

На правах рукописи

МАЛИНИНА ЗИНАИДА ЮРЬЕВНА

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ
АНТИБИОТИКОВ В МОЛОКЕ И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ**

Специальность 05.02.23 – Стандартизация и управление
качеством продукции

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва – 2013

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии).

Научный руководитель: доктор технических наук, доцент
Макеева Ирина Андреевна

Официальные оппоненты: **Панкина Галина Владимировна**, доктор технических наук, профессор, ФГАОУ ДПО «Академия стандартизации, метрологии и сертификации (учебная)», ректор

Шепелева Елена Васильевна, кандидат технических наук, доцент, ООО «Евразийская экспертная группа», заместитель генерального директора

Ведущая организация: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии)

Защита диссертации состоится «18 » апреля 2013 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета ДМ 006.021.01 при Государственном научном учреждении Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова Российской академии сельскохозяйственных наук по адресу 109316, Москва, ул. Талалихина, д. 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии.

Автореферат разослан « 14 » марта 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат технических наук,
старший научный сотрудник

А.Н. Захаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

В период образования Таможенного союза и вступления России в ВТО производство качественных конкурентоспособных продуктов, отвечающих жестким требованиям безопасности, является первостепенной задачей производителей пищевых продуктов.

Интенсивное применение антибиотиков в качестве профилактических и ростостимулирующих средств и нарушение сроков браковки молока после лечения животных являются причинами того, что получаемое сырое молоко нередко содержит остаточные количества этих препаратов, что приводит к:

- систематическому поступлению антибиотиков в организм человека с молочными продуктами, вызывая аллергические реакции, расстройства пищеварительной системы, дисбактериоз, развитие резистентности к лекарственным препаратам и пр.;

- нарушению технологического процесса переработки молока (производство сыров и кисломолочных продуктов);

- экономическому ущербу молокоперерабатывающих предприятий;

- затруднениям при проведении бактериологических исследований.

По данным Международной молочной федерации (IDF) контроль антибиотиков целесообразно осуществлять на всех основных этапах жизненного цикла молочной продукции.

Указанные вопросы широко обсуждаются ведущими специалистами по управлению качеством и учеными пищевых отраслей: Дунченко Н.И., Кальницкой О.И., Макеевой И.А., Панкиной Г.В., Рожковой И.В., Семенихиной В.Ф., Чернухой И.М., Шепелевой Е.В. и многими другими.

Таким образом, в настоящее время научное исследование, направленное на совершенствование процедуры контроля антибиотиков в молоке, является актуальным.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории стандартизации, метрологии и патентно-лицензионных работ ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии в рамках деятельности технического комитета по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность». Результаты по теме диссертации получены в ходе выполнения работ со следующими организациями: ООО «Хр.Хансен» (Договор № 38/09 от 01.07.2009 г., № 246/09 от 01.09.2009 г., № Е 109/14/11 от 01.11.2011 г.), ООО «Фармаблок» (Договор № 252/09 от 01.01.2009 г.), ООО «ДСМ Восточная Европа» (Договор № 47-09 от 15.09.2009 г.), ООО «СЭЙФИД» (Договор № Е 109/13/11 от 10.12.2011 г.).

Целью работы является повышение эффективности процедуры контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах путем разработки и внедрения системы многоступенчатой проверки молочного сырья для их производства.

Задачи исследования:

1. Провести аналитический обзор литературы по вопросам применения антибиотиков в сельском хозяйстве, методам их измерений и способам снижения количества антибиотиков в молоке.

2. Проанализировать законодательную и нормативную базу в части нормирования и контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах.

3. Осуществить мониторинг наличия антибиотиков в молоке в условиях промышленного предприятия. Дифференцировать причины контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками. Обосновать точки контроля антибиотиков.

4. Систематизировать существующие методы измерений антибиотиков в молоке и провести сопоставительный анализ методик на их основе. Обосновать целесообразность применения конкретных методов для каждой точки контроля.

5. Разработать процедуру подтверждения метрологических характеристик качественных методик измерений антибиотиков, реализуемых с помощью тест-наборов.

6. Провести комплексный анализ тест-наборов и разработать порядок выбора тест-набора для каждой точки контроля.

7. Разработать систему многоступенчатого контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах.

Научная новизна:

– проведена дифференциация причин контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками с применением причинно-следственной диаграммы;

– разработана математическая модель оценки факторов контаминации молока и молочных продуктов с использованием древовидной схемы;

– научно обоснованы точки контроля антибиотиков с учетом рассчитанных коэффициентов весомости;

– обоснована целесообразность комплексного использования микробиологического, иммуноферментного и физико-химического методов для контроля сырого молока и молочных продуктов на выбранных точках контроля.

Практическая значимость:

– разработана система документов в части контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах, действующих на территории РФ;

– спроектирована процедура подтверждения метрологических характеристик (чувствительности) качественных методик измерений антибиотиков, реализуемых с помощью тест-наборов (СТО 00419785-015-2011);

– разработаны анкета и шкала экспертной оценки для выявления уровня значимости показателей, характеризующих тест-наборы;

– спроектирован порядок их выбора для каждой из точек контроля антибиотиков в молоке с учетом результатов комплексного анализа тест-наборов;

– разработана система многоступенчатого контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах. Внедрение процедуры (СТО 00419785-013-2010) на ООО «Кампина» позволило снизить долю забракованных проб сырого молока на этапе приемки с 18 % до 0,5 %;

– проведена систематизация качественных методов определения антибиотиков в молоке и молочных продуктах (ГОСТ Р 51600-2010, ГОСТ Р 53774-2010) и их актуализация (Изменение № 1 ГОСТ Р 51600 и Изменение № 1 ГОСТ Р 53774).

Апробация работы. Основные положения работы доложены и представлены на Международной научной конференции «Экологически безопасные ресурсосберегающие технологии и средства переработки сельскохозяйственного сырья и производства продуктов питания» (Москва, 2009); 3-й, 5-й и 6-й конференциях молодых ученых и специалистов институтов Отделения хранения и переработки сельскохозяйственной продукции Россельхозакадемии (Москва, 2009, 2011; Видное, 2012); Всероссийской научно-практической конференции «Перспективные направления развития молочной отрасли России в современных условиях» (Адлер, 2011); Первом Международном конгрессе «Экологическая, продовольственная и медицинская безопасность человечества» (Москва, 2011); Международной научно-практической конференции «Повышение конкурентоспособности отечественных продуктов сыроделия и маслоделия» (Углич, 2012) и на Международной научно-практической конференции «Пути интенсификации производства и переработки сельскохозяйственной продукции в современных условиях» (Волгоград, 2012).

За научно-исследовательские работы «Анализ современных отечественных и зарубежных методов определения антибиотиков в кисломолочных продуктах» и «Разработка системы многоступенчатого контроля антибиотиков на этапах типового жизненного цикла молочной продукции» в рамках конкурса «Эстафета поколений» среди молодых ученых ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии получены дипломы в номинации «Лучшая аналитическая работа» – II место (2009 г.) и I степень (2012 г.) соответственно.

«За разработку и внедрение методологии развития нормативной базы стандартизации в молочной отрасли» в числе авторского коллектива награждена Дипломом и Серебряной медалью отраслевого конкурса XIV Российской агропромышленной выставки «Золотая осень – 2012» (Москва, 2012).

Публикации. По материалам диссертации опубликована 21 печатная работа, 5 из них в журнале «Молочная промышленность», рекомендованном ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, выводов, библиографического списка, содержащего 170 наименований, и 5 приложений. Основное содержание работы изложено на 130 страницах, включает 17 таблиц и 22 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, показаны ее научная новизна, практическая значимость. Сформулированы цель и задачи исследований.

В первой главе представлен анализ научно-технической литературы, в котором рассмотрено применение антибиотиков в сельском хозяйстве, методы их измерений и способы снижения количества антибиотиков в молоке.

Во второй главе изложены методические подходы к выполнению исследований; представлена схема организации работ (рис. 1).



Рисунок 1 – Схема организации работ

Приведены используемые методы: экспертный метод, метод последовательного сравнения, система весовых коэффициентов Фишберна для определения показателей весомости причин контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками. А также приведены используемые основные инструменты качества: «мозговая атака», древовидная схема, причинно-следственная диаграмма с применением мнемонического приема 6М (материал (material), оборудование (machine), измерение (measurement), метод (method), люди (man) и менеджмент (management)).

Объектами исследования являлись: методики измерений антибиотиков в молоке на основе микробиологического, биохимического и физико-химического методов, тест-наборы для определения наличия антибиотиков (Delvotest SP-NT, Delvotest T, Delvotest BLF, Kalidos MP, Velox, Бета-лактам Snap, Бета-лактам Snap CT, Тетрациклин Snap, Дуо Бета-Тетра Snap, Дуо Бета-Тетра Snap CT, Eclipse 3G, Milk Doctor Beta, Milk Doctor Tetra, BRT Inhibitor Test, Beta Star, Tetra Star, Betastar Combo, Betastar Combo HS, Twinsensor^{BT}, 4sensor^{BTCS}); законодательные документы, нормативные правовые акты, документы в области стандартизации; цельное сырое молоко по ГОСТ Р 52054.

В третьей главе на основании разработанной системы документов в части контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах (рис. 2) представлены данные по изменению требований к антибиотикам за последние пять лет (табл. 1).

Таблица 1 – Анализ изменения допустимых уровней антибиотиков в сыром молоке и молочных продуктах

Наименование антибиотика	Допустимый уровень					
	СанПиН 2.3.2.1078	ТР № 88-ФЗ	ТР № 163-ФЗ	Единые требования	Изменения в Единые требования № 341	Изменения в Единые требования № 622
	до 12.12.2008	12.12.2008 – 21.06.2010	с 21.06.2010	28.05.2010 – 07.04.2011	17.08.2010 – 07.04.2011	с 07.04.2011
Пенициллин	< 0,01 мкг/г	Не допуск.	< 0,01 ед/г	< 0,01 ед/г	< 0,004 мг/кг	< 0,004 мг/кг
Тетрациклиновая группа	< 0,01 мкг/г	Не допуск.	< 0,01 ед/г	< 0,01 ед/г	< 0,01 мг/кг	< 0,01 мг/кг
Стрептомицин	< 0,5 мкг/г	Не допуск.	< 0,5 ед/г	< 0,5 ед/г	< 0,5 мг/кг	< 0,2 мг/кг
Левомецетин (хлорамфеникол)	< 0,01 мкг/г	Не допуск.	< 0,01 ед/г	< 0,01 ед/г	< 0,01 мг/кг	< 0,01 мг/кг (< 0,0003 мг/кг с 01.01.2012 г.)
Примечание – приведены данные следующих документов: – СанПиН 2.3.2.1078 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов – Федеральный закон №88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию» с изм. от 22.07.2010 №163-ФЗ – «Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» Таможенного союза (Решение Комиссии таможенного союза от 28.05.2010 г. №299 с изм. от 17.08.2010 г. №341, от 07.04.2011 г. №622)						

Из приведенных данных видно, что в документах Таможенного союза требования в части антибиотиков ужесточились. Это свидетельствует о необходимости применения и разработки усовершенствованных методик измерений.

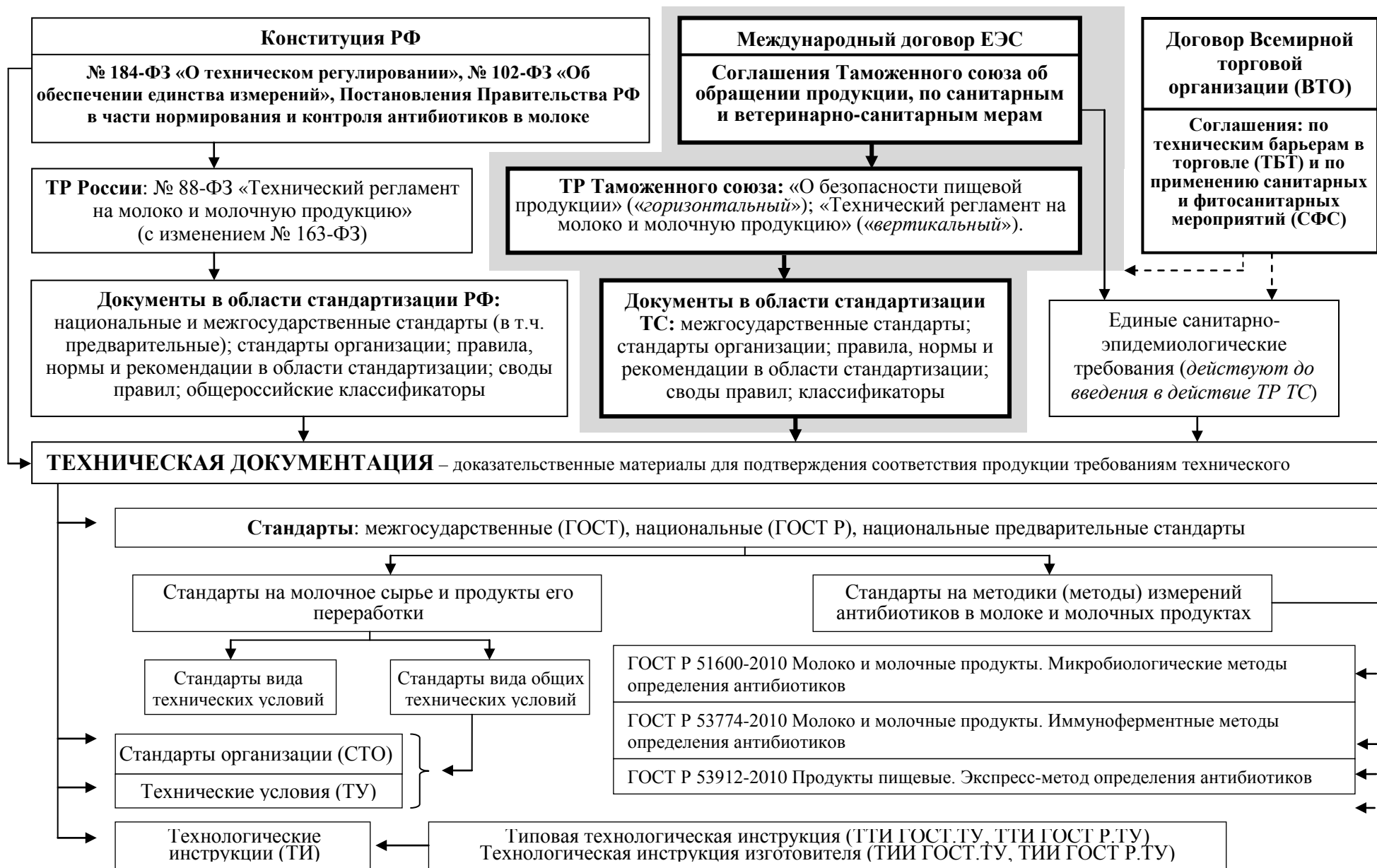


Рисунок 2 – Система документов в части контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах, действующих на территории РФ

За период с января по декабрь 2010 г. нами было проведено изучение наличия антибиотиков в сыром молоке на этапе приемки на молокоперерабатывающем предприятии. Испытанию подверглись 10 192 пробы от 5 096 партий сырого молока. Отбор проб проводили в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53430.

Установлено, что антибиотики в сыром молоке присутствуют в течение всего года, доля забракованных проб находится в диапазоне от 17,74 % до 18,45 % и также не зависит от сезона (рис. 3).

