

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи



**ПАНАИТ АРТЕМ ИГОРЕВИЧ**

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОБЕСПЕЧЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ  
БЕЗОПАСНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ И ИХ КАЧЕСТВА  
С ПРИМЕНЕНИЕМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ**

4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Научный руководитель:  
доктор технических наук, доцент  
Суворов Олег Александрович

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ .....	2
ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1    Микробные биопленки – фактор риска для биобезопасности объектов пищевой промышленности .....	12
1.2    Особенности развития биопленки на различных поверхностях .....	15
1.2.1 Биопленка на твердой однородной поверхности в застойных зонах трубопровода, поверхностные свойства и гидродинамические условия регуляции ....	15
1.2.2 Биопленка на твердой пористой подложке на примере гидропонного покрытия и физические, биологические, химические методы дезинфекции в теплицах	17
1.2.3 Биопленка на подложке, содержащей питательный субстрат .....	19
1.3    Электрохимически активированные растворы как средство дезинфекции	21
1.4    Применение электрохимически активированных растворов для обеззараживания продукции и оборудования на пищевых предприятиях .....	23
1.5    Аэрозольная дезинфекция: технико-технологические особенности.....	33
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	39
2.1    Сканирующая электронная микроскопия (SEM) .....	39
2.2    Времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов (ToF-SIMS), гель- электрофорез, UV спектрометрия .....	40
2.3    Электрохимическая активация водных растворов .....	41
2.4    Моделирование обсемененности производственной среды .....	42
2.5    Анализ качества пшеничной муки, дрожжей и хлеба.....	42
2.6    Приготовление и анализ качества мясных рубленых полуфабрикатов ...	43
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	44
3.1    Разработка многофункционального циркуляционного реактора для формирования, исследования и дезинтеграции в контролируемых условиях бактериальной пленки (модель трубопровода) .....	44
3.2    Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной молочнокислыми бактериями (модель молокопровода) .....	48

3.3 Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной бинарной композицией микроорганизмов в условиях застойной зоны (модель конструктивного узла) .....	54
3.4 Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной на пористой поверхности керамзитовой гранулы (модель тепличного производства) .....	58
3.5 Разработка модели поверхности плодоовощной продукции, ультрамикроскопическое исследование структуры биопленки и степени ее дезинтеграции субмикронным аэрозолем ЭХА-воды, обеззараживание поверхности растительного сырья.....	61
3.6 Исследование метода безреагентного корректирования свойств пищевых сред (муки, дрожжей и хлеба) при использовании ЭХА-воды .....	70
3.7 Разработка метода повышения микробиологической безопасности продуктов питания из сырья животного происхождения (на примере мясных рубленых полуфабрикатов) при хранении, основанного на применении ЭХА-воды в рецептуре .	74
3.8 Исследование влияния ЭХА-воды на макронутриенты в водном растворе (белки, растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых в воде макронутриентов (липиды, полисахариды) .....	79
3.8.1 Исследование изменений свойств водного раствора белка под действием ЭХА-воды.....	80
3.8.2 Исследование изменений под действием ЭХА-воды свойств водного раствора полисахарида (агар-агар и модифицированный крахмал).....	91
3.8.3 Отработка метода взвешивания слоя биомолекул, полученного после высушивания капли раствора, нанесенной на измерительную головку кварцевого резонатора.....	97
3.8.4 Исследование изменений под действием ЭХА-воды свойств водной суспензии нерастворимого в воде полисахарида (крахмал) .....	100
3.8.5 Исследование изменений фосфолипида (фосфатидилхолина) и пищевых липидов под действием ЭХА-воды.....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	118

ПРИЛОЖЕНИЕ А – ПАТЕНТ НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ № 198829 «УСТРОЙСТВО  
ДЛЯ ОБРАБОТКИ ПЛОДООВОЩНОЙ ПРОДУКЦИИ ЖИДКОСТНЫМ КАПЕЛЬНЫМ  
ТУМАНОМ, ПРОИЗВЕДЕННЫМ ИЗ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ» ..... 135

ПРИЛОЖЕНИЕ Б – ПАТЕНТ НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ № 213020 «УСТАНОВКА  
ДЛЯ ПОДГОТОВКИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ» ..... 136

ПРИЛОЖЕНИЕ В – МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ  
ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОГО  
РАСТВОРА ..... 137

ПРИЛОЖЕНИЕ Г – АКТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ  
ИСПЫТАНИЙ, ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННОЙ АПРОБАЦИИ, ВНЕДРЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ  
НАУЧНОЙ РАБОТЫ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ И УЧЕБНЫЙ ПРОЦЕССЫ ..... 141



## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** В настоящее время значимой задачей пищевой индустрии является предотвращение образования во влажной среде на поверхности оборудования микробиологических пленок, представляющих собой колонии клеток в плотном матриксе. Образование биопленок приводит к усложнению технологического процесса и является угрозой микробиологической безопасности готовой продукции.

Альтернативой традиционным методам обеззараживания является обработка поверхности высокоэффективными и экологичными электрохимически активированными растворами (ЭХАР), обладающими широким диапазоном бактерицидного действия, вирулицидными и фунгицидными свойствами. Анализ возможности использования ЭХАР в качестве дезинфицирующего и/или технологического вспомогательного средства является важной задачей, решение которой позволит обеспечить биобезопасность на всех этапах производственного процесса: от подготовки сырья до хранения готовой продукции. ЭХАР имеют высокий потенциал применения в АПК и биотехнологической промышленности.

Значимость и способы решения проблемы повышения эффективности производства продуктов питания и улучшения их качества изложены в 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации» от 30 декабря 2020 года и Стратегии повышения качества пищевой продукции до 2030 года, утвержденной Правительством РФ № 1364-р от 29 июня 2016 года. Для достижения указанных в Законе и Стратегии целей важным является изучение и внедрение в практику общественного питания методов подавления бактериального загрязнения оборудования пищевого производства.

**Степень разработанности темы.** Исследования по применению ЭХАР в пищевой, биотехнологической и других отраслях промышленности были проведены в России, Китае, США, Японии, странах Европы такими учеными, как: В. М. Бахир, Н. Э. Ваннер, А. И. Мирошников, И. М. Осадченко, А. Г. Погорелов, А. А. Прокопенко, Т. А. Харламова, Т. Е. Cloete, N. D'Atanasio, T. Ding, M. I. Gil, Y.-C. Hung, Y. Nakamura, R. M. S. Thorn и другими. Вместе с тем не в полной мере изучено использование ЭХАР для удаления бактериальных биопленок, а также для целей технологической коррекции свойств пищевых систем. Экспериментальное обоснование электрохимической

активации воды и водных растворов как универсального технологического приема для решения множества задач на производстве пищевых продуктов обуславливает актуальность выполненного комплекса исследований.

**Цель работы** – на основе моделирования поверхностей производственных объектов, ультрамикроскопических исследований биопленок и безреагентного регулирования технологических свойств пищевых сред разработать эффективные и экологичные методы обеспечения качества и микробиологической безопасности производства продуктов питания с использованием электрохимически активированных растворов. Для достижения указанной цели были поставлены следующие основные задачи:

1. На основе анализа научно-технической литературы разработать экспериментальные модели поверхностей трубопроводов (водопровода, молокопровода), обосновать и выбрать методы исследования пищевых сред, позволяющие контролировать безопасность и эффективность технологических процессов.

2. Создать циркуляционный реактор – модель водопровода и молокопровода для моделирования условий биопленкообразования кишечной палочки *E. coli* и комплекса молочнокислых бактерий (МКБ), на этом примере изучить влияние ЭХАР на интенсивность роста и морфологические характеристики микроорганизмов в модельных средах и на технологических материалах, разработать метод дезинтеграции биопленки с помощью ЭХАР.

3. Разработать модель поверхности плодоовощной продукции для определения структуры биопленки и степени ее дезинтеграции посредством применения субмикронного аэрозоля анолитной и католитной фракций ЭХА-воды (среда «Сухой туман»), выявить эффективный режим подготовки к хранению и переработке безопасной плодоовощной продукции.

4. Изучить возможность регулирования свойств пищевых сред (на примере муки, дрожжей и хлеба) при использовании ЭХА-воды.

