определение количества плесеней после обработки воздуха;

- обработка воздушной среды помещения очистителем воздуха в соответствии с рекомендациями заказчика в боксе после фасовки бактериальных концентратов, контроль содержания клеток молочнокислых бактерий до и после обработки;

- расчёт эффективности обеззараживания воздуха.

3.2 Материалы и методы

Работу по проверке эффективности очистителя воздуха в отношении бактериофагов, дрожжей и плесеней проводили в отдельном помещении площадью 19 кв. м и объемом 47,5 куб. м. Определение эффективности прибора в отношении молочнокислых бактерий проводили в фасовочном боксе объемом 44,4 куб. м, в котором проводилась фасовка бактериальных концентрированных заквасок.

Прибор установили в фасовочном боксе на расстоянии не менее 200 мм от стены, в отдельном помещении по центру комнаты (не напротив входной двери). Окно и дверь в помещение в процессе обработки воздуха были плотно закрыты. В связи с отсутствием в инструкции по эксплуатации прибора указаний по подбору мощности работы вентиляторов, работа по обеззаражи-

ванию воздуха осуществлялась по рекомендации представителя заказчика на второй скорости вентиляторов.

Исследования по определению содержания бактерий, дрожжей и плесневых грибов в воздушной среде помещений проводили в соответствии с методическими рекомендациями МР 2.3.2.2327-08 «Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов)» (в редакции 2015 г.) седиментационным методом с повышенной до 15 минут экспозицией чашек Петри с питательной средой и с помощью устройства автоматического отбора проб биологических аэрозолей воздуха ПУ-1Б в 50 и 100 литрах воздуха после распыления и в процессе работы прибора через определённые промежутки времени. Использовались питательные среды для определения КМАФАнМ, дрожжей и плесеней, полужидкий и твердый агар с гидролизованым молоком.

Для определения эффективности прибора в отношении дрожжей коллекционные дрожжи вида *Candida lipolitica* культивировали на скошенном агаре, затем смывали стерильным физиологическим раствором, из смыва готовили взвесь дрожжей в стерильном физиологическом растворе. Исследования в отношении плесневых грибов проводили с использованием сухой плесени *Penicillium raqueforti*, предназначенной для использования при изготовлении сыров с голубой плесенью.

Для определения эффективности прибора в отношении бактериофагов использовалась смесь 10 бактериофагов лактококков из коллекции Экспериментальной биофабрики ВНИИМС, в том числе: 3 бактериофага, лизирующих *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; 3 бактериофага, лизирующих *L. lactis* subsp. *cremoris*; 4 бактериофага, лизирующих *L. lactis* subsp. *diacetylactis*.

Смесь бактериофагов лактококков готовили следующим образом: для накопления вирионов каждый штамм бактериофага вносили в пробирки с (4-6)-часовой бульонной индикаторной культурой, инкубировали в течение 16-20 ч при температуре (30±1) °С. Затем отделяли бактериофаги путём

фильтрации на вакуумной фильтрационной установке с использованием мембранного фильтра с размером пор не более 0,2 мкм. Из равных объёмов полученных фаголизатов составляли смесь бактериофагов.

Взвеси бактериофагов и дрожжей в физиологическом растворе распыляли с помощью установки для получения холодного тумана. Сухую плесень распыляли, поднося навеску на стерильной бумаге к вентилятору в струю воздуха.

Количество вирионов определяли с использованием метода двухслойного агара. Для этого в 3 см³ полужидкого питательного агара с температурой 42-45 °С вносили по 1 см³ индикаторной культуры в фазе логарифмического роста и тщательно перемешивали. Затем выливали смесь на чашку Петри с подсушенной плотной питательной средой КМАФАнМ. Чашки с подготовленными газонами индикаторной культуры использовали для определения количества вирионов. Чашки с посевами культивировали при температуре (30±1) °С в течение 24 ч. Учет результатов проводили, подсчитывая количество прозрачных негативных колоний на мутном фоне газона индикаторной культуры (НКОЕ).

В фасовочном боксе после завершения фасовки бактериальных заквасок определили количество молочнокислых бактерий в воздухе, затем включили прибор и оставили его работающим на 6 суток, в том числе 2 выходных дня. Определяли количество молочнокислых бактерий через 6 и 24 часа, после этого ещё дважды проводили фасовку (всего 3 цикла фасовки в данном боксе).

Работа проводилась в трёхкратной повторности по каждому виду микроорганизмов.

Оценка эффективности уничтожения микроорганизмов в воздухе:

Оценку эффективности уничтожения микроорганизмов в воздухе, выраженную в процентах, рассчитывали по формуле:

$$X=100 - \frac{K_n}{K} \times 100, \text{ где}$$

X – эффективность обеззараживания, %;

K_n – количество колониеобразующих единиц в процессе работы очистителя воздуха, КОЕ (НКОЕ);

K – исходное количество колониеобразующих единиц, КОЕ (НКОЕ).

4 Результаты и обсуждения

4.1 Изучение эффективности уничтожения сухих молочнокислых бактерий

Результаты определения эффективности уничтожения молочнокислых бактерий, попадающих в воздух из сухих бактериальных заквасок при их фасовании, в воздушной среде фасовочного бокса с помощью очистителя воздуха представлены в таблице 1.

В связи с проведением исследований в процессе реальной производственной фасовки бактериальных заквасок не представлялось возможным создать одинаковую исходную запылённость во всех трёх повторностях. Поэтому эффективность обеззараживания рассчитывали для каждой повторности отдельно.

Таблица 1 – Эффективность обеззараживания воздуха фасовочного бокса

Метод	Количество микроорганизмов, КОЕ			Эффективность обеззараживания, %	
	После фасовки	Через 6 ч	Через 24 ч	Через 6 ч	Через 24 ч
Первый день					
Седиментация	90	10	4	88,89	95,56
Аспирация	6500	1500	10	76,92	99,84
Второй день					
Седиментация	25	1	1	96,00	96,00
Аспирация	1300	320	30	75,38	97,69
Третий день					
Седиментация	62	3	1	95,16	98,38
Аспирация	2640	270	40	89,77	98,48
Шестой день с перерывом в работе в выходные дни				Эффективность, %	
Седиментация	1			98,38	
Аспирация	10			99,62	

При работе с сухими культурами более точным считается аспирационный метод определения микроорганизмов в воздухе, так как прибор отбора проб воздуха прокачивает точно заданный объём. Свободное естественное оседание сухих взвешенных частиц происходит с разной скоростью из-за различного размера и веса этих частиц, который у бактериальных заквасок нерегламентирован, а плотность бакмассы и характер ее размола у разных партий и видов заквасок различаются.

Учитывая высокую исходную концентрацию бактерий в воздухе после фасовки, полученные данные свидетельствуют о высокой степени обеззараживания воздуха через 24 часа обработки очистителем воздуха от 97,69 % до 99,84 %. Остаточное количество микроорганизмов в воздухе составляло всего 10 – 40 КОЕ в 1 куб. м воздуха. Меньшая эффективность обеззараживания воздушной среды установлена через 6 ч обработки от 75,38 % до 89,70 %. При этом седиментационным методом обнаруживалось от 1 до 10 КОЕ на чашке Петри через 6 часа и от 1 до 4 КОЕ через 24 часа после фасовки за 15 минут экспозиции чашек, что позволяет положительно оценить чистоту воздуха в соответствии с показателями методических рекомендаций МР 2.3.2.2327-08 (менее 70 КОЕ за 5 минут экспозиции).

Следует подчеркнуть, что в дни проведения испытаний приточно-вытяжную вентиляцию не включали. Вероятно, что увеличение мощности вентилятора очистителя и/или совместное использование прибора и приточно-вытяжной вентиляции может обеспечить ещё более высокую эффективность дезинфекции воздуха.

Использование данного очистителя может быть рекомендовано в лабораториях и заквасочных отделениях молочных предприятий и биофабрик, где производится вскрытие упаковок, заквашивание молока и другие виды работ с сухими бактериальными заквасками, микрофлора которых неизбежно попадает в воздух.

4.2 Изучение эффективности уничтожения бактериофагов молочнокислых бактерий

Сухой порошок бактериальных заквасок имеет низкий удельный вес и долгое время находится в воздушной среде во взвешенном состоянии. Это подтверждается и данными, представленными в таблице 1. В частности, за 15 минут на поверхность агара в чашке Петри после фасовки сухих заквасок оседало от 25 до 90 КОЕ, в то время как в 1 куб. м воздуха находились тысячи микроорганизмов.

В случае с мелкодисперсным распылением водных растворов в виде холодного тумана оседание взвешенных капелек воды происходит быстрее в силу их большего веса, при этом размер капель имеет существенные различия: по данным ФГУН НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора водные аэрозоли в виде тумана имеют размеры частиц от 2,0 до 35 мкм [10].

Для объективной оценки эффективности обеззараживания воздуха перед проведением санации очистителем была проведена оценка скорости осаждения взвеси бактериофагов естественным путём и с созданием принудительного движения воздуха с помощью вентилятора, которое в определённой степени предотвращало оседание капель на пол. Оценку осаждения взвеси водного раствора бактериофагов (уменьшение их количества в воздухе) проводили более точным аспирационным методом, а также определяли количество бактериофагов в смывах с 10 см² поверхности пола в трёх разных точках.

Результаты, представленные в таблице 2, показали, что большая часть капель аэрозоля водного раствора бактериофагов осела естественным образом в течение одного часа, в воздушной среде осталось лишь 15,73 % от исходного содержания, а через 6 ч фаговые частицы в воздухе не были обнаружены, что согласуется с данными других исследователей [10]. При создании принудительного движения воздуха скорость оседания замедлилась: через 1 час в 4 раза по сравнению с естественным процессом, через 3 часа в воздухе оставалось взвешенным 35,96 % частиц, а через 6 часов 16,81 % частиц.

Исходя из полученных данных было принято решение провести исследования эффективности обеззараживания воздушной среды от бактериофагов при принудительном движении воздуха за счёт работы вентилятора. С учётом того, что часть фагов оседает даже при принудительном движении воздуха для расчёта эффективности уничтожения фаговых частиц за исходную концентрацию фагов в воздухе принимали количество, исходя из остающейся их доли первоначальной концентрации, зафиксированной после распыления для конкретного времени эксперимента.

Таблица 2 – Осаждение аэрозоля бактериофагов

Время, ч	Количество фаговых частиц, НКОЕ/м ³			
	естественное осаждение		принудительное движение воздуха	
	значение	% от исходного	значение	% от исходного
0	3260 ± 170	100	3407 ± 223	100
1	513 ± 33	15,73	2153 ± 196	63,19
3	13 ± 3	0,40	1125 ± 107	35,96
6	Не обнаружено	0	573 ± 43	16,81

Определение количества бактериофагов в смывах пола через 6 часов выявило в среднем по трём повторностям и трём точкам в каждой повторности 7,9 НКОЕ в смыве с 10 см². Учитывая площадь помещения (19 м²) на пол осело 150,1 тысяч НКОЕ, а расчётное количество распылённых частиц фагов составило: 3260 НКОЕ/м³ × 47,5 м³ = 154,85 тыс. НКОЕ. То есть практически все фаги осели на пол. Единичные фаговые частицы были обнаружены в смывах со стен.

При проведении исследований на наличие фаговых вирионов в воздушной среде при принудительном движении воздуха, результаты которых представлены в таблице 3, установлена высокая эффективность фотокаталитической обработки в отношении бактериофагов лактококков: эффективность обеззараживания через 1 ч обработки составила 98,15 %, через 3 ча-

са возросла до 99,49 %, а через 6 часов бактериофаги не были обнаружены в воздухе, что свидетельствует об их полном уничтожении.

Таблица 3 – Эффективность уничтожения бактериофагов

Время, ч	Количество фагов, НКOE/м ³		Эффективность обеззараживания, %
	обнаруженное	исходное - принятое для расчёта эффективности	
0	3620 ± 308	-	-
1	42,3 ± 5,2	2287,5	98,15
3	6,7 ± 3,3	1301,8	99,49
6	Не обнаружены	608,5	100 %

Полученные данные позволяют считать фото-каталитический способ обеззараживания воздуха от бактериофагов лактококков эффективным, а использование технологии очистки и обеззараживания воздуха на пористых стеклянных носителях перспективной для применения в лабораториях и заквасочных отделениях молокоперерабатывающих предприятий. Обработка заквасочного отделения перед заквашиванием в течение 3 часов позволит уничтожить бактериофаги практически полностью, а при более длительной обработке при условии соблюдения работниками правил приготовления производственной закваски полное обеззараживание воздуха

Однако это не позволяет сделать однозначный вывод о перспективах использования данного очистителя в промышленных условиях изготовления сыров и творога, что обусловлено условиями проведения исследований с однократным распылением бактериофагов в воздухе помещения, а в производственных условиях происходит постоянное дополнительное обсеменение воздуха бактериофагами в процессе выработки продукции. Следовательно, представляется целесообразным проведение испытаний эффективности фото-каталитического устройства в промышленных условиях при изготовлении сыров и творога.

4.3 Изучение эффективности уничтожения дрожжей

Для изучения степени инактивации дрожжей в воздухе в воздухе помещения распыляли взвесь дрожжей в стерильной воде и обработку воздуха с помощью очистителя воздуха осуществляли с принудительным движением воздуха для предотвращения быстрого. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 4. При расчёте эффективности для аспирационного метода было принято, что осаждение капель воды происходила с той же скоростью, что и при распылении бактериофагов (через 1 час в воздухе оставалось 63,19 %, а через 6 часов 35,96 % от исходного количества дрожжей).

Таблица 4 – Эффективность обеззараживания воздуха от дрожжей

Время, ч	Седиментация		Аспирация, КОЕ/м ³	
	Количество дрожжей, КОЕ за 15 мин	Эффективность обеззараживания, %	Количество дрожжей, КОЕ/м ³	Эффективность обеззараживания, %
0	427 ± 22	-	1853 ± 81,2	-
1	1,7 ± 0,3	99,60	33,3 ± 8,3	97,16
6	Не обнаружены	100	6,7 ± 3,3	98,99

Анализируя данные по инактивации дрожжей в воздухе, полученные методом седиментации, уже через 1 час обработки воздуха можно оценить чистоту воздуха «хорошо» в соответствии с МР 2.3.2.2327-08 (менее 70 КОЕ за 5 минут экспозиции). Использование аспирационного метода подсчёта количества микроорганизмов также показало, что через 1 час воздух отвечает требованиям МР 2.3.2.2327-08, поскольку в воздухе было обнаружено в среднем 33,3 КОЕ/м³.

Исходя из полученных данных, следует отметить высокую эффективность уничтожения дрожжей в воздухе с помощью очистителя воздуха на основе фотокаталитической технологии с применением пористых стеклянных носителей в условиях проведения эксперимента.

4.4 Изучение эффективности уничтожения сухой культуры плесени *Penicillium requeforti*

Результаты исследования эффективности уничтожения спор плесени *Penicillium requeforti* для изготовления сыров после распыления сухого порошка с принудительным движением воздуха, представлены в таблице 5. В связи с тем, что опыты проводили с использованием сухой плесени, которая длительно не оседает, для расчёта эффективности дезинфекции использовали исходное количество плесеней, полученное в результате посева.

Таблица 5 – Эффективность обеззараживания воздуха от плесени

Время, ч	Седиментация		Аспирация, КОЕ/м ³	
	Количество плесеней, КОЕ за 15 мин	Эффективность обеззараживания, %	Количество плесеней, КОЕ/м ³	Эффективность обеззараживания, %
0	267,7 ± 27,3	-	2926 ± 317	-
1	20,3 ± 2,8	92,42	166,7 ± 16,7	94,30
6	5,3 ± 0,8	98,02	66,7 ± 3,3	97,72
24	1,7 ± 0,3	99,36	53,3 ± 3,3	98,17

Полученные данные указывают на высокую эффективность фотокаталитической обработки воздуха в отношении плесневых грибов *Penicillium requeforti*, использующихся при изготовлении сыров. Уже через один час работы прибора количество плесеней в воздухе снизилось в 13,2 раза по данным седиментационного метода и в 17,6 раз по данным аспирационного метода посева. Через 6 часов в воздухе остались единичные споры по результатам седиментационного метода и десятки спор по результатам аспирационного метода и эффективность обеззараживания составила 98,02 % и 97,72 % соответственно.

Необходимо отметить, что в связи с низким удельным весом распылённого порошка плесени единичные споры плесеней обнаруживались через 24 часа обработки седиментационным методом и десятки спор аспирационным методом.

В целом, по нашему мнению, сравнение результатов анализа обсеменённости воздушной среды двумя методами посева показывает, что аспирационный метод является более точным и информативным как случае с сухими культурами, которые медленно оседают на поверхность чашки Петри, так и в случае с анализом аэрозолей, которые оседают быстро. Для более объективной оценки степени чистоты воздуха и оценки эффективности различных методов очистки и дезинфекции воздушной среды следует использовать аспирационный метод анализа.

Выводы

На основании анализа полученных данных об эффективности уничтожения в воздухе сухих заквасочных микроорганизмов, дрожжей, спор плесени *Penicillium requeforti*, а также бактериофагов лактококков можно сделать следующие выводы:

1. Установлена высокая степень обеззараживания воздуха от заквасочных микроорганизмов, которая через 24 часа обработки очистителем воздуха от 97,69 % до 99,84 % при высокой исходной концентрации бактерий в воздухе после фасовки. Остаточное количество микроорганизмов в воздухе составляло всего 10 – 40 КОЕ в 1 куб. м воздуха, что позволяет считать помещение чистым;

2. При аэрозольном распылении водных растворов бактериофагов большая часть капель аэрозоля водного раствора бактериофагов 84,27 % оседает естественным образом в течение одного часа, через 6 ч все фаговые частицы осели на пол и в воздухе не были обнаружены;

3. Установлена высокая эффективность фото-каталитической обработки в отношении бактериофагов лактококков: эффективность обеззараживания через 1 ч обработки составила 98,15 %, через 3 часа возросла до 99,49 %, а через 6 часов бактериофаги не были обнаружены в воздухе, что свидетельствует об их полном уничтожении;

4. Показана высокая эффективность уничтожения дрожжей в воздухе с помощью фотокаталитического очистителя обеззараживателя воздуха на основе пористых стеклянных носителей в условиях проведения эксперимента; через 1 час обработки в воздухе было обнаружено в среднем 33,3 КОЕ/м³, а эффективность обеззараживания составила 97,16%

5. Эффективность обеззараживания воздуха от спор плесневых грибов *Penicillium requeforti*, используемых при изготовлении сыров, составила через 6 часов обработки 98,02 % и 97,72 % при анализе методом седиментации и аспирации соответственно; через один час работы прибора количество плесеней в воздухе снизилось в 13,2 раза по данным седиментационного метода и в 17,6 раз по данным аспирационного метода посева.

6. Использование фотокаталитического метода очистки и обеззараживания воздуха на пористых стеклянных носителях следует считать перспективным для применения в лабораториях и заквасочных отделениях молокоперерабатывающих предприятий для дезинфекции воздуха с целью инактивации бактериофагов, а также молочнокислых бактерий, попадающих в воздушную среду при заквашивании производственной закваски сухими бактериальными заквасками.

7. На основании полученных данных невозможно сделать однозначный вывод о перспективах использования метода фотокаталитической очистки и обеззараживания воздуха для уничтожения бактериофагов, плесеней и дрожжей в промышленных условиях изготовления сыров и творога. Это обусловлено тем, что в производственных помещениях происходит постоянное дополнительное обсеменение воздуха бактериофагами, плесенями и дрожжами в процессе выработки продукции, осуществляется движение продукции и персонала. Следовательно, представляется целесообразным проведение испытаний эффективности фото-каталитического устройства в промышленных условиях при изготовлении сыров и творога, а также в заквасочных отделениях при приготовлении производственных заквасок.

Список использованных источников

1. Василяк, Л. М. Физические методы дезинфекции / Л.М. Василяк // Успехи прикладной физики, 2018, том 6, № 1. С. 5-17.
2. Гудков, А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / А.В. Гудков. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 800 с.
3. Сыр. Научные основы и технологии / под ред. П.Л. МакСуини, П.Ф. Фокса, П.Д. Коттера, Д.У. Эвертта. – СПб.: Профессия, 2019. Т. 1. – 554 с.
4. Atamer, Z. Screening for and characterization of *Lactococcus lactis* bacteriophages with high thermal resistance / Z.Atamer. [et. al] // Int. Dairy J. – 2009. – Vol.19. – P. 228-235.
5. Marcó, M. B. Bacteriophages and dairy fermentations / M.B. Marcó, S.Moineau, A.Quiberoni // Bacteriophage. 2012. Vol. 2, iss. 3. P. 149–158.
6. Ганина, В. И. Критически опасное количество фагов в биотехнологии кисломолочной продукции / В.И. Ганина // Молочная промышленность. – 2022. – № 3. – С. 13-15.
7. Ганина, В.И. Молочная сыворотка как источник бактериофагов / В.И. Ганина [и др.] // Молочная промышленность. – 2018. – № 11. – С. 59-61.
8. Ультрафиолетовые технологии в современном мире / под ред. Ф. В. Кармазинов, С. В. Костюченко, Н. Н. Кудрявцев, С. В. Храменков. – Долгопрудный: Издательский дом «Интеллект», 2012. – с.
9. Вассерман, А.Л., Шандала М. Г., Юзбашев В. Г. Ультрафиолетовое излучение в профилактике инфекционных заболеваний. – М: Медицина, 2003. – 326 с.
10. Маневич, Б.В. Об использовании аэрозольной дезинфекции на предприятиях молочной промышленности // Переработка молока. – 2010. – № 4. – С. 20-22.
11. Фотокатализ: Вопросы терминологии. Фотокаталитическое преобразование солнечной энергии. – Новосибирск: Наука, 1991. – С. 7–17.

12. Мясникова, Е.Б. Оценка методов фотокатализа и фотоплазмы для снижения контаминации воздуха / Е.Б. Мясникова [и др.] // Медицинский альянс. – 2016. – № 2. – С. 35-39.

13. Паршин, П.А. Санитарно-микробиологическая характеристика воздуха инкубатора и эффективность фотокатализа для его дезинфекции / П.А. Паршин [и др.] // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017. – № 1 (21). – С. 23-27.