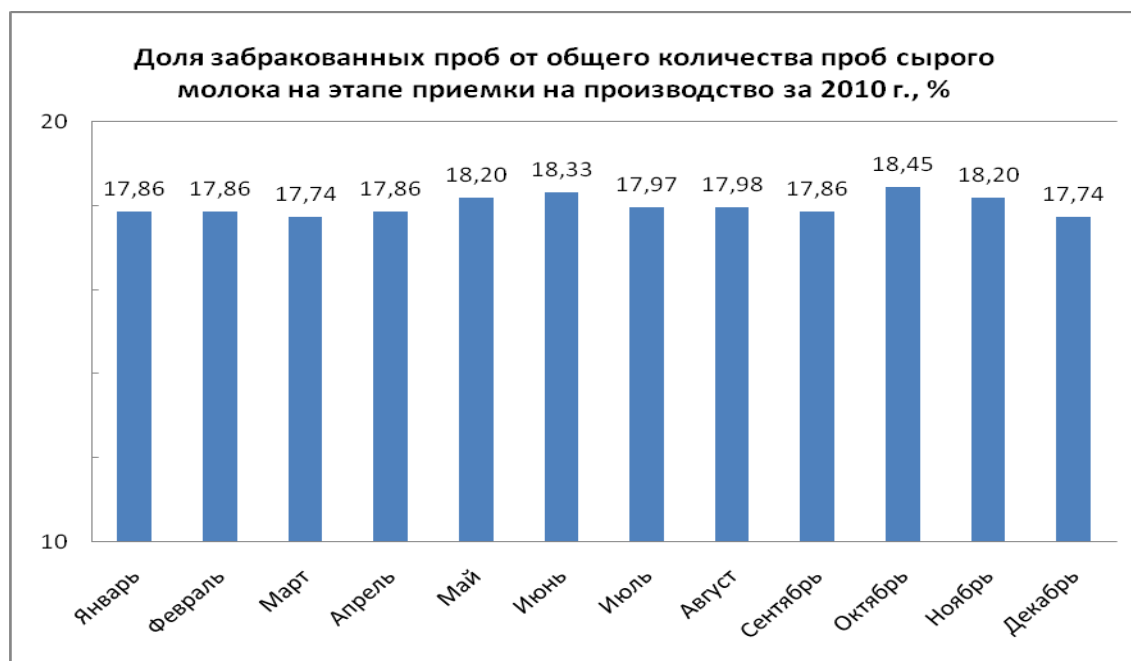


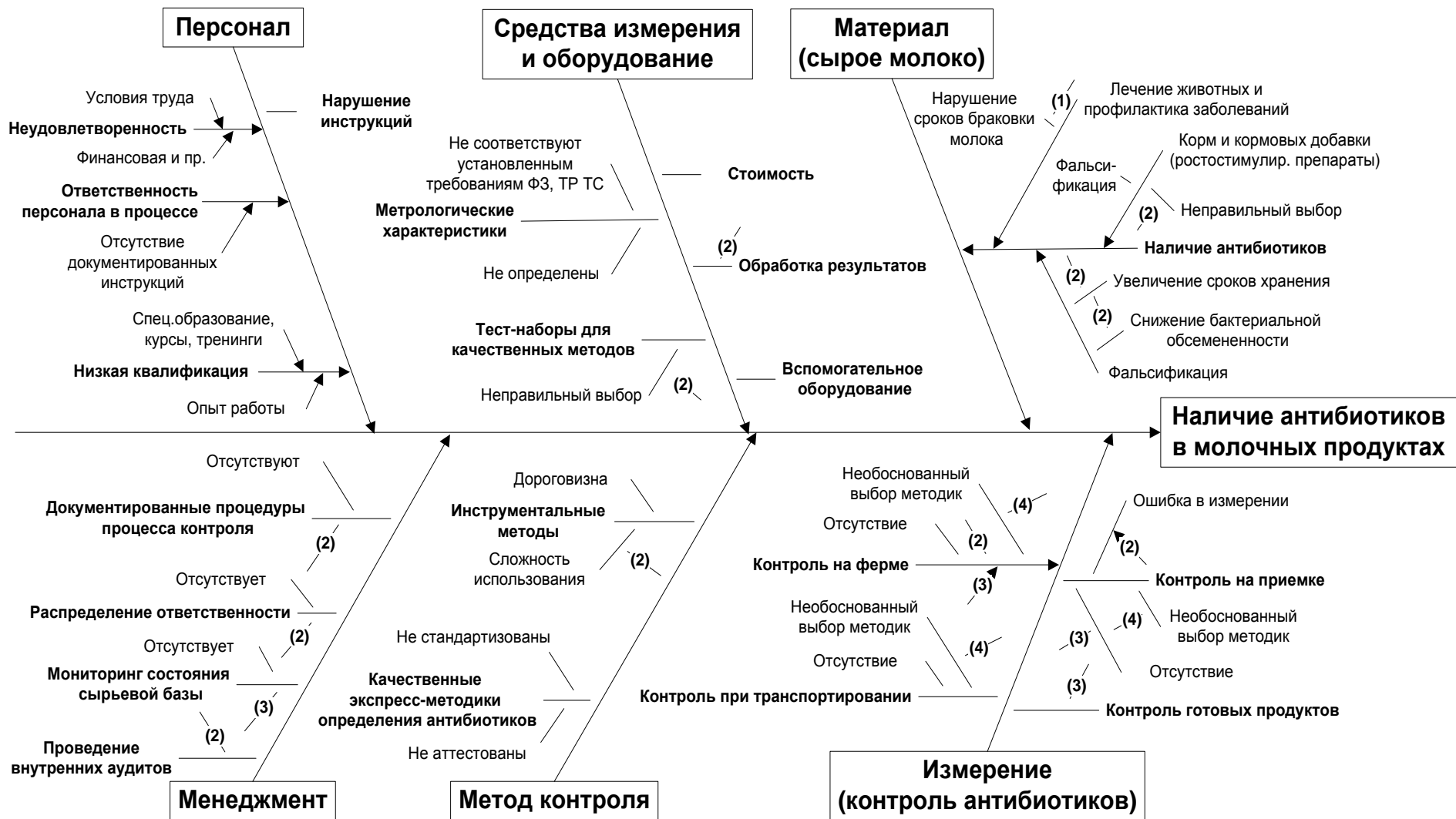
Рисунок 3 – Анализ наличия антибиотиков в сыром молоке в течение года

Для дифференциации причин контаминации молочных продуктов антибиотиками была разработана причинно-следственная диаграмма (рис. 4). Стратификацию факторов осуществляли с помощью мнемонического приема 6М: персонал, менеджмент, средства измерений и оборудование, метод контроля, материал и измерение.

Анализ диаграммы показал, что для производства молочных продуктов, свободных от антибиотиков, необходимо усовершенствовать контроль качества сырого молока. Установлено, что основной причиной неэффективного контроля антибиотиков являются неправильно подобранные методики и средства их реализации.

Следующий этап исследования – анализ факторов контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками на основных этапах типового жизненного цикла молочной продукции, к которым отнесли:

- получение молока на ферме или в частном хозяйстве;
- сбор сырого молока (пункт сбора молока) и транспортирование;
- производство продукции на молокоперерабатывающем предприятии;
- реализацию на предприятиях торговли и общественного питания.



- (1) Документированные записи по используемым ветеринарным препаратам (журнал расхода ветеринарных препаратов);
- (2) Персонал;
- (3) Методики (методы) измерений, документированные процедуры;
- (4) Неправильный выбор тест-набора для реализации методики.

Рисунок 4 – Причинно-следственная диаграмма показателей контаминации молочных продуктов антибиотиками

Результаты исследования представлены в виде древовидной схемы (рис. 5).

Для выявления показателей весомости факторов (ПВФ) была разработана математическая модель их оценки:

$$\text{ПВФ} = \langle G, L, \Phi \rangle, \quad (1)$$

где G – древовидная иерархия показателей весомости факторов контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками;

L – шкала оценок единичных причин в иерархии, в баллах;

Φ – система отношений предпочтения одних причин другим для одного уровня в иерархии.

$$\Phi = \{F_i (\varphi) F_{ij} (\varphi) F_{ijk} | \varphi \in (\succ, \approx)\}, \quad (2)$$

где $\{F_i\}$ – множество ПВФ 1-го уровня;

$\{F_{ij}\}$ – множество ПВФ 2-го уровня;

$\{F_{ijk}\}$ – множество ПВФ 3-го уровня;

\succ – отношение предпочтения;

\approx – отношение безразличия.

Основу системы отношений Φ составили ряды предпочтений, полученные методом последовательного сравнения в ходе открытого совещания экспертов:

$$\Phi = \{F_1 \succ F_2 \approx F_3 \succ F_4; F_{1.3} \succ F_{1.2} \succ F_{1.1}; F_{2.1}; F_{3.1} \succ F_{3.2}; F_{4.1}; F_{1.1.1} \approx F_{1.1.2}; F_{1.2.1} \approx F_{1.2.2}; F_{1.3.1} \succ F_{1.3.2} \approx F_{1.3.3}; F_{2.1.1} \approx F_{2.1.2}; F_{3.1.1} \approx F_{3.1.2}; F_{3.2.1}; F_{4.1.1}\} \quad (3)$$

Используя полученную систему отношений Φ и систему весовых коэффициентов Фишберна, определяли коэффициенты весомости a_i , a_{ij} и a_{ijk} , соответствующие каждому из уровней факторов F_i , F_{ij} и F_{ijk} .

Наибольший коэффициент весомости факторов контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками был присвоен этапу получения молока на ферме или в частном хозяйстве – 0,375. Равные коэффициенты присвоены этапу транспортирования и сбора сырого молока и этапу производства молочной продукции – 0,25. При этом контаминация сырого молока на этапе приемки на молокоперерабатывающем предприятии (0,67) наиболее вероятна, чем фальсификация готовых молочных продуктов (0,33).

Таким образом, повышение эффективности процедуры контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах должно достигаться за счет усовершенствования контроля антибиотиков в сыром молоке на этапах его получения и сбора.

На основании рассчитанных коэффициентов были определены и научно обоснованы следующие точки контроля:

- 1) ферма или частное хозяйство;
- 2) пункт сбора молока (в частном случае совпадает с фермой или приемкой на молокоперерабатывающем предприятии);
- 3) приемка на молокоперерабатывающем предприятии;
- 4) контроль готовой продукции (периодический).

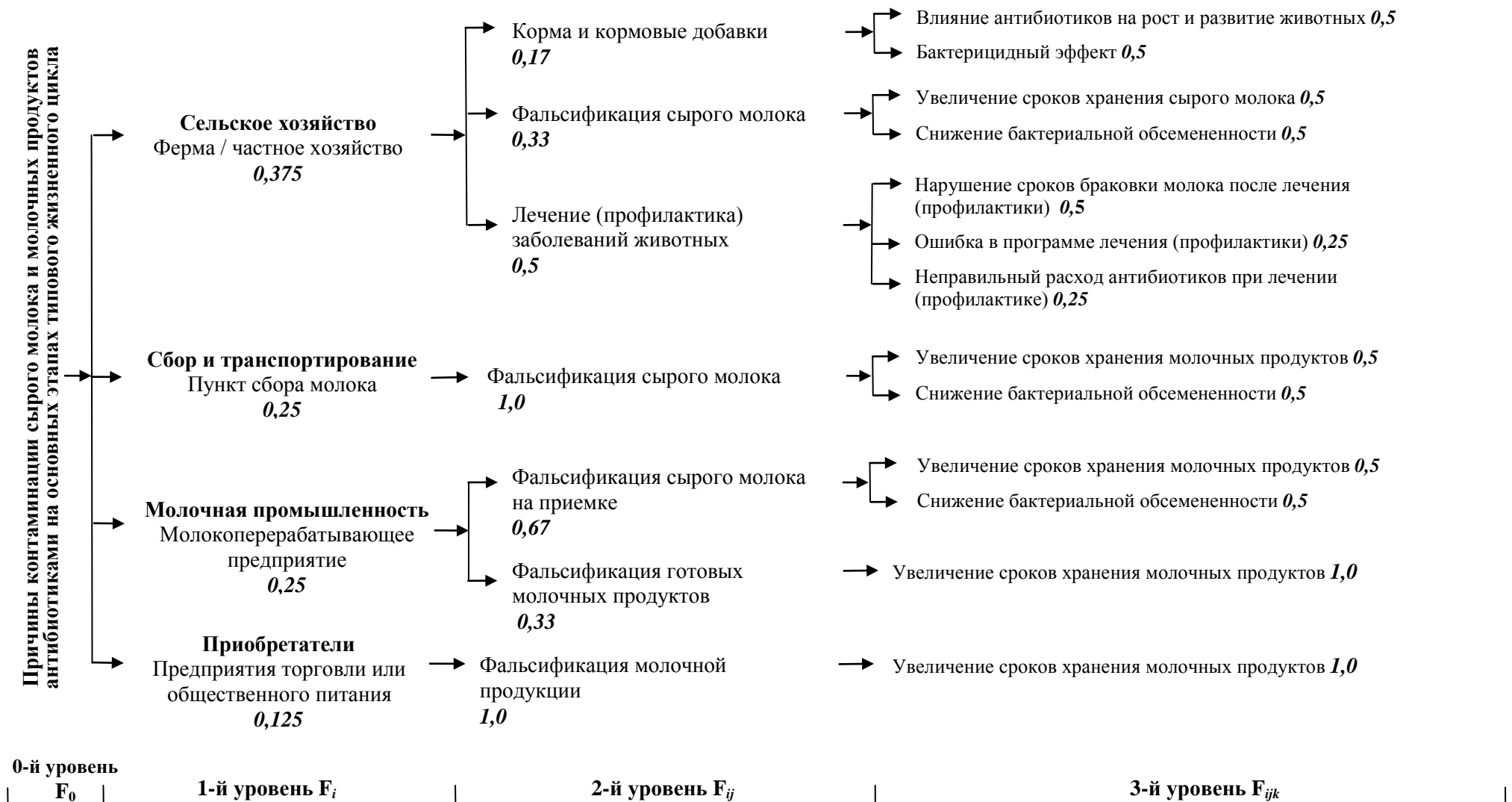


Рисунок 5 – Древоидная схема показателей весомости факторов контаминации молока и молочных продуктов антибиотиками

В четвертой главе проведена систематизация существующих методов измерений антибиотиков в молоке (рис. 6) и выявлены основные – микробиологический, биохимический и физико-химический.



Рисунок 6 – Методы измерений антибиотиков в молоке и молочных продуктах

В результате сопоставительного анализа определены преимущества и недостатки методик измерений антибиотиков, основанных на указанных методах, и установлено, что оптимального метода, отвечающего всем предъявляемым требованиям, не существует (табл. 2).

Таблица 2 – Особенности методик измерений антибиотиков в молоке и молочных продуктах

Наименование методик	Характеристики методик измерений антибиотиков	
	Преимущества	Недостатки
Методики на основе микробиологического метода	<ul style="list-style-type: none"> - определение широкого спектра антибиотиков (бета-лактамы, цефалоспорины, тетрациклины, макролиды, сульфониламиды, аминогликозиды и пр.); - определение прочих ингибирующих веществ (сода, аммиак, H₂O₂, моющие средства и др.); - простота использования; - не требуют дорогостоящего оборудования и вспомогательных материалов; - наличие тест-наборов. 	<ul style="list-style-type: none"> - время анализа (2,5 – 3) ч; - чувствительность не соответствует требованиям ГР; - визуальная оценка результатов исследования.

Наименование методик	Характеристики методик измерений антибиотиков	
	Преимущества	Недостатки
Методики на основе биохимического метода: - иммуноферментного	- определение заданных групп антибиотиков; - чувствительность соответствует требованиям ТР; - время анализа (5 – 15) мин; - простота использования; - не требуют дорогостоящего оборудования и вспомогательных материалов; - наличие тест-наборов.	- визуальная оценка результатов исследования (без считывающего устройства).
- радиоиммуноанализа	- чувствительность соответствует требованиям ТР.	- специальная пробоподготовка; - обслуживание высококвалифицированным персоналом; - использование дорогостоящего оборудования и вспомогательных материалов; - радиологическое воздействие.
Методики на основе физико-химического метода	- определение вида и количества антибиотика; - высокая селективность, точность, воспроизводимость.	- специальная пробоподготовка; - обслуживание высококвалифицированным персоналом; - использование дорогостоящего оборудования и вспомогательных материалов.

В связи с этим обоснована целесообразность комплексного использования микробиологического, иммуноферментного и физико-химического методов для контроля сырого молока и молочных продуктов на выбранных точках контроля:

1) на ферме (частном хозяйстве) – иммуноферментный метод – для контроля молока на наличие остатков антибиотиков, используемых на ферме;

2) на пункте сбора молока – микробиологический метод – для исключения более широкого спектра антибиотиков и прочих ингибирующих веществ, способных повлиять на качество сырого молока и технологический процесс производства молочных продуктов. При отсутствии пункта сбора молока в цепи поставки сырья точку контроля для проведения микробиологического анализа устанавливают как дополнительную на ферме, при транспортировании или на приемке;

3) на приемке молока на молокоперерабатывающем предприятии – иммуноферментный метод – для подтверждения соответствия сырого молока установленным требованиям;

4) контроль готовой продукции – физико-химический метод – для подтверждения соответствия готовых продуктов установленным требованиям.

При этом на первых трех точках реализация методик осуществляется с применением тестовых наборов, представляющих собой комплект всего необходимого для проведения испытания, способствующих упрощению процедуры контроля и сокращению затрачиваемого времени.

Для подтверждения метрологических характеристик (чувствительности) тест-наборов, заявленных производителем, была разработана процедура, основанная на

рекомендациях ГОСТ Р 52842 (ИСО 18330). Затем проведены испытания по ГОСТ Р 51600 и статистическая обработка полученных данных по ГОСТ Р 50779.22 (СТО 00419785-015-2011).

В настоящее время существует множество сходных тест-наборов для определения антибиотиков иммуноферментным и микробиологическим методами, в связи с чем возникает проблема их выбора.

В пятой главе приведены результаты анализа и выбора тестовых наборов для определения наличия антибиотиков в молоке и молочных продуктах.

Исследование тест-наборов включало:

- отбор тест-наборов для проведения анализа;
- присвоение порядковых номеров и изучение документации к тестам;
- выбор показателей для анализа тест-наборов;
- систематизацию и обобщение результатов анализа;
- проведение экспертной оценки уровня значимости показателей, характеризующих тест-наборы, для каждой из точек контроля;
- разработка порядка выбора тест-наборов.

Для проведения анализа были выбраны тест-наборы, прошедшие апробацию в промышленности, методики которых стандартизованы на национальном уровне.

Выбор показателей анализа проводили с учетом требований ГОСТ Р 52842 (ИСО 18330). Результаты анализа тест-наборов для микробиологического и иммуноферментного методов обобщены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Результаты анализа тест-наборов для определения наличия антибиотиков в молоке и молочных продуктах микробиологическим методом

Показатели	Наименование тест-набора									
	№ 1		№ 2		№ 3		№ 4		№ 5	
Комплектация ¹⁾	<i>a</i>		<i>b</i>		<i>a</i>		<i>b</i>		<i>a</i>	
Принцип метода ²⁾	<i>c</i>		<i>c</i>		<i>c</i>		<i>c</i>		<i>d</i>	
Время анализа, ч	3		3		3		2,5		2,5	
Количество проб за время, шт.	до 10		до 10		не огранич.		не огранич.		не огранич.	
Оценка результатов анализа:										
- группы определяемых антибиотиков ³⁾	<i>П</i>	<i>Т</i>	<i>П</i>	<i>Т</i>	<i>П</i>	<i>Т</i>	<i>П</i>	<i>Т</i>	<i>П</i>	<i>Т</i>
	–	<i>Л</i>	<i>С</i>	<i>Л</i>	<i>С</i>	<i>Л</i>	<i>С</i>	<i>Л</i>	–	<i>Л</i>
- чувствительность по группам антибиотиков, мкг/г ⁴⁾	0,003	0,3	0,003	0,1	0,004	0,07	0,003	0,1	0,002	0,2
	–	7,5	0,4	2,5	4,24	4,1	1,5	5	–	5
общее количество определяемых антибиотиков, шт.	21		31		30		26		30	
Дополнительное оборудование (термостаты)	+		+		+		+		+	
Специальное оборудование (считывающие устройства)	+		+		–		–		+	
Контрольные образцы	–		–		–		+		–	
Условные обозначения:										
¹⁾ Комплектация: <i>a</i> – необходим термостат и лабораторная посуда; <i>b</i> – необходим термостат;										
²⁾ Принцип метода: <i>c</i> – Изменение окраски агаровой среды со спорами <i>Bacillus stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i> и индикатором бромкрезолпурпур; <i>d</i> – Изменение окраски агаровой среды со спорами <i>Bacillus stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i> и индикатором бриллиантовый черный;										
³⁾ Группы определяемых антибиотиков: <i>П</i> – пенициллиновый ряд; <i>Т</i> – тетрациклиновая группа; <i>С</i> – стрептомицин; <i>Л</i> – левомицетин (хлорамфеникол).										
Примечание:										
⁴⁾ Чувствительность пенициллинового ряда – по ампициллину, тетрациклиновой группы – по тетрациклину.										

Таблица 4 – Результаты анализа тест-наборов для определения наличия антибиотиков в молоке и молочных продуктах иммуноферментным методом

Показатели	Наименование тест-набора														
	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12	№ 13	№ 14	№ 15	№ 16	№ 17	№ 18	№ 19	
Комплектация ¹⁾	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	
Принцип метода ²⁾	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	
Время анализа, мин	12	12	7	10	7	12	7	7	8	7	15	12	12	10	
Количество проб за время (скорость), шт.	1	не огранич.	до 6	до 6	не огранич.	1	до 6	не огранич.	не огранич.	до 6	до 6	1	не огранич.	не огранич.	
Оценка результатов анализа:															
- группы определяемых антибиотиков ³⁾	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>Т</i>	<i>Т</i>	<i>Т</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>П</i>	<i>Т</i>
									<i>Т</i>	<i>Т</i>	<i>Т</i>	<i>Т</i>	<i>Т</i>	<i>С</i>	<i>Л</i>
- чувствительность по группам антибиотиков, мкг/г ⁴⁾	0,004	0,004	0,002	0,004	0,004	0,01	0,06	0,02	0,003	0,002	0,002	0,003	0,003	0,003	0,01
									0,01	0,05	0,01	0,01	0,01	0,15	0,0003
- общее количество определяемых антибиотиков, шт.	27	27	13	12	14	5	3	4	26	17	18	17	17	29	
Дополнительное оборудование (термостаты)	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	
Специальное оборудование (считывающие устройства)	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
Контрольные образцы	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	
Условные обозначения:															
1) Комплектация: <i>a</i> – необходим термостат; <i>b</i> – всё необходимое включено в набор;															
2) Принцип метода: <i>c</i> – Образование комплекса антибиотиков со специфическими белковыми рецепторами, мечеными ферментом, содержащим индикатор; <i>d</i> – Образование комплекса антибиотиков со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом;															
3) Группы определяемых антибиотиков: <i>П</i> – пенициллиновый ряд; <i>Т</i> – тетрациклиновая группа; <i>С</i> – стрептомицин; <i>Л</i> – левомицетин (хлорамфеникол).															
Примечание:															
4) Чувствительность пенициллинового ряда – по ампициллину, тетрациклиновой группы – по тетрациклину.															

Следующий этап исследования – экспертная оценка уровня значимости показателей, характеризующих тест-наборы, для каждой из точек контроля: фермы (частного хозяйства), пункта сбора молока (точки микробиологического контроля) и молокоперерабатывающего предприятия. Для проведения исследования были разработаны: анкета, включающая перечень выбранных показателей, и шкала оценки уровня значимости показателей, характеризующих тест-наборы (табл. 5).

Таблица 5 – Шкала оценки уровня значимости показателей, характеризующих тест-наборы

Уровень значимости	Характеристика влияния показателя тест-набора на результат испытания	Оценка
Не имеет значения	Не влияет на получение результата анализа	1
Незначительный	Имеет косвенное отношение к результатам анализа	2
Значительный	Влияет на получение результата	3
Критический	Влияет на получение и достоверность результата	4

По результатам экспертной оценки (табл. 6) выявлено, что наибольшая сумма индивидуальных оценок соответствует более значимым показателям тестов:

- для фермы (частного хозяйства) – группы определяемых антибиотиков, чувствительность определяемых групп антибиотиков, время проведения испытания, комплектация тест-набора;

- для пункта сбора молока (точки микробиологического контроля) – группы определяемых антибиотиков, время проведения испытания, общее количество определяемых антибиотиков и чувствительность;

- при приемке на молокоперерабатывающем предприятии – группы определяемых антибиотиков, чувствительность определяемых групп антибиотиков и комплектация тест-набора.

На основе результатов экспертной оценки были разработаны:

- ✓ Порядок выбора тест-наборов для определения наличия антибиотиков в сыром молоке на ферме (в частном хозяйстве) (рис. 7);