5. Разработать метод повышения микробиологической безопасности продуктов питания из сырья животного происхождения (на примере мясных рубленых полуфабрикатов) при хранении с применением ЭХА-воды в рецептуре.

6. Изучить влияние ЭХА-воды на макронутриенты в водном растворе (белки,

растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых в воде макронутриентов (липиды, полисахариды).

**Научная новизна.** Выявлена зависимость степени дезинтеграции биопленки от режима использования католитной и анолитной фракций ЭХАР, различающихся по химическому составу, значениям pH и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП).

Смоделированы условия очистки трубопровода от клеток МКБ и изучено влияние ЭХАР на интенсивность роста и морфологические характеристики *E. coli* и комплекса МКБ на модельных средах с использованием высокоэффективных методов анализа – сканирующей электронной микроскопии в режиме вторичных электронов (SEM) и времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (ToF-SIMS).

Установлена зависимость и механизм подавления жидкостным капельным ЭХА-туманом (среда «Сухой туман») и анолитом микробиоты сырья растительного происхождения на модели поверхности плодоовощной продукции.

Получены новые данные о влиянии ЭХА-воды на количество и качество клейковины, ее растяжимость и гидратацию, водоудерживающую способность (ВУС) муки, подъемную силу дрожжей, быстроту подъема теста и качество хлеба.

Получены новые данные о влиянии ЭХА-воды на уровень микробной контаминации мясных рубленых полуфабрикатов с сохранением влажности, массовой доли белка и жира.

Получены новые данные о вязкости растворов альбумина в ЭХА-воде, конформационных изменениях молекул белка.

На примере водного раствора агар-агара выявлено, что электрохимическая активация воды является способом снижения его вязкости без уменьшения концентрации основного вещества и/или введения добавок.

**Практическая значимость.** Разработаны многофункциональный циркуляционный реактор для формирования и исследования бактериальной пленки и новые методы ее моделирования на поверхностях производственных объектов (модели водопровода, молокопровода, конструктивного узла, тепличного производства) и плодоовощной продукции.

Разработан комплексный метод структурного исследования контактирующих с пищевыми средами материалов, тест-объектов, белков, липидов, полисахаридов на

основе применения SEM и ToF-SIMS, позволяющий контролировать микробиологическую безопасность и качество технологических процессов.

Создана экологически чистая система обеззараживания материалов, сырья и продуктов посредством использования ЭХАР, исключая вредное воздействие традиционно применяемых дезинфицирующих средств на организм человека.

Разработаны установка для подготовки водных растворов (Пат. №213020) и устройство для обработки плодоовощной продукции жидкостным капельным туманом (среда «Сухой туман») ЭХА-воды (Пат. №198829).

В условиях реального производства продуктов общественного питания (ФГБОУ ВО «МАИ (НИУ)», ООО «Оазис МСК») успешно проведена апробация разработанных технологических решений и режимов применения ЭХА-воды для обеспечения микробиологической безопасности и повышения качества пищевых продуктов. Результаты работы подтверждены актом внедрения в производство (ООО «РеалГрупп»).

Разработан способ безреагентной технологической коррекции ЭХА-водой свойств теста из муки пониженного качества за счет регулирования свойств пищевой системы путем изменения свойств ее водной основы без введения дополнительных пищевых добавок и улучшителей. В зависимости от содержания и качества клейковины используется анолитная или католитная фракция с заданными показателями ОВП и pH.

На основании лабораторно-производственных испытаний (АО «Черкизовский мясоперерабатывающий завод») определено, что применение ЭХА-воды в технологии мясных рубленых полуфабрикатов повышало их микробиологическую безопасность при хранении.

Результаты работы внедрены в учебный процесс Института пищевых систем и здоровьесберегающих технологий ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» и используются при подготовке бакалавров (по направлениям 19.03.04 «Технология продукции и организация общественного питания», 43.03.01 «Сервис»), магистров (19.04.04 «Технология продукции и организация общественного питания») и аспирантов (19.06.01 «Промышленная экология и биотехнологии»).

Результаты исследований использованы при реализации грантов, поддержанных Российским научным фондом (проекты № 16-16-00020, № 17-76-20014, № 20-16-00019).

**Методология и методы исследования.** Методика и практика работы построены на принципах обеспечения микробиологической безопасности материалов, продуктов и

процессов их производства с использованием электрохимических решений. Анализ структуры микрообъектов и оценку чистоты осуществляли методами сканирующей электронной микроскопии в режиме вторичных электронов (SEM; микроскоп JSM-6390A, Япония) и времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (ToF-SIMS; масс-спектрометр TOF-SIMS 5, Германия). Макронутриенты изучали гель-электрофорезом и UV спектрометрией (спектрофотометр Shimadzu UV-2401PC, Япония).

#### **Положения, выносимые на защиту:**

- научное обоснование выбора метода электрохимической активации воды и водных растворов для разработки способов дезинтеграции бактериальных биопленок и коррекции свойств пищевых систем;
- способ дезинтеграции под действием ЭХАР бактериальной биопленки, образованной *E. coli* и комплексом МКБ на поверхности модельных трубопроводов, технология тестирования эффективности способов дезинфекции с использованием методов структурного анализа (SEM, ToF-SIMS) биосистем;
- устройство и способ обработки плодоовощной продукции жидкостным капельным туманом анолитной фракции ЭХА-воды, полученным ультразвуковой генерацией субмикронных частиц;
- способы безреагентной коррекции свойств теста из муки пониженного качества и снижения уровня микробной контаминации мясных рубленых полуфабрикатов при сохранении влажности и соединений алиментарного значения с использованием ЭХА-воды;
- метод технологического регулирования ЭХА-водой вязкости жидких пищевых систем, включающих гидроколлоиды полисахаридной и белковой природы.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Результаты работы получены с использованием современного поверенного оборудования с последующей компьютерной статистической обработкой данных. Материалы диссертации были представлены на всероссийских и международных научно-практических конференциях: «Совершенствование рационов питания населения, фудомика, обеспечение качества и безопасности пищевой и кулинарной продукции» (Москва, 2023), «Актуальные вопросы биологической физики и химии» (Севастополь, 2023, 2022), «Прогрессивные технологии в индустрии питания» (Москва, 2022), «Теоретическая и экспериментальная

биофизика» (Пушино, 2022); «Приоритетные направления в разработке специализированной продукции для предприятий питания» (Москва, 2022), «Совершенствование рациона питания населения, обеспечение качества и безопасности кулинарной продукции» (Москва, 2021); «Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность – 2019» (Севастополь, 2019); BIOMEMBRANES 2018 («Биомембраны 18», Долгопрудный, 2018); «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2018).

По теме диссертации опубликовано 28 печатных работ, в том числе 8 статей в журналах, индексируемых Web of Science Core Collection или Scopus; 4 статьи в рецензируемых журналах из перечня, рекомендуемого ВАК; 2 монографии; 2 патента; 12 публикаций в сборниках научных трудов.

**Личный вклад автора** заключается в сборе и анализе литературных данных, планировании и проведении экспериментов, обработке и обобщении результатов исследований, оформлении диссертации и подготовке публикаций.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертация соответствует пунктам 3, 10, 26, 28 паспорта специальности 4.3.5 – «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, заключения, списка литературы и приложений. Работа изложена на 150 страницах, содержит 50 рисунков, 8 таблиц. Список литературы включает 159 источников, из них иностранных – 90. Структурная схема исследования приведена на рисунке 1.



Рисунок 1 – Структурная схема исследований

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Микробные биопленки – фактор риска для биобезопасности объектов пищевой промышленности

Серьезным вызовом для отраслей производства пищевых продуктов является образование биопленок, которые могут быть причиной контаминации продуктов [54, 67, 104, 111]. Строгое следование микробиологическим нормам на производстве не только обеспечивает безопасность выпускаемой продукции, но и препятствует адаптации бактерий к антимикробным препаратам и возникновению резистентных штаммов.

Микробиологическая контаминация оборудования и трубопроводов является постоянной проблемой для агропромышленного комплекса. Несмотря на высокий расход воды в сельском хозяйстве [91], используемая на предприятия вода во многих случаях не соответствует нормативным требованиям, в том числе по показателям органолептических свойств, жесткости, микробной обсемененности, уровню pH или различным сочетаниям этих факторов. Частой причиной этого является отсутствие современных систем водоснабжения в агрокомплексах, которыми вода подаётся из ближайшего открытого источника без необходимой водоподготовки [47, 49].

Большое значение для развития инфекции приобретают постоянно циркулирующие в водных источниках патогенные и условно-патогенные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, способные адаптироваться к различным абиотическим и биогенным факторам [31].

В статье [47] был проанализирован микробиологический состав как воды, используемой для выпаивания сельскохозяйственных животных, так и биоплёнок, возникающих на поверхностях трубопроводов. В исследованных образцах были обнаружены микроорганизмы с персистентными характеристиками, особо выраженные в бактериальной плёнке.

В системе распределения воды биопленки образуют экосистему, которая оказывает влияние на качество питьевой воды, изменяя её органолептические (вкус, цвет, запах) и физико-химические показатели, а также снижая уровень микробиологической безопасности. Бактериальные биопленки способны вызывать технические проблемы, например, ускорить коррозию металлических труб [115].



Появление биопленки на поверхности мембран для фильтров приводит к их засорению, что негативно сказывается на эффективности систем очистки, использующих мембранную фильтрацию [140].

В случае разрастания биопленки очистить трубопровод от биомассы бывает затруднительно. Степень смачивания поверхности водопроводных труб определяется ее «гидрофобностью». Показано, что гидрофобность твердых поверхностей влияет и на сцепление с ними бактерий. Большинство бактерий и других микроорганизмов имеют множество различных механизмов сцепления с поверхностью [56, 94].

В настоящее время определены нормативные критерии обеспечения микробиологической безопасности продуктов питания. Регламентированы количественные требования к наличию патогенных (*L. monocytogenes*, *Yersinia* и др.), условно-патогенных (*E. coli*, *S. aureus* и др.) и санитарно-показательных (КМАФАнМ, БГКП) микроорганизмов, микроорганизмов порчи (дрожжи и плесневые грибы, молочнокислые микроорганизмы) и других согласно ТР ТС 021/2011 [59].

Распространенной формой жизни микроорганизмов является биопленка. Биопленка формируется из экзополимеров, которые выделяют микроорганизмы, образуя внеклеточный матрикс. С помощью матрикса биопленка закрепляется на поверхности. Способность к адгезии является адаптивной реакцией, увеличивающей выживаемость в неблагоприятных условиях [41, 86, 145].

Также внеклеточный матрикс является фактором межклеточного взаимодействия [35, 36]. В биопленке микроорганизмы составляют 5–35 % массы, остальное – матрикс [38, 62]. Образование биопленок происходит в несколько этапов [10, 155]. По мере созревания биопленки из нее могут выходить отдельные клетки, которые с потоком жидкости могут перемещаться на расстояние и занимать другие поверхности (рисунок 2).

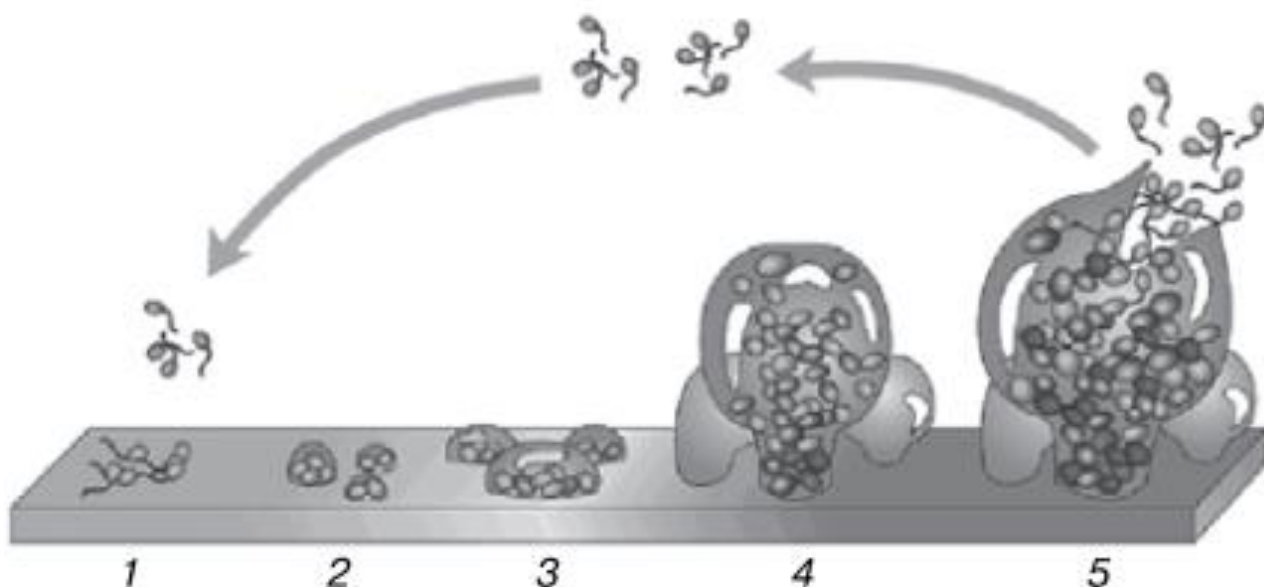


Рисунок 2 – Этапы формирования биопленки: 1 – первичная адгезия микроорганизмов к подложке, 2 – образование колоний, 3 – начало секреции полисахаридов, 4 – созревание пленки, 5 – выделение бактерий из зрелой пленки [56, 121]

При изменении внешних условий среды обитания (изменение кислотности, уровня кислорода, температуры) в неблагоприятную сторону адгезия у бактерий становится более выраженной и может влиять на переход от обитания в состоянии суспензии к их прикрепленной форме. В зрелой биопленке бактерии, сохраняя жизнеспособность, практически не делятся, в том числе и из-за пространственных ограничений, поскольку пролиферации препятствует внеклеточный матрикс [5]. Локально в зрелой биопленке происходит гидролиз полимерного матрикса, который индуцируется самими бактериями или внешними факторами.

Интерес вызывает поведение биопленки при локальном росте концентрации биоцидов в случае высыхания следов дезинфицирующего раствора после прекращения обработки [60], при этом его компоненты могут не проникать в клетки, насыщая среду и стимулируя формирование биопленок [10, 38, 41]. Сравнительный анализ различных способов обработки на биомассу биопленки приведен в ряде работ [58, 65, 135].

Известно, что биопленка реагирует только в том случае, когда молекула биоцида обладает реакционной способностью относительно вещества матрикса [89]. Например, диоксид хлора  $\text{ClO}_2$  благодаря сильной окислительной способности оказывает разрушающее действие на матрикс, а эффект сохраняется в широком диапазоне значений pH. При обработке препаратом не образуются побочные токсичные продукты.

Недостатком этого метода является нестабильность диоксида хлора, кроме того, для его получения на месте потребления требуется дорогостоящее оборудование. Таким образом, критерием новых средств борьбы с биопленками должен быть их метастабильный состав с повышенной реакционной способностью для эффективного преодоления биополимерного матрикса и разрушения клетки.

## **1.2 Особенности развития биопленки на различных поверхностях**

### **1.2.1 Биопленка на твердой однородной поверхности в застойных зонах трубопровода, поверхностные свойства и гидродинамические условия регуляции**

Система транспортировки и распределения жидкостей на агропищевых, биотехнологических или фармацевтических предприятиях включает большое количество соединений, разветвлений и различных движущихся частей [1, 42].

Гидродинамические и конструктивные особенности магистралей приводят к появлению застойных зон, где развиваются микроорганизмы. В производственных системах водоснабжения отвод воды достигается через тройник с двухходовым выпускным клапаном.

Этот конструктивный узел представляет собой пример создания застойной области, в которой накапливаются свободно плавающие бактерии, что провоцирует быстрый рост биопленки. Имеющиеся неровности создают идеальные условия для прикрепления жировых и белковых отложений с последующим прикреплением к ним микроорганизмов, что сопровождается развитием биопленки [47, 49].

Гидродинамические условия оказывают существенное влияние на развитие биопленки, например, ее развитие замедляется при постоянной скорости потока [102]. В цитируемой работе отмечено, что сформированная биопленка действует в качестве резервуара клеток, которые после отсоединения способны быстро занять новые поверхности.

Как показано на примере биопленки *P. fluorescens*, выращенной в турбулентном или ламинарном потоке в ячейке проточного реактора с подложкой из нержавеющей стали, гидродинамические параметры существенно влияют на фенотипические характеристики биопленок [146]. В данной работе изучали структуру, состав и

физиологию биопленки в различных гидродинамических условиях. Показано, что в условиях турбулентного потока клетки биопленки были значительно меньших размеров, отличались пониженной метаболической активностью, а также более низким содержанием белка и полисахаридов по сравнению с клетками биопленки, сформированной в ламинарном потоке.

По структуре и составу биопленки, генерируемые развитием популяций микроорганизмов, имели в два раза больше удельной массы на единицу поверхности и объемного количества клеток. Биопленки, растущие в ламинарном потоке, содержали более высокий уровень полисахарида в матриксе.

Сравнительный анализ посредством электронной микроскопии показал, что биопленки адаптируются к гидродинамическим условиям, формируя новую структуру и меняя физиологию [146].

Поверхностные свойства и гидродинамические условия, наряду с другими факторами (температура, pH и т. д.), могут быть использованы для регуляции образования биопленки [85]. В указанной работе сообщается, что благоприятные условия для формирования биопленки создаются в пристеночной «мертвой зоне», где регистрируется низкое напряжение механического сдвига за счет низкой скорости потока.

Для профилактики образования биопленок на стенках трубопровода необходимо создавать скорости потока жидкости 1,0–3,0 м/с, что не всегда возможно. При высокой скорости потока рост биопленки будет снижен, но это не исключает прикрепления бактерий к поверхности трубы.

Отметим, что в процессе дезинфекционной обработки важно обеспечить доступность всей поверхности технологической линии для дезинфицирующего агента. Поэтому дополнительную проблему представляет геометрия «мертвой зоны». Очистка и дезинфекция застойных зон - трудоемкая процедура, которая занимает значительное время, но не гарантируют результат даже при агрессивной химической или термической обработке [131].

С учетом особенностей агропищевых производств, актуальной является разработка принципиально новых как эффективных и экологических способов удаления биопленки.

### **1.2.2 Биопленка на твердой пористой подложке на примере гидропонного покрытия и физические, биологические, химические методы дезинфекции в теплицах**

Примером пористой подложки служат гранулы, которые используют в тепличном производстве в качестве гидропонного покрытия. Из литературы следует, что в закрытых теплицах на поверхности гидропонного покрытия развиваются микроорганизмы, вызывающие заболевания растений, нарушения в их росте и развитии. По мере увеличения биомассы микробной пленки интенсифицируется ее разложение и гниение ввиду дефицита субстратов и нарастающей гипоксии в объеме. Это создает проблемы с обеспечением микробиологической безопасности производимой продукции и снижает экономическую эффективность производства. К сожалению, увеличение концентрации антимикробных препаратов приводит к их накоплению в объеме обрабатываемого пористого материала, что создает возможность передачи токсикантов по пищевой цепочке [77].

Физические, биологические и химические методы дезинфекции применяют в тепличных хозяйствах для того, чтобы свести к минимуму появление патогенных микроорганизмов и применение пестицидов. Важным преимуществом использования нехимических средств обеззараживания является отсутствие вредных побочных продуктов и накопления бактерицидов в конечном продукте. Тем не менее, химическими дезинфицирующими средствами продолжают обрабатывать элементы гидропонной системы, например, резервуары, подводящие линии и излучатели, пленки покрытия.

Чтобы предотвратить рост микроорганизмов и снизить риск полного заражения, субстрат и проточную гидропонику систематически подвергают очистке и обеззараживанию различными методами:

#### физические:

- пропаривание (100° С, 6-14 ч) [49];
- электромагнитное излучение [28, 49];
- ультрафиолетовая обработка воды и поверхностей субстрата;
- мембранная фильтрация питательных растворов [96].

Нагревание или пастеризация питательного раствора до 95° С в течение 30 секунд является наиболее часто используемым методом в гидропонных системах. Использование УФ ламп также широко распространено, доказана их эффективность при дезинфекции циркуляционных систем [139, 149].

биологические методы:

- обработка средствами защиты растений микробного происхождения, например, биопрепарата трихозан на основе сухой спорово-мицелиальной массы гриба *Trichoderma viride*, иммобилизованной в хитин-хитозановый комплекс, а также продуцентов биопрепаратов Триходермин, Глиокладин – *Trichoderma lignorum*, *T.harzianum*. Продуценты известных препаратов Планриз – *Pseudomonas fluorescent* – являются активными антагонистами *Aphanomyces cladogamus* и *Pythium debaryanum*, *Bacillus subtilis* [2, 11].

химические методы:

- стерилизация субстратов химическими средствами [49];
- применение дезинфицирующих средств различной химической структуры, в том числе: на основе альдегидов (вирицид), перекиси водорода и дезпрепаратов на ее основе (виркон С, кикстарт), экоцида С [6, 33], хлорсодержащих дезинфектантов [96]; обработка 1-5 %-ным раствором формалина в течение 3-4 суток, при необходимости с добавлением пестицидов;
- промывание ирригационной системы 20 %-ой азотной кислотой, а затем слабым раствором  $K_2MnO_4$ ;
- озонирование [40, 96].
- применение электродиализатора с дополнительной ионообменной мембраной (в том числе мембраной с ионами серебра, обладающими бактерицидным действием) [63].

Каждый из перечисленных методов имеет свои преимущества и недостатки. Например, медленная фильтрация через песчаный фильтр очень эффективна при удалении грибов и бактерий, но может быть недостаточной против таких организмов, как вирусы и нематоды [148].

Фильтрация обычно является предварительной обработкой и используется в сочетании с другим методом дезинфекции.

### 1.2.3 Биопленка на подложке, содержащей питательный субстрат

Примером подложки, содержащей питательный субстрат, служат все биоорганические матрицы растительного и животного происхождения.

С точки зрения рисков микробиологического заражения фрукты, ягоды, зелень, салатные культуры относят к наиболее уязвимой категории пищевых продуктов, так как употребляются в пищу без термической, химической предобработки или грубого механического воздействия.

Адгезия патогенных бактерий к поверхностям, контактирующим с пищевыми продуктами, представляет серьезную опасность для здоровья, поскольку фрагменты биопленки загрязняют пищевые продукты и могут привести к вспышкам пищевых токсикоинфекций [72, 99]. Биопленки на поверхности растительной продукции, не подвергаемой воздействию высокой температуры, консервируются при замораживании, они более устойчивы к воздействию дезинфицирующих средств [61].

Показано, что прикрепленные к подложке микроорганизмы более устойчивы и адаптированы к антимикробным агентам и к воздействию неблагоприятных условий окружающей среды, чем планктонные клетки [100, 119]. Предполагают, что резистентность обусловлена комбинированным эффектом бактериального экранирования, характерным для биопленки. В дальнейших исследованиях обнаружили, что уровень выживаемости бактериальных биопленок в значительной степени зависит от способа применения дезинфицирующего средства [127].

У бактерий выше сродство к неровной и гидрофобной поверхности, где они остаются вне действия водных дезинфицирующих средств. Существующие в отрасли методы, например мытье продуктов в отстойниках, способствуют интернализации патогенного микроорганизма или перекрестному загрязнению.

При производстве плодоовощной продукции широко используются антимикробные средства с целью предотвращения микробного заражения растений при их выращивании, хранении и переработке. Большинство современных подходов к санитарной обработке фруктов и овощей включают использование нетермических методов, позволяющих избежать нежелательных эффектов термической обработки.

Эти методы включают в себя: озонирование, обработку ультразвуком, высоким гидростатическим давлением, использование электролизованной воды, гамма-радиации

и нетермической плазменной технологии [120], ионизирующего излучения [51, 68], электромагнитных полей крайне низких частот [46]; хранение в газовых модифицированных средах [51].

По сравнению с химической дезинфекцией, данные методы безопасны для окружающей среды и эффективны при окружающей или сублетальной температуре [128, 154]. Большинство из этих методов работают, генерируя свободные радикалы, которые способны уничтожать микробы и окислять остатки пестицидов. Более того, эти методы оказывают менее вредное влияние на пищевую ценность продуктов [110, 122].

Пищевые инфекции возникают в различных звеньях пищевой цепи поэтому, для их устранения требуется понимание основных факторов, определяющих загрязнение, и осуществление надлежащих мер контроля [75]. Распространенность болезней пищевого происхождения постоянно растет. В США, *Escherichia coli* O157:H7 вызвала несколько вспышек заболеваний, связанных с употреблением в пищу минимально обработанных продуктов. При использовании технологии охлаждения рекомендуются температуры, близкие к образованию льда в обрабатываемой продукции [75]. При этом следует исключить замораживания продукта в течение дальнейшего хранения.

Шпинат и салат создают повышенный риск заражения, а повторяющиеся случаи свидетельствуют о недостаточности современных стратегий дезинфекции пищевых продуктов. Альтернативу промышленным бактерицидам представляет натуральные вещества, например органические кислоты (яблочная, винная, молочная) и экстракт виноградных косточек, в сочетании с методом нанесения посредством электростатического распыления на продукцию, что обеспечивает равномерное распределения препарата. Образцы шпината и салата промывали, дезинфицировали раствором гипохлорита натрия ( $6,25 \text{ мг/дм}^3$ ), погружали в воду, содержащую *E. coli* ( $7,0 \log \text{ КОЕ/см}^3$ ), в течение 24 часов, и снова промывали стерильной водой для удаления несвязанных патогенов.

Затем образцы электростатически опрыскивали органическими кислотами по отдельности или в комбинации с фосфорной кислотой и хранили при  $4^\circ \text{ C}$ . Обработка кислотами показала снижение *E. coli* на  $2,1-4,0 \log \text{ КОЕ/г}$  на шпинате, а также снижение на  $1,1-2,5 \log \text{ КОЕ/г}$  на салате. Обработка фосфорной кислотой и экстрактом виноградных косточек показала ингибирование *E. coli* в кишечнике со шпинатом от  $1,1$  до  $2,1 \log \text{ КОЕ/г}$  в течение 14-дневного хранения.



Результаты продемонстрировали эффективность электростатического распыления и показали, что эта технология может быть использована для улучшения распределения и применения противомикробных препаратов во время санации свежих продуктов. Относительно простой и быстрый процесс позволяет получить доступ ко всей поверхности продукта и обеспечить защиту от пищевых патогенов. Электростатическое опрыскивание яблочной и молочной кислотами в смеси с экстрактом виноградных косточек или без него показало свою эффективность для снижения риска возникновения постконтаминационных проблем со шпинатом и салатом [103].

Среди средств химической дезинфекции овощей эффективны гипохлорит натрия, подкисленный хлорит натрия, пероксид водорода, четвертичные аммониевые соединения, тринатрия фосфат, озонирование и обработка диоксидом хлора [68].

При исследовании образцов салата в течение установленного срока хранения (7 суток) наблюдалось постепенное повышение уровня микробной контаминации. Однако в промышленных партиях салатов, обработанных анолитом, количество образцов, не соответствующих стандарту, было в 2 раза меньше по сравнению с традиционным способом обеззараживания. Несмотря на наличие нескольких способов обработки свежих овощей, фруктов, салатов следует отметить, что у каждого из них есть свои сильные и слабые стороны, и некоторые не всегда могут быть применены в реальном технологическом процессе [68].

Однако учитывая актуальность проблемы пищевой безопасности, исследования по оценке эффективности средств обеззараживания свежей продукции остаются актуальными.

### **1.3 Электрохимически активированные растворы как средство дезинфекции**

Электрохимически активированные растворы (ЭХАР), обладая антимикробной активностью широкого спектра, имеют потенциал для широкого применения как из-за низкой стоимости необходимых ингредиентов, так и из-за простоты производства (удаленно или на месте) в индустрии питания, сельском хозяйстве, биотехнологии и пищевой и других отраслях промышленности, организациях здравоохранения. Перевод растворов солей с низким содержанием минералов в активированное метастабильное состояние за счет электрохимического униполярного действия дает раствор,

содержащий множество окислителей, включая хлорноватистую кислоту, свободный хлор и свободные радикалы, которые обладают антимикробными свойствами. В мировой практике ЭХАР зарекомендовали себя под названием «электролизованная вода».

В 2015 году группой ученых из Мариборского университета (Словения) Pintaric R, Matela J. и Pintaric S. была изучена пригодность электролизованной окислительной воды для дезинфекции твердых поверхностей и оборудования в радиологии [129]. Ожидалось, что выбранные дезинфицирующие средства будут обладать такими свойствами, как быстрое, безостаточное действие без какого-либо вредного воздействия на сенсорное электронное оборудование. Наличие микроорганизмов до и после обработки регистрировалось с помощью осаждения и циклонного отбора проб воздуха.

Исследования показали, что использование электролизованной окисляющей воды для дезинфекции воздуха и твердых поверхностей может значительно снизить присутствие микроорганизмов и, как следствие, возможность госпитальных инфекций. Таким образом, применение аэролизации биоцидов доказало свою эффективность и безопасность. Кроме того, не были зафиксированы возможные повреждения в открытых устройствах или вред для персонала [129].

В работе [124] было изучено применение слабокислой электролизованной воды (СЭВ) для обеззараживания поверхностей из нержавеющей стали в транспортных средствах для перевозки животных. Оценена эффективность воды в уменьшении количества *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurim*, *Staphylococcus aureus*. Также произведена оценка бактериальных смесей на поверхностях из нержавеющей стали.

Поверхности из нержавеющей стали инокулировали, а после опрыскивали слабокислой электролизованной водой (СЭВ), щелочной электролизованной водой (ЩЭВ) или композитным фенолом в течение 0,5, 1, 1,5 и 2 мин. Бактерицидная активность СЭВ возрастала с увеличением концентрации свободного хлора и продолжительности распыления. Раствор слабокислой электролизованной воды показал значительно более высокую эффективность, чем смесь растворов фенолов. Полная инаktivация патогенных микроорганизмов на поверхностях из нержавеющей стали наблюдалась после обработки последовательно ЩЭВ и СЭВ при концентрации 50 мг/дм<sup>3</sup> свободного хлора в течение 2 минут. Также был рекомендован режим обработки: 90 мг/дм<sup>3</sup> в течение 30 секунд.

Определена эффективность слабокислой электролизованной воды в снижении общего количества аэробных бактерий и в транспортных средствах для перевозки животных. Транспортные средства в дезинфекционной кабине обрабатывали той же самой СЭВ, щелочной электролизованной водой и смешанными фенольными растворами с использованием автоматической системы дезинфекции. Образцы с поверхностей транспортных средств собирали стерильными ватными дисками до и после каждой обработки. Не наблюдалось значительных различий в бактерицидной эффективности между СЭВ и смесью растворов фенола для уменьшения общего количества аэробных бактерий в транспортных средствах ( $P > 0,05$ ).

Слабокислая электролизованная вода также оказалась более эффективной при использовании в сочетании с водой, подвергнутой щелочному электролизу. Результаты показали, что бактерицидная эффективность СЭВ была выше или эквивалентна эффективности смешанных фенольных растворов. Поэтому слабокислую электролизованную воду можно использовать в качестве эффективной альтернативы для снижения микробного загрязнения транспортных средств для перевозки животных [124]. Также была изучена эффективность моющего действия щелочной электролизованной воды на никелевые поверхности [150].

Многочисленные исследования [3, 8, 46, 64, 73, 88, 92, 147, 153] показали высокую эффективность ЭХАР, как нового дезинфицирующего средства, так и и местного лечебного средства (с низкой сопутствующей токсичностью), но они все еще не получили широкого распространения. На следующем этапе работы были проанализированы данные о потенциальных направлениях применения ЭХАР в пищевой промышленности.

#### **1.4 Применение электрохимически активированных растворов для обеззараживания продукции и оборудования на пищевых предприятиях**

Учеными национального университета Мексики было исследовано применение электролизованной воды в качестве дезинфицирующего средства в пищевой промышленности и производстве продуктов животного происхождения [138]. Показано, что спрос на продукты питания увеличивается с каждым годом, и, как правило, продукты животного происхождения производятся вдали от мест потребления.

Разрабатываются новые технологии для сохранения качественных характеристик при переработке и транспортировке. Одной из них является применение электролизованной воды (ЭВ), которая помогает избежать развития болезнетворных микроорганизмов пищевого происхождения или уменьшить его.

Первоначально ЭВ использовалась в готовых к употреблению продуктах, таких как шпинат, салат, клубника и другие; однако ее применение в других продуктах изучается. Каждый продукт обладает уникальными характеристиками, которые требуют рационального использования ЭВ. Были разработаны различные дезинфицирующие средства; к сожалению, их применение может давать нежелательные результаты, такие как ухудшение качества или изменение органолептических свойств продукта.

Таким образом, ЭВ набирает популярность в пищевой промышленности благодаря своим характеристикам: простота применения и хранения, экологичность, отсутствие коррозии рабочих поверхностей, отсутствие раздражения слизистой оболочки у сотрудников, контактирующих с пищевыми продуктами.

В работе [138] подчеркиваются преимущества использования ЭВ в целях обеспечения качества и безопасности продуктов и сырья животного происхождения. В России данным направлением занималась группа ученых под руководством Ваннер и Прокопенко [8, 52].

Meireles разработаны методы дезинфекции, альтернативные применению хлора, для использования в производстве свежих овощей [118]. Обработка хлором может вызывать проблемы со здоровьем. Его использование в виде хлорноватистой кислоты и гипохлорита запрещено в некоторых европейских странах из-за потенциального образования токсичных побочных продуктов, таких как хлороформ, тригалометаны, хлорамины и галоуксусная кислота.

Альтернативой хлорной дезинфекции может быть использование комбинированных методов обеззараживания [3, 7, 81, 106, 118, 137].

В работе [108] модельной поверхностью служила нержавеющая сталь, применяемая в молочной промышленности; были использованы следующие роды и виды бактерий: *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* и *Micrococcus luteus*. Это исследование было направлено на оптимизацию комбинированного воздействия щелочной электролизованной воды (ЩЭВ) и нейтральной электролизованной воды (НЭВ). Оба раствора контактировали с поверхностью из нержавеющей стали в течение

30 с. Произведена оценка комбинированного эффекта очистки ЩЭВ с последующей дезинфекцией НЭВ (концентрация общего свободного хлора 0,004 %, время контакта 3 мин).

По результатам тестов количество удаленных клеток составляло  $3,90 \pm 0,25 \log$  КОЕ/см<sup>2</sup> для электрополированной стали и  $3,20 \pm 0,20 \log$  КОЕ/см<sup>2</sup> для образцов без электрополировки. Таким образом, электролизованная вода не вызывает коррозии и может успешно использоваться для экологически безопасных процессов очистки и дезинфекции [108].

Ferro, Amorico и Deo из Австралии была изучена роль дезинфицирующих средств для обеззараживания пищевых продуктов с целью достижения «жизнеспособного, но некультивируемого» состояния микроорганизмов. Вспышки болезней пищевого происхождения ученые рассматривают как поражающие двух или более людей, коррелированные с точки зрения пространства и времени, в результате приема внутрь этиологических агентов, присутствующих в обычных продуктах питания. При этом готовые к употреблению пищевые продукты обычно не подвергаются обработке, направленной на минимизацию микробной нагрузки. В то же время у микроорганизмов разработаны механизмы, позволяющие противостоять неблагоприятным условиям окружающей среды и бороться за выживание, в том числе способность снижать подверженность внешнему воздействию за счет обратимого изменения морфологии и физиологии своей клетки. Последующая «реанимация» этих организмов в благоприятной пищевой среде может представлять серьезный риск для здоровья населения [98].

Изучена дезактивация аэрозольных бактерий на свиноферме с использованием электрохимически активированного раствора с нейтральным pH (анолит ECAS4) [151], который был получен путем электролиза разбавленного раствора хлорида натрия в четырехкамерной электролитической ячейке. Для заполнения окружающей среды туманом (капли диаметром 1-5 мкм), содержащим 0,25 ppm хлорноватистой кислоты, использовался ультразвуковой увлажнитель воздуха. Инновационная обработка проб красителем моноазид пропиция в сочетании с циклонным отбором проб воздуха была оптимизирована и адаптирована для распознавания живых/мертвых бактерий на последующих этапах молекулярного количественного анализа.

Без обеззараживающего затуманивания общая бактериальная нагрузка колебалась от  $5,06 \pm 0,04$  до  $5,75 \pm 0,04$  lg КОЕ/м<sup>3</sup>. После первого часа туманообразования наблюдалось 78 %-ное общее уменьшение количества бактерий, которое затем составило > 97 % после второго часа, > 99,4 % после третьего и около 99,8 % после четвертого. В отличие от действующего протокола дезинфекции спреем формальдегида, который требует длительного периода последующего «простоя» из-за его опасных свойств, предложенный экономически жизнеспособный и экологически чистый протокол дезинфекции на основе анолита может значительно сократить время «простоя» при гарантированном снижении уровня бактериальной нагрузки. Более того, система аэрозольной обработки анолитом может быть легко адаптирована для множества применений, включая удаление патогенов из воздушной среды животноводческой фермы для предотвращения болезней и дезактивацию микроорганизмов после вспышек болезней [151].

Feliziani, Lichter, Smilanick, Ippolito из университета Бари, Италия были исследованы дезинфицирующие средства для борьбы с заболеваниями фруктов и овощей, обеззараживание которых после сбора урожая является необходимым первым этапом обработки и может являться преимуществом, так как предотвращает гниение при хранении [97].

Группой ученых под руководством Gil из Испании был изучен потенциал электролизованной воды в качестве альтернативного дезинфицирующего средства при переработке свежих овощей [106]. Технологии, способные обеспечить эффективную дезинфекцию технологической и оборотной воды, позволяют сократить объем сточных вод и будут оказывать меньшее воздействие на окружающую среду.

Среди химических дезинфицирующих средств наиболее широко используются гипохлориты. Было продемонстрировано, что электрохимическая дезинфекция промывочной воды является эффективной в устранении широкого спектра микроорганизмов в технологической воде.

Al-Holy и Rasco [73] исследовали бактерицидную активность кислой электролизованной окисляющей воды (КЭ-ОВ) по отношению к микроорганизмам на поверхностях сырой рыбы, курицы и говядины. В эксперименте оценивали бактерицидную эффективность КЭ-ОВ с рН 2,30 и свободным хлором 0,0038 %. Обеззараживающий эффект КЭ-ОВ и ДВ был протестирован в течение 0 (контрольный

образец), 1, 3, 5 и 10 минут при 22° С. При использовании КЭ-ОВ уровень снижения составил примерно 1,5–1,6 log для *E. coli O157:H7* и *S. typhimurium* в инокулированных пищевых продуктах. Однако КО-ЭВ проявила меньший бактерицидный эффект против *L. monocytogenes* (снижение на 1,1–1,3 log) [73]. Данный вопрос прорабатывался и другими учеными [109, 117, 141].

Thorn, Pendred, и Reynolds [153] была проведена оценка противомикробного потенциала аэрозольных электрохимически активированных растворов (ЭХАР) свежих продуктов, хранящихся в охлажденных (огурцы и томаты) или холодильных (руккола и брокколи) условиях. Обработка ЭХАР ( $1100 \pm 5$  мВ ОВП;  $50 \pm 5$  мг/дм<sup>3</sup> свободного хлора;  $2,7 \pm 0,1$  ед. рН) привела к значительному логарифмическому снижению количества клеток *E.coli*, извлеченных из руколлы (2,644 lg КОЕ/г), брокколи (4,204 lg КОЕ/г), огурцов (3,951 lg КОЕ/г) и помидор (2,535 lg КОЕ/г) через 5 суток [153].

Aday [71] было проанализировано влияние на качество собранных грибов электролизованной воды (ЭВ) в концентрациях 5, 25, 50, 100 мг/дм<sup>3</sup> в сочетании с упаковкой в модифицированной газовой среде на качество грибов. Грибы хранили в течение 12 суток при температуре 4° С, регулярно определяя состав газа внутри упаковки, потерю веса, рН, индекс белизны и потемнения, анализ профиля текстуры. Обработка ЭВ в концентрациях 25 и 50 мг/дм<sup>3</sup> сохраняла текстурные параметры и замедляла потерю веса лучше, чем другие способы. Подтверждена эффективность комбинированного использования ЭВ и упаковки в модифицированной газовой среде для продления срока хранения грибов [71].

Группой ученых из Южной Кореи [116] было изучено комбинированное воздействие слабокислой электролизованной водой (СК ЭВ) и фумаровой кислоты (ФК) по отдельности и в их комбинации для снижения содержания *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и *Salmonella typhimurium* в охлажденной свинине. Также изучался срок хранения и органолептические показатели качества (цвет, запах и консистенция) свинины при хранении при 4 и 10° С.

Образцы инокулированной свинины (10 г) погружали на 3 мин при каждой обработке (водопроводная вода (ВВ), СК ЭВ, сильноокислая электролизованная вода, 0,5 % ФК или СК ЭВ + 0,5 % ФК) с умеренным нагревом (40° С) или без него. Обеззараживание охлажденной свинины СК ЭВ + 0,5 % ФК при 40° С в течение 3 мин показало больший бактерицидный эффект по сравнению с другими видами обработки.

Эффективность этой комбинации значительно ( $P < 0,05$ ) снизила уровень *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus* и *S. typhimurium* на 2,59, 2,69, 2,38 и 2,99 log КОЕ/г, соответственно. Смесь слабокислой электролизованной воды и фумаровой кислоты также пролонгировала срок хранения свинины до 6 и 4-5 суток при хранении при 4° С и 10° С, соответственно, по сравнению с необработанной свининой. Результаты показывают, что комбинированная обработка СК ЭВ + 0,5 % ФК имеет потенциал как новый метод повышения микробной безопасности и качества охлажденной свинины [116].

Вопросы применения предварительной обработки с использованием слабокислой электролизованной водой на качество и срок хранения мяса бомбейской утки рассматривались в работе [79].

Ghorban с соавторами показали наличие антимикробной активности у электролизованной окисляющей воды (ЭОВ) при предобработке лосося с сохранением качества конечного продукта. Обработка ЭОВ сырого филе лосося до его холодного копчения при температуре 40° С снизила количество *L. monocytogenes* на 2,85 lg КОЕ/г. Органолептический анализ дегустационной комиссией не выявил значимых отличий между контрольными и опытными образцами [105].

Исследовано [125] влияние электролизной воды с нейтральным pH на микробиологическое загрязнение свежих листьев шпината. Во всем мире растет спрос на использование безопасных, эффективных и экологически чистых дезинфицирующих средств для послеуборочной обработки свежих продуктов с целью уменьшения порчи и патогенов пищевого происхождения. Проводили сравнение эффективности pH-нейтральной электролизованной окисляющей воды (ЭОВ) с эффективностью дезинфицирующего средства на основе пероксиуксусной кислоты (Ecolab Tsunami (R) 100). Цель заключалась в снижении общей микробной нагрузки и инокулированных *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enteritidis* и *Listeria* на молодых листьях шпината после сбора урожая в течение 10 суток.

Влияние дезинфицирующих средств на общее качество листьев шпината во время хранения также оценивалось с помощью определения срока годности и содержания витамина С. ЭОВ в концентрации 0,005 % и 0,0085 % значительно снизила бактериальную нагрузку по сравнению с обработанными водопроводной водой или необработанными (контрольными) листьями (примерно в 10 раз меньше). Очевидного



вредного воздействия обработки 0,005 %-ным раствором Ecolab Tsunami (R) 100 или ЭОВ в концентрации 0,005 % и 0,0085 % на внешний вид листьев шпината не выявлено. Обработанные водопроводной водой и необработанные листья показали некоторое пожелтение и шелушение. Учитывая её безопасность, эффективность и экологичность, ЭОВ может стать жизнеспособной альтернативой химическим дезинфицирующим средствам для послеуборочной обработки свежих продуктов [125]. Аналогичные вопросы рассматривались в работах [4, 70, 95].

В Университете Цзянси [144] показано, что слабокислая электролизованная вода является эффективным средством пролонгирования срока годности говядины при температуре 4° С на 8 суток.

Группа исследователей под руководством Chen [80] изучила результаты промывания краснокочанной капусты кислой электролизной водой (КЭВ). Свежесрезанные и искусственно зараженные *Salmonella typhimurium* DT104 образцы промывали дистиллированной водой (ДВ) или кислой электролизной водой в течение разного времени. Обработка КЭВ значительно снизила популяции нативных аэробных бактерий, плесеней и дрожжей, а также искусственно инокулированных *S. typhimurium* DT104 по сравнению с обработанными ДВ и необработанными образцами краснокочанной капусты. Эффективность КЭВ была значительно выше с увеличением времени обработки. Бактерии *S. typhimurium* DT104 не обнаруживались в промывочной воде, собранной после обработки красной капусты КЭВ.

Цвет поверхности, pH и общее содержание фенолов существенно не изменились, когда капуста была промыта ДВ и КЭВ, содержащими 100 мг/дм<sup>3</sup> свободного хлора, в течение 3 минут. Содержание антоцианов и антиоксидантная активность капусты были значительно снижены на 18,5 % для цианидина, на 22,1 % для пеларгонидина и на 11,2 % для активности по улавливанию радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил. В этих условиях большая часть нативной микрофлоры была инактивирована, а количество искусственно инокулированных *S. typhimurium* DT104 на краснокочанной капусте снизилось на 40,2 % (3,67 lg КОЕ/г). Минимальные потери питательных веществ и антиоксидантная активность также снизилась. Из этого следует, что нет необходимости промывать капусту проточной водой после обработки кислой электролизной водой [80].

Группой ученых под руководством Wilsmann [156] из Бразилии было доказано бактерицидное действие электрохимически активированной воды по отношению к

*Salmonella heidelberg*, выделенной из домашней птицы. *Salmonella spp.* являются одними из наиболее важных патогенов в птицеводстве, а *Salmonella heidelberg* (SH) - один из наиболее частых серотипов, выделяемых в Бразилии. SH обладает зоонозным потенциалом и выделяется как патоген, который трудно исключить из цепочки птицеводства из-за его устойчивости к дезинфицирующим средствам. Обсуждаемое исследование направлено на оценку эффективности ЭХА против 30 изолятов SH, выявленной из птицы в разных вариантах, имитирующих среду охлаждения (4° С, 5 и 50 ppm, 5 и 40 минут воздействия), а также на очистку и процесс дезинфекции (25° С, 200 ppm, выдержка 5 и 10 минут). В количественном тесте SH был восприимчив к ЭХА.

Группой исследователей из Австралии [125] были изучены результаты применения нейтрально-электролизованной окислительной воды (ЭОВ). Микробную нагрузку (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* и *Listeria innocua*) и качество листьев молодого шпината или салата оценивали в течение 7 суток. Орошение водой, содержащей ЭОВ или NaClO при 50 мг/дм<sup>3</sup> свободного хлора, значительно снизило инокулированную бактериальную нагрузку на 1,5 lg, тогда как орошение водопроводной водой снизило инокулированную бактериальную нагрузку в среднем на 0,5 lg при сравнении с необработанными листьями. В то же время наблюдались негативные эффекты орошения NaClO на внешний вид листьев обоих растений, включая тяжелые зоны некроза и пожелтение/потемнение листьев. Таким образом, ЭОВ может служить жизнеспособной альтернативой дезинфицирующим средствам на химической основе для дезинфекции перед уборкой овощей, подлежащих минимальной обработке [125].

Изучены [112] результаты применения воды, активируемой плазмой (АПВ) и СЭВ, при оттаивании говядины. АПВ и СЭВ предложены в качестве сред для размораживания и обеспечения микробиологической безопасности, а также сохранения качественных характеристик говядины. Показано, что при сравнении с размораживанием в воздушной среде оттаивание в АПВ и СЭВ характеризовалось эффективной инаktivацией бактерий, грибов и дрожжей. При этом изучаемое водное оттаивание отрицательно не влияло на физико-химические и органолептические свойства говядины. Окисление липидов и белков при оттаивании в АПВ и СЭВ было менее выражено.

В сравнительном исследовании с оценкой обычно применяемых способов размораживания методы АПВ- и СЭВ-оттаивания характеризовались эффективной

стерилизацией говядины по бактериям, грибкам и дрожжам; степень инаktivации биологических микроорганизмов находилась в пределах 0,83-1,76 log. Указанные способы оттаивания не изменяли органолептические и физико-химические свойства говядины и приводили к меньшей, чем воздушная, водная и микроволновая разморозка степени окисления белков и липидов; структура белков говядины сохранялась лучше [112].

Проанализировано [158] влияние СК ЭВ на микробиологическую безопасность и срок хранения яиц (30 сут при 25° С) за счет инаktivации *Salmonella enteritidis* и *Escherichia coli*. Образцы для испытаний на обеззараживание инокулировали и погружали на 1, 2, 3 и 4 мин при обработке каждого типа (СК ЭВ, кислотная электролизованная вода, раствор NaClO и стерильная деионизированная вода) при свободных концентрациях хлора 10, 18 и 26 мг/дм<sup>3</sup>. Обеззараживание яиц с помощью СК ЭВ показало эквивалентный или более высокий бактерицидный эффект по сравнению с другими методами обработки. Полная инаktivация *S. enteritidis* и *E. coli* на поверхности образцов яиц была результатом обработки СК ЭВ при концентрации хлора равной 26 мг/дм<sup>3</sup>. Практически на все исследованные параметры качества яиц значительно ( $P < 0,05$ ) повлияло время хранения. По мере увеличения времени хранения индекс желтка и величина единицы Хау уменьшались, а потеря веса, рН белка и рН желтка увеличивались. Однако обработка слабокислой электролизованной водой минимизировала потерю веса (на 5,52 %) и сохраняла качество белка и желтка лучше, чем в варианте без обработки СК ЭВ при 25°С. По сравнению с кислотной электролизованной водой и раствором NaClO преимущества слабокислой электролизованной воды заключались в уменьшении степени изменений поверхности яйца [158].

Pinto, Baruzzi и Ippolito [130] исследовали последние достижения в борьбе с микроорганизмами, вызывающими порчу, при мытье фруктов и овощей в воде. В последнее время электролизованная вода (ЭВ) была оценена как альтернативное средство контроля микробного загрязнения во время промывки. В данной работе рассмотрены результаты применения ЭВ для контроля жизнеспособности микробов, ответственных за развитие гниения во время хранения. Обработка ЭВ свежего салата, погруженного в воду, загрязненную микроорганизмами, уменьшила количество *Pseudomonas spp.* примерно на log КОЕ/г, тем самым отсрочила симптомы порчи,

которые возникли на ранней стадии у необработанных овощей. В работе было показано, что использование электролизованной воды может снижать количество микроорганизмов в проточной воде, уменьшать явления перекрестного загрязнения и замедлять гниение фруктов и овощей [130].

Группой ученых под руководством Liu из Сингапура была изучена обработка кислой электролизной водой ( $4 \text{ мг/дм}^3$  хлора) в сочетании с умеренным нагревом ( $50^\circ \text{C}$ ) для дезинфекции брокколи (*Brassica oleracea*). Указанная обработка позволила добиться максимального снижения количества встречающихся в природе микроорганизмов и патогенов, включая инокулированные *Escherichia coli* O157:H7 и *Listeria monocytogenes* ( $P < 0,05$ ) [113].

Учеными из государственного университета Китая [157] было исследовано консервирование кальмаров слабокислым электролизным водяным льдом. Кальмар считается здоровой пищей для потребителей из-за его высокой питательной ценности. Целью данного исследования было изучение влияния слабокислого электролизованного водяного льда (ЭО-лед) на сохранность кальмаров. Были исследованы пять способов обработки (необработанные; кальмары, обработанные водой из-под крана и положенные на лед или ЭО-лед; кальмары, помещенные в слои льда водопроводной воды или слои ЭО льда). Была проведена оценка изменений органолептических показателей, микробной нагрузки, значения pH, содержания тиобарбитуровой кислоты.

Результаты показали, что ЭО-лёд более эффективно сохранял качество кальмаров во время хранения, чем лёд из водопроводной воды. Общее количество бактерий было значительно снижено на  $1,46 \pm 0,10 \text{ lg КОЕ/г}$ , в обработанных ЭО-льдом образцах, обеспечивался относительно медленный рост числа микроорганизмов во время хранения. Также было замечено, что обработка ЭО-льдом задерживает появление потемнения и размягчения продукта, ингибирует увеличение перекисного числа и поддерживает относительно низкое содержание тиобарбитуровой кислоты. Экспериментальные данные показали, что ЭО-лед может обеспечить микробиологическую безопасность и контролировать ухудшение качества кальмаров во время хранения, что может быть новым подходом, заслуживающим дальнейшего изучения [157].

Изучен вопрос [90], касающийся повышения срока годности фруктов и овощей, которые были минимально обработаны. В последние годы стало актуально покупать

готовые к употреблению продукты. Объем рынка свежих и минимально обработанных фруктов и овощей быстро вырос. В результате этого произошли изменения отношения потребителей к приготовлению салатов для свежей и здоровой пищи. Авторами представлен всесторонний обзор по пролонгации срока годности и повышению качества минимально обработанных овощей/фруктов, начиная с традиционных технологий и заканчивая наиболее перспективными разработками [90].

Cloete с соавторами [82] был исследован механизм антимикробного действия электрохимически активированной воды по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*. Показано, что анолит вызывал гибель бактерий за счет полного разрушения белков или в результате окислительного стресса. Образование, инаktivация и разложение пестицидов в продуктах питания электролизной водой, механизм её бактерицидного действия подробно рассмотрен в ряде публикаций [74, 92]. Возможность использования активированной воды в хлебопечении отмечена в работе [142].

### **1.5 Аэрозольная дезинфекция: технико-технологические особенности**

Многие возбудители инфекционных заболеваний, сумевшие выработать резистентность к антимикробным средствам, оседая на частицах пыли, покрывают поверхности, в том числе в труднодоступных местах, обработка которых затруднена. Аэрозольная дезинфекция, обеспечивающая обеззараживание всего пространства помещения, как нельзя лучше подходит для объектов сельского хозяйства и пищевой промышленности.

Основа метода такого типа обеззараживания состоит в переводе дезинфицирующего раствора в состояние мелкодисперсного аэрозоля с достижением необходимой объемной концентрации препарата. При этом эффективность препарата увеличивается за счет его быстрого распределения и увеличения удельной поверхности взаимодействия [69].

Дезинфектант проникает в труднодоступные места оборудования и вентиляции, заполняет микротрещины пола, стен и потолка. Происходит обеззараживание воздушной среды, которая значительно контаминирована различными микроорганизмами, распространяющимися внутри помещения за счет движения

воздушных потоков. Заполнение помещения мелкодисперсной фракцией аэрозоля препятствует перекрестному обсеменению помещения и развитию резистентности у микроорганизмов.

Мелкодисперсный аэрозоль длительное время висит в воздухе помещения, увеличивая время контакта дезсредства с обрабатываемой поверхностью. Поэтому аэрозольная дезинфекция решает задачи, невыполнимые при других способах обработки, в том числе при орошении, что делает ее удобным методом дезинфекции продуктов для их хранения или транспортировки.

Аэрозольное дезинфицирующее средство использовали как потенциальную альтернативу водным и газообразным дезинфицирующим средствам. Аэрозолем пероксиуксусной кислоты ( $5,42 \div 11,42$  мкм) при комнатной температуре обрабатывали листья салата айсберг, инокулированные штаммами *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* и *Salmonella typhimurium*. Затем подсчитывали здоровые и поврежденные бактериальные клетки, используя селективные агары или метод наложения агара.

Зараженные листья салата, подвергнутые обработке в течение 10 минут, показали снижение *E. coli* O157:H7 на 0,8 log, *Salmonella typhimurium* на 0,3 log и *L. monocytogenes* на 2,5 log по сравнению с контролем. После 30 мин обработки для перечисленных патогенов регистрировали уменьшение на 2.2 log, 3.3 log и 2.7, соответственно. Через 60 минут снижение составило 3.4 log, 4.5 log и 3.8 log.

Показано, что применение дезинфицирующих средств путем осаждения на поверхность капель аэрозоля было эффективно. Плоