

口服液型益生菌保健食品 HACCP 系统的试点研究

李晓瑜 王茂起 包大跃

(卫生部食品卫生监督检验所,北京 100021)

摘要:为了保证口服液型益生菌保健食品的卫生质量,探讨 HACCP 系统的可行性和有效性,按照其原则和程序在试点企业生产过程中开展了 HACCP 研究,确定了菌种的使用与管理、实罐灭菌、接种与发酵过程中的防污染控制、包装材料灭菌以及灌装过程的控制为关键控制点,并在一系列实验性研究的基础上同时沿用已有的成熟的工艺参数和设置,制定出该厂 HACCP 系统详细的实施计划。经试运行,产品质量稳定,微生物污染率显著下降(待包装半成品霉菌目检检出率由原来的 $50 \sim 124.3/10^4$ 降至 $0 \sim 2/10^4$),该研究为制定益生菌保健食品的良好生产规范提供了科学依据。

关键词:营养保健品 有益菌种 质量控制

中图分类号:R15;TS218 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2001)04-0003-04

近年来随着微生态理论研究的深入以及该理论应用在实践中取得的成效,益生菌制剂发展迅速,在我国除了一小部分药用外,绝大部分用于保健食品。^[1]作为一类生物活性制品,益生菌必须安全、有效、稳定。由于终产品为液态,一般不含任何防腐剂,不进行终末消毒灭菌,因此微生物污染的危险性很大。为了保证产品的卫生质量,并为益生菌保健食品 GMP 的制定提供科学依据,我们在某试点企业进行了益生菌口服液生产过程 HACCP 系统的研究。本文仅就微生物性危害的分析与控制报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 某益生菌口服液生产加工过程。

1.2 研究方法 参照国际食品法典委员会推荐的实施 HACCP 的原则和程序进行。^[2]

现场观察 深入企业各工段,观察从原材料入厂直至成品出厂整个生产加工过程,并与生产技术

人员交谈,了解工艺、设施设备、人员和卫生管理情况。

采样分析和环境测试 各种原辅料、中间产品、半成品、成品参照 GB 4789.2、3、4、10、15—94 进行微生物采样分析。机器设备、手指皮肤的检验参照《消毒技术规范》的有关方法。^[3]

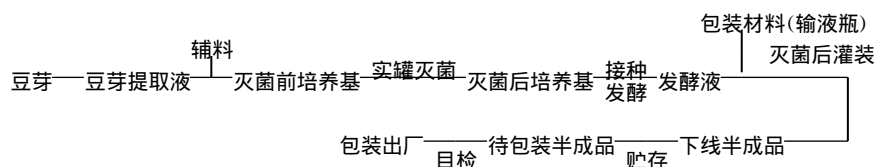
生产环境测试 参照《药品生产质量管理规范》的有关方法。^[4]

工艺验证和实验性分析 灭菌效果评价实验参考 GB 15981—1995《消毒与灭菌效果的评价方法与标准》。

1.3 数据处理 所得数据采用 SPSS 9.0 进行统计处理。

2 结果与分析

2.1 通过深入各车间观察生产加工过程,并与生产加工人员进行交谈,绘制出以下简要工艺流程图:



注:“待包装半成品”指未贴标签、未装箱的产品。

2.2 为了解污染微生物的消长变化,对各种原辅料、中间产品、半成品、成品进行了微生物检验(以下所称杂菌为益生菌外的细菌),结果见表 1。

由表 1 可知,部分原材料中的微生物含量偏高,

但由于其占培养基的比重较小,对消毒前培养基的细菌基数水平影响很小,而且投料后短时即高温蒸汽灭菌,故此污染水平在可接受范围之内,不会造成危害;实罐灭菌效果较理想;危害主要在于发酵过程

中染菌,导致不可控制的污染。

2.3 环境监测 通过对种子室、灌装车间的空气质量指标(浮游菌、尘埃粒子、风速、换气次数、沉降菌)

的监测发现,主要问题在于灌装室相对湿度严重超标,结果见表2。

表1 各种原辅料、中间产品、半成品、成品微生物检验结果

试样名称	样本量	杂菌 cfu/mL (g)	霉菌 + 酵母 cfu/mL (g)	大肠菌群 MPN/100mL (g)	致病菌
豆 芽	10	6.12 ×10 ⁶	4.77 ×10 ⁴	9540	未检出
蛋白胨	10	1.16 ×10 ⁴	< 10	< 30	未检出
酵母膏	10	39	< 10	< 30	未检出
琼 脂	10	< 10	10	< 30	未检出
灭菌前培养基	20	33.08 (0 ~ 112)	0.35 (0 ~ 1)	< 3	未检出
种子液	20	< 1	< 1	< 3	未检出
灭菌后培养基	20	< 1	< 1	< 3	未检出
接种后发酵液	20 批	3 批检出	< 1	< 3	未检出
下线半成品	9 瓶/批 ×20 批	1 批检出 (< 10)	< 1	< 3	未检出

注:括号内为计数范围

表2 灌装室相对湿度观测结果

相对湿度 %	出现频率 次	构成比 %
< 65	6	17
< 75	12	33
< 85	14	14
< 90	4	11
共记录批次	36	100

按照灌装室洁净级别的要求相对湿度应控制在65 %以下,从以上数据可知其合格率仅为17 %,这为霉菌孳生提供了良好的条件,污染口服液的危险性很大。

2.4 设备、容器、生产人员采样分析 灌装期间,对相关设备、容器、生产人员的卫生状况进行了采样检验(灌装线上与口服液接触的管道、容器均采用可靠的高压蒸汽灭菌,不存在灭菌不彻底的问题,故仅对分装管道口进行了采样检验),结果见表3。

表3 设备、容器、生产人员的微生物检验结果

采样点	试样量	检验结果
分装管道口	10 处	无杂菌、霉菌检出
生产人员手部	200 只手	无大肠杆菌、致病菌检出,杂菌带菌数均 < 100cfu/手掌
灌装线上瓶外壁,手接触部	10 瓶	3 瓶检出杂菌,计数范围为 5 ~ 100cfu/40 cm ² ;6 瓶检出霉菌,计数范围为 5 ~ 20cfu/40 cm ²
灌装线上瓶内壁(倾注酚红肉汤培养液)	265 瓶	34 瓶内的培养液变色,污染检出率为 12.8 %

从以上结果可以看出危害主要存在于包装材料灭菌不彻底,带菌率为12.8 %;瓶外壁微生物计数

偏高也反应出灌装室洁净度不理想。其他与口服液直接接触的设备以及生产人员手部卫生状况良好。

2.5 包装材料(输液瓶)灭菌工艺验证 为了进一步验证灭菌效果,按照原有的工艺接种嗜热芽胞菌片进行定量实验,结果见表4。

表4 包装材料灭菌效果验证实验结果

编号	回收菌数 cfu/片	杀菌率 %
1	2.9 ×10 ³	99.64
2	4.5 ×10 ³	99.44
3	1.5 ×10 ³	99.81
4	5.0 ×10 ³	99.38
5	1.6 ×10 ³	99.80
6	4.0 ×10 ³	99.50
7	4.4 ×10 ³	99.45
8	4.0 ×10 ³	99.50
9	1.1 ×10 ³	99.86
10	2.4 ×10 ³	99.70
阳性对照	8.0 ×10 ⁵	
阴性对照	0.0	

以上结果显示,该工艺有一定效果,灭菌率为99.6 %,但不能彻底灭菌。后又在车间定性验证(20片菌片无菌加入玻璃瓶后放置于车间灭菌柜不同位置进行灭菌处理,结果显示不能全部灭活芽胞),结果相同,提示存在潜在危险性。

2.6 确定关键控制点 依据关键控制点的判定思路和原则,结合前面的危害性分析,该厂口服液型益生菌保健食品的生产至少可以设以下关键控制点:(1)菌种的使用与管理,(2)实罐灭菌,(3)接种与发酵过程中的防污染控制,(4)包装材料(输液瓶)灭菌,(5)灌装过程的控制。

2.7 建立关键控制点的控制限量 为了针对关键控制点制定出明确的量化控制标准,进行了以下实验性研究。

2.7.1 包装材料(输液瓶)灭菌工艺 经讨论协商采用一种介于干、湿热之间的灭菌工艺。为制定该工艺条件下的灭菌温度和时间进行了接种3种代表菌的灭菌效果实验,结果如表5所示。

表5 包装材料灭菌接种实验结果

		大肠杆菌 25922(批 号 S.2)回收 菌数 cfu/mL	白色念珠菌 总 12-9 ATCC (批号 S.2)回 收菌数 cfu/mL	嗜热芽胞杆 菌 7933ATCC (批号 S.1)菌片
121	15 min	0.0	0.0	1/3 变色
121	30 min	0.0	0.0	全部不变色
121	45 min	0.0	0.0	全部不变色
121	60 min	0.0	0.0	全部不变色
121	90 min	0.0	0.0	全部不变色
	阳性对照	2.1×10^6	1.3×10^6	变色
	阴性对照	0.0	0.0	不变色

注:表中所示不变色表明灭活;变色表明有残留菌,未全部灭活。

实验结果显示改进工艺后 121 30 min 高压蒸汽灭菌即可杀灭全部接种菌,灭菌效果较理想。考虑到灭菌柜不同部位、装瓶量对灭菌效果的影响,认为改进工艺后高压蒸汽灭菌 60min 完全可以达到理想的灭菌效果。

2.7.2 待包装半成品霉菌接种实验 为了给灌装环

境、设备、人员卫生等控制标准的制定提供实验依据,在灌装室沉降菌平板上挑取2种检出频率较高、肉眼观察菌落形态不同的霉菌(口服液中也有检出),并进行鉴定,以不同浓度接种于无污染的成品中,观察35 d,记录肉眼可见霉斑、霉菌菌丝体出现时间。结果发现:待包装半成品中霉菌含量 $<1\text{cfu/mL}$ 时,15 下18 d全部出现肉眼可见霉斑或霉菌菌丝体,25 下需24 d;霉菌含量 $<0.01\text{cfu/mL}$ 时,15 ~ 25 下观察期内出现肉眼霉变者占25%,因此必须严格控制洁净区环境质量,确保传瓶间、灌装室洁净度达10 000级,层流罩下洁净度达100级,以尽可能减少污染的可能性;另外,存放一段时间后再重新目检出厂,可以暴露大部分污染品,截留不合格产品出厂。霉菌目检检出率可以作为 HACCP 系统是否有效运行的一个重要验证指标。

2.8 建立实施 HACCP 系统 在以上研究基础上,针对每一个关键控制点建立了明确的控制措施、控制标准以及监测方法和纠正措施,制定了 HACCP 系统的详细实施计划,改在洁净级别符合要求的新车间投产,以及对包装材料灭菌工艺进行了改进。经过几个月的试运行,益生菌的含量、蛋白质、总糖等质量指标稳定,合格率100%,微生物污染率显著下降,表6为 HACCP 系统实施前后几组监测数据的比较。

表6 HACCP 系统实施前后几项量化指标比较

项 目	监测量	实施前	实施后	统计学检验
发酵液杂菌检出次数	次 40 批次	3	0	—
灌装环境相对湿度合格率	% 40 批次	20	100	—
灭菌后玻璃瓶杂菌阳性率	% 1800 瓶	12.83	0.95	$P < 0.001 (\chi^2 = 198.32)$
待包装半成品霉菌目检检出率	‰ 40 批次	$78.040 \pm 21.728 (50 \sim 124)^{(1)}$	$0.944 \pm 0.641 (0 \sim 2)^{(1)}$	$P < 0.001 (t = 6.847)$

注:(1)表示霉菌目检检出率范围

由此可以得出该系统行之有效,确保了终产品的安全质量。

3 讨论

3.1 生产用菌种的管理使用 作为一类生物性保健食品,其有效成分无论是活菌、死菌体抑或是菌体成分或代谢产物,都离不开菌种,都是由菌种扩大培养发展而得,是产品质量的直接保证,同时也是生产中的关键控制点。^[5]只有参照《生物制品规程》中有关筛选、质控、保存、使用等规定,才能生产出高质量的安全有效产品。

3.2 洁净环境的保证 由于产品的特殊性,对种子

室、灌装室的空气洁净级别要求较高,应在洁净度10 000级环境中,层流罩下100级的洁净室中进行,因此必须选择符合要求的厂房、设备设施,这不仅直接关系到工艺的正确与否与产品质量的优劣,而且对车间的合理布局,减少空间,确保环境质量带来直接的影响。本次 HACCP 系统实施过程中,改在厂房、设备等硬件设施满足洁净级别要求的新车间投产对确保产品卫生质量起了至关重要的作用。关于洁净环境的维持,一是人员应具有良好的无菌操作技术,二是消毒灭菌过程要经过验证。在无终末灭菌产品的生产中,环境的监测至关重要,这也是 GMP 的基本要求,但较复杂监测项目的结果不一定

能很好地反映出环境质量,过多的监测次数反而会由于采样人员、采样仪器的进入,破坏洁净质量,故认为通过环境的良好控制来代替监测次数的增加是比较合理的减少污染的方法。

3.3 HACCP 系统的实施 HACCP 是食品企业采取的保证食品安全的预防性管理系统,是目前控制食品安全的最有效和最高效的方法,在未来的全球食品贸易中,工厂是否采纳 HACCP 将起着举足轻重的作用。^[6,7]本次通过在试点企业建立和实施 HACCP 系统,产品微生物指标不合格率显著下降(待包装半成品霉菌目检检出率由原来的 50.0~124.3/10000 降至 0.0~2.0/10000),同时杜绝了倒罐、废弃整批产品等严重事件的发生,减少了不必要的检验成本,避免了大量物资、能源和人力浪费,因此认为该系统同国内外在其他领域的应用一样,可以有效、经济地保证产品安全质量,同时也为该类保健食品 GMP 的制定提供了一定的科学依据。

参考文献:

- [1] 袁佩娜. 微生态制剂的质量控制[A]. 见:中华预防医学会微生态学分会编. 第七届全国微生态学学术讨论会论文集. 1998, 47.
- [2] Haccp Analysis and Critical Control Point (HACCP) System and Guidelines for its Application[M]. Annex to CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997). Food hygiene supplement to volume 1B-1997, 19—26.
- [3] 卫法监发[1999]第 448 号. 消毒技术规范[S].
- [4] 国家药品监督管理局. 药品生产质量管理规范(1998 年修订)[Z]. 47—74
- [5] 康白. 双歧杆菌[M]. 大连:大连海事出版社, 1998, 179—182.
- [6] HACCP: Introducing the Hazard Analysis Critical Control Point system[Z]. WHO WHO/FSF/FOS/97. 2, WHO. Geneva 1997.
- [7] James W. HACCP seen as gateway[J]. Am Vet Med Assoc. 1999, 214(7):994—995.

The pilot study of HACCP system on probiotic health food/Li Xiaoyu, Wang Maoqi, Bao Dayue//Chinese Journal of Food Hygiene, 2001, 13(4):3~6

Abstract: In order to guarantee the safety and quality of probiotic health food, the system of HACCP was studied in a pilot factory. Probiotic seed control, culture sterilization, the control of fermentation and inoculation, packaging materials sterilization and the control of the filling process were determined as critical control points. Then a detailed implement plan of HACCP was made out based on some experiments and existing technological parameters. After trail-operation, the results show that the finished products maintain good quality, especially the detection rate of the contaminated molds has been significantly decreased from 50.0~124.3/10 000 to 0.0~2.0/10 000. It will also provide reference and scientific basis for drawing up Good Manufacturing Practice for Probiotic Health Food.

Author's address: Li Xiaoyu, the Institute of Food Safety Control and Inspection, Ministry of the Public Health, 100021 PRC.

Key Words: Dietary Supplements probiotic quality control

[上接第 2 页]

是说“大课题”太少,甚至是几乎难以见到,非常不利于我国小城镇、农村食品卫生工作面貌的改变。其实把农村的工作管好了,对城市,对全国的食品卫生工作有着举足轻重的作用,掺矿物油的大米、用瘦肉精饲料的猪肉等大量销往大中城市的食品不都是从农村及小城镇产生的吗?

本期内容丰富,既有关于国际的消息,如冉陆的“食源性致病菌及食源性疾病的监测动态”、李业鹏的“美国食品安全系统”,也有来自无锡市的“无锡市经营快餐外送单位的卫生状况调查”、“五起快餐引起食物中毒的调查分析”这样对新模式食品卫生问题的研究、分析。

现在我国绝大多数省份都已将卫生监督所和疾病预防控制中心分开。无论是卫生监督所还是疾控中心的来稿,我们都热忱欢迎。希望大家各自在新的工作岗位上根据新的工作性质、工作特点给我们提供内容丰富的稿件,我们等着您。