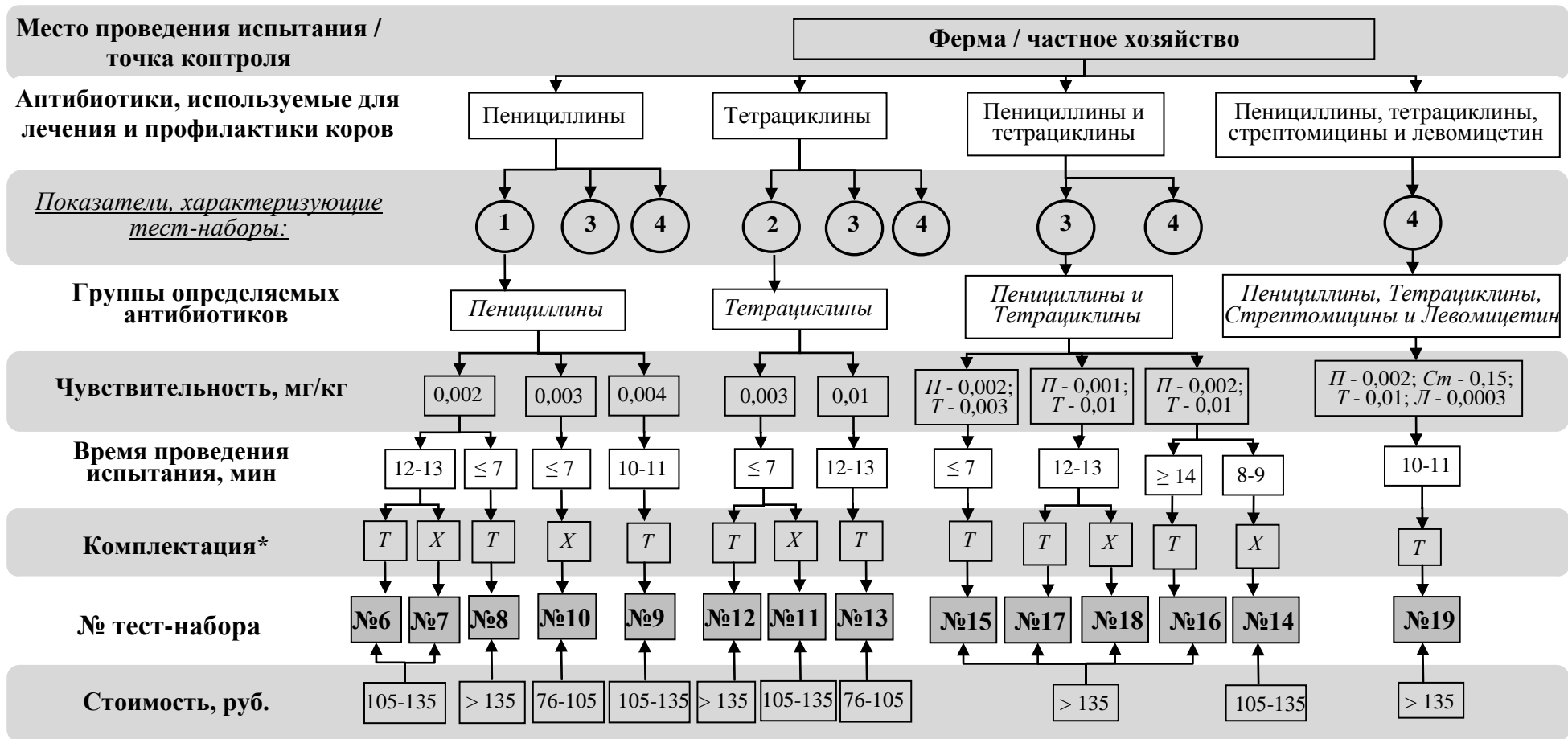
- ✓ Порядок выбора тест-набора для определения наличия антибиотиков в сыром молоке на пункте сбора молока (точке микробиологического контроля) (рис. 8);

- ✓ Порядок выбора тест-набора для определения наличия антибиотиков в сыром молоке при приемке молока на молокоперерабатывающем предприятии (рис. 9).

Разработанные порядки призваны упростить выбор тест-наборов для определения антибиотиков, наглядно демонстрируют разницу существующих тестов и имеют неограниченный ресурс к расширению и корректировке.

Таблица 6 – Экспертная оценка уровня значимости показателей, характеризующих тест-наборы

№	Показатели	Эксперты																	
		№1	№2	№3	№4	№5	Σ	№1	№2	№3	№4	№5	Σ	№1	№2	№3	№4	№5	Σ
		Индивидуальные оценки экспертов																	
		Ферма (частное хозяйство)						Пункт сбора молока (точка микробиологического контроля)						Молокоперерабатывающее предприятие					
1	Комплектация	4	3	4	3	4	18	3	2	2	2	3	12	4	3	4	3	3	17
2	Группы определяемых антибиотиков	4	4	4	4	4	20	4	4	4	4	4	20	4	4	4	4	4	20
3	Принцип метода	1	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	5
4	Время проведения испытания	4	4	4	3	4	19	4	4	3	3	3	17	4	3	3	4	4	18
5	Количество проб за время (скорость)	2	2	1	2	2	9	2	2	1	2	2	9	2	2	1	2	1	8
6	Чувствительность определяемых групп антибиотиков	4	4	4	4	4	20	3	3	3	3	4	16	4	4	4	4	4	20
7	Общее количество определяемых антибиотиков	2	2	2	3	2	11	4	4	4	4	4	20	2	3	2	2	2	11
8	Дополнительное оборудование (термостаты)	2	1	2	2	2	9	3	3	3	3	3	15	2	1	2	1	2	8
9	Специальное оборудование (считывающие устройства)	2	2	1	2	1	8	2	2	2	2	2	10	2	2	1	2	1	8
10	Контрольные образцы	2	2	2	3	2	11	2	2	3	2	3	12	2	2	2	3	2	11



* T – дополнительно к тест-набору необходим термостат, X – определение без нагревания, всё необходимое для проведения определения входит в тест-набор.

Рисунок 7 – Порядок выбора тест-набора для определения наличия антибиотиков в сыром молоке на ферме (в частном хозяйстве)

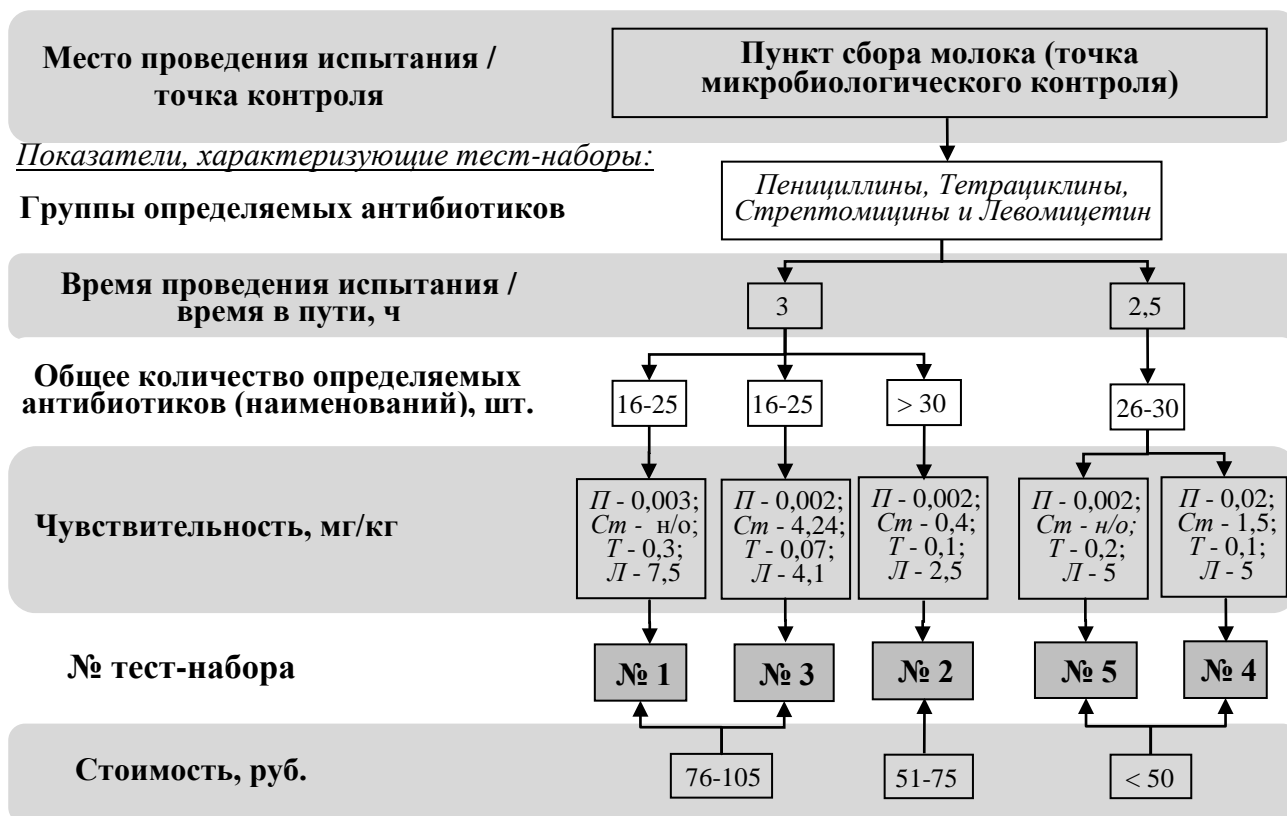
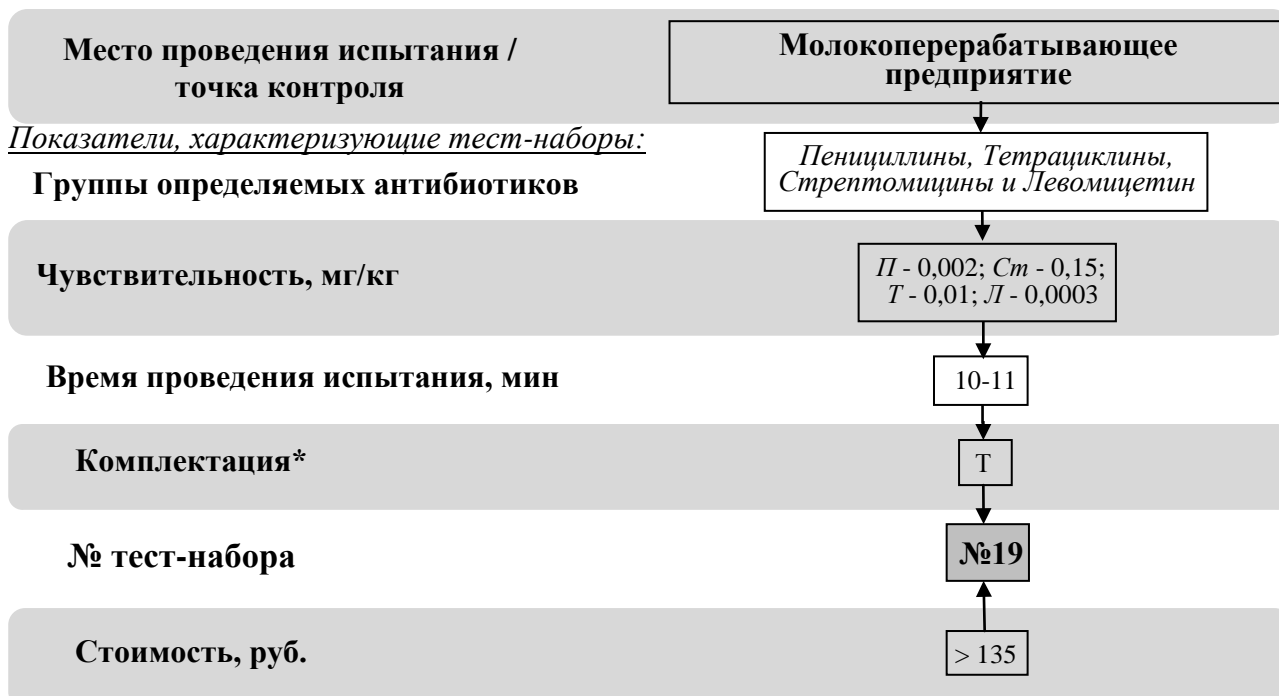


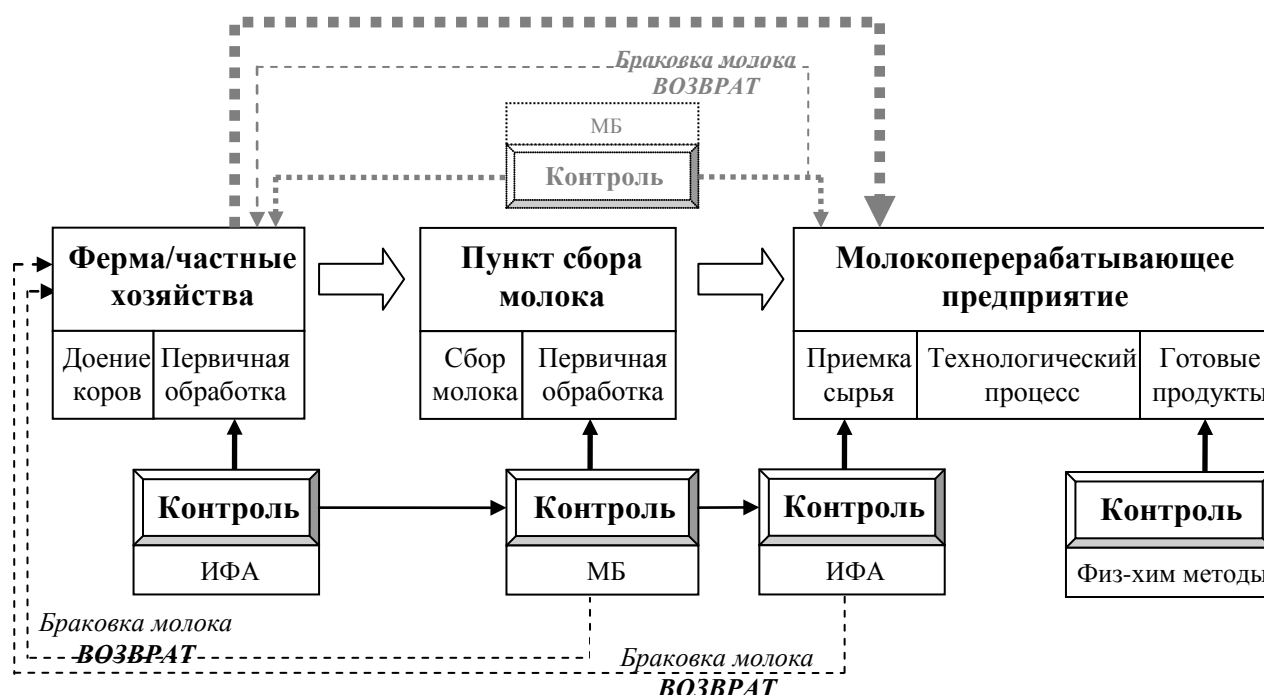
Рисунок 8 – Порядок выбора тест-набора для определения наличия антибиотиков в сыром молоке на пункте сбора молока (точке микробиологического контроля)



* Т – дополнительно к тест-набору необходим термостат, Х – определение без нагревания, всё необходимое для проведения определения входит в тест-набор.

Рисунок 9 – Порядок выбора тест-набора для определения наличия антибиотиков в сыром молоке при приемке на молокоперерабатывающем предприятии

С учетом научно обоснованных точек контроля антибиотиков, на основании анализа методик и разработанного для каждой из точек контроля порядка выбора тест-наборов в **шестой главе** нами предложена система многоступенчатого контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах (рис. 10). При обнаружении антибиотиков в каждой точке контроля сырое молоко возвращают на ферму (частное хозяйство).



Условные обозначения:

ИФА – иммуноферментный метод определения наличия антибиотиков в молоке и молочных продуктах (ГОСТ Р 53774-2010)

МБ – микробиологический метод определения наличия антибиотиков в молоке и молочных продуктах (ГОСТ Р 51600-2010)

----> – частный случай, при котором пункт сбора молока отсутствует в цепи поставки сырья

Рисунок 10 – Система многоступенчатого контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах

Данная система обеспечивает:

- а) поступление на молокоперерабатывающее предприятие молочного сырья, свободного от антибиотиков;
- б) рациональный расход времени на проведение испытаний;
- в) материальную ответственность фермеров за некачественное сырье.

На основе системы была разработана усовершенствованная процедура контроля антибиотиков (СТО 00419785-013-2010 «Молоко и молочные продукты. Процедура контроля антибиотиков»). Анализ внедрения результатов исследования на ООО «Кампина» выявил снижение доли забракованных проб с 18 % до 0,5 %, что позволяет сделать вывод об эффективности разработанной системы.

Полученные материалы положены в основу работ (с участием диссертанта) по пересмотру национального стандарта ГОСТ Р 51600-2000 «Молоко. Методы определения наличия антибиотиков» путем ранжирования, стандартизации методов и разработки: ГОСТ Р 51600-2010 «Молоко и

молочные продукты. Микробиологические методы определения наличия антибиотиков» и ГОСТ Р 53774-2010 «Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков». Проведена их актуализация, направленная на стандартизацию новых и корректировку ранее стандартизованных методик в части объективности и достоверности результатов (Изменение № 1 ГОСТ Р 51600, Изменение № 1 ГОСТ Р 53774). В настоящее время методики проходят процедуру межгосударственной стандартизации.

ВЫВОДЫ И ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

1. На основе результатов анализа законодательной и нормативной базы разработана система документов в части контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах, действующих на территории РФ, и выявлено неоднократное изменение требований к нормируемым группам антибиотиков;

2. Проведенный мониторинг наличия антибиотиков в сыром молоке на приемочном контроле молокоперерабатывающего предприятия в период с января по декабрь 2010 г. установил их присутствие в пробах вне зависимости от сезона. Доля забракованных проб сырого молока составила 18 % от числа исследованных.

3. Дифференциация показателей контаминации молочных продуктов антибиотиками с применением причинно-следственной диаграммы выявила, что основной причиной неэффективного контроля сырого молока является неправильно подобранные методики и средства их реализации.

4. Научно обоснованы точки контроля антибиотиков на этапах типового жизненного цикла молочной продукции. Разработана математическая модель оценки факторов контаминации молока и молочных продуктов, рассчитаны показатели весомости и построена древовидная схема.

5. Проведена систематизация существующих методов измерений антибиотиков в молоке, определены их специфические особенности. Обоснована целесообразность комплексного использования современных методов контроля антибиотиков: микробиологические – на пунктах сбора молока (в частном случае совпадает с фермой или приемкой), иммуноферментные – на фермах (частных хозяйствах) и молокоперерабатывающих предприятиях, физико-химические – при контроле готовой продукции.

6. Разработана процедура подтверждения метрологических характеристик (чувствительности) качественных методик измерений антибиотиков, реализуемых с помощью тест-наборов (СТО 00419785-015-2011).

7. С учетом результатов комплексного анализа тест-наборов для определения наличия антибиотиков в сыром молоке предложен порядок выбора тест-набора для фермы (частного хозяйства), порядок выбора тест-набора для пункта сбора молока и порядок выбора тест-набора для молокоперерабатывающего предприятия.

8. На основе теоретических и экспериментальных исследований разработана система многоступенчатого контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах, внедрение которой (СТО 00419785-013-2010) позволило снизить долю забракованных проб сырого молока на этапе приемки на молокоперерабатывающем предприятии с 18 % до 0,5 %.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Гераймович О.А. Систематизация стандартизованных методов определения ингибирующих веществ и антибиотиков в молоке и молочных продуктах / О.А. Гераймович, **З.Ю. Малинина** // Молочная промышленность. – 2009. – № 9. – С. 44-45.

2. Макеева И.А. Алгоритм разработки и стандартизации методик выполнения измерений на примере актуализации ГОСТ Р 51600-2000 «Молоко. Методы определения наличия антибиотиков» / И.А. Макеева, **З.Ю. Малинина** // Экологически безопасные ресурсосберегающие технологии и средства переработки сельскохозяйственного сырья и производства продуктов питания: материалы международной научной конференции. – Москва, 2009. – С. 220-222.

3. Макеева И.А. Безопасность кисломолочных продуктов. Антибиотики / И.А. Макеева, **З.Ю. Малинина** // Обеспечение качества и безопасности продукции агропромышленного комплекса в современных социально-экономических условиях: материалы 3-й Конференции молодых ученых и специалистов институтов Отделения «Хранения и переработки сельскохозяйственной продукции Россельхозакадемии». – М.: ГНУ ВНИИМП им. Горбатова, 2009. – С. 161-162.

4. Рожина Н.В. Современные методы определения антибиотиков в кисломолочных продуктах / Н.В. Рожина, **З.Ю. Малинина**, И.А. Макеева // Эстафета поколений. (Сборник трудов молодых ученых и специалистов к 80-летию ВНИМИ). М.: ГНУ ВНИМИ, 2009, 42 с. с ил. – С. 32-34.

5. Макеева И.А. Систематизация методик определения наличия антибиотиков / И.А. Макеева, Н.В. Рожина, **З.Ю. Малинина** // Научное обеспечение молочной промышленности (ВНИМИ – 80 лет). Сборник научных трудов. М., ГНУ ВНИМИ, 2009. – 495 с. – С. 249-254.

6. Макеева И.А. Анализ современных отечественных и зарубежных методов определения антибиотиков в кисломолочных продуктах / И.А. Макеева, Н.В. Рожина, **З.Ю. Малинина** // Переработка молока. – 2010. – №1. – с. 57.

7. **Малинина З.Ю.** О необходимости метрологической службы на предприятии // Научное обеспечение молочной промышленности. Сборник научных трудов. М., ГНУ ВНИМИ, 2010. – С. 126-129.

8. Макеева И.А. Новые аспекты системы правовых и нормативных документов на объекты молочной промышленности / И.А. Макеева, Д.Е. Генова, **З.Ю. Малинина** // Переработка молока – 2010. – №11. – С. 49-51.

9. Макеева И.А. Разработка технических документов на продукты, исключенные из технического регламента на молоко и молочную продукцию /

И.А. Макеева, Д.Е. Генова, **З.Ю. Малинина** // Молочная промышленность – 2011. – №3. – С. 35-36.

10. Макеева И.А. Современная система правовых, нормативных и технических документов молочной промышленности / И.А. Макеева, **З.Ю. Малинина** // Перспективные направления развития молочной отрасли России в современных условиях: материалы всероссийской научно-практической конференции. – Адлер, 2011 – С. 107-113.

11. Макеева И.А. Продовольственная безопасность и роль государства в укреплении здоровья населения страны / И.А. Макеева, **З.Ю. Малинина** // Современные методы направленного изменения физико-химических и технологических свойств сельскохозяйственного сырья для производства продуктов здорового питания: научные труды 5-й Конференции молодых ученых и специалистов институтов Отделения хранения и переработки сельскохозяйственной продукции Россельхозакадемии 12 октября 2011 г. М.: ГНУ ВНИИЗ, 2011. – С. 174-177.

12. Макеева И.А. Антибиотики в молоке: новые требования и методы их контроля / И.А. Макеева, **З.Ю. Малинина** // Экологическая, продовольственная и медицинская безопасность человечества : материалы Первого Международного конгресса. 14-17 ноября 2011 г. : в 2 ч. – Ч. 2. – Москва : ФГБОУ ВПО «РЭУ им. Г. В. Плеханова», 2011. – 260 с. – С. 37-39.

13. Малинина З.Ю. Методы определения стрептомицина и левомицетина в молоке и молочных продуктах / **З.Ю. Малинина**, И.А. Макеева // Молочная промышленность – 2011. – №11. – С. 42-43.

14. Макеева И.А. Новое в законодательных и нормативных документах / **З.Ю. Малинина**, Н.В. Стратонова, И.А. Макеева // Молочная промышленность – 2012. – №4. – С. 26-27.

15. Малинина З.Ю. Комплексная оценка тест-наборов для определения антибиотиков в молоке качественными экспресс-методами с использованием балльной системы / **З.Ю. Малинина**, И.А. Макеева // Повышение конкурентоспособности отечественных продуктов сыроделия и маслоделия/Материалы международной научно-практической конференции. 25-29 июня 2012 г. – Углич, ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии, 2012. 218 с. – С. 202-208.

16. Малинина З.Ю. Актуализация национальных стандартов по выявлению антибиотиков / **З.Ю. Малинина**, Н.В. Стратонова, И.А. Макеева // Молочная промышленность – 2012. – №7. – С. 17-18.

17. Малинина З.Ю. Многоступенчатый контроль антибиотиков на основных этапах жизненного цикла молочной продукции / **З.Ю. Малинина** // Пути интенсификации производства и переработки сельскохозяйственной продукции в современных условиях: в 2-х частях. мат. междунар. науч.-практ. конф., 28-29 июня 2012 г. / под ред. В.Н. Храмовой В.Н. – г. Волгоград: ИУНЛ ВолгГТУ. 2012. – С. 286-290.

18. Малинина З.Ю. Многоступенчатый контроль антибиотиков на основных этапах жизненного цикла молочной продукции / **З.Ю. Малинина** // Новые подходы к разработке и реализации конкурентоспособных технологий

производства и переработки сельскохозяйственной продукции: мат. молодежного научного мероприятия, 28-29 июня 2012 г., г. Волгоград / под ред. Храмовой В.Н. – г. Волгоград: ИУНЛ ВолгГТУ. 2012. – с. 179. – С.60-64.

19. Малинина З.Ю. Совершенствование контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах / **З.Ю. Малинина** // Фундаментальные основы и передовые технологии в пищевой и перерабатывающей промышленности: Сборник научных трудов 6-ой конференции молодых ученых и специалистов институтов Отделения хранения и переработки сельскохозяйственной продукции Россельхозакадемии, 16 октября 2012 г. М.: Изд-во РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, 2012. 379 с. – С. 196-201

20. Малинина З.Ю. Разработка системы многоступенчатого контроля антибиотиков на этапах типового жизненного цикла молочной продукции / **З.Ю. Малинина, И.А. Макеева** // Научное обеспечение молочной промышленности. Сборник научных трудов. ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии. – Москва: Интеллект-Центр, 2012. – 256 с. – С. 132-138.

21. Малинина З.Ю. Комплексный подход к контролю антибиотиков в молоке / **З.Ю. Малинина** // Переработка молока – 2012. - № 11. – С. 33-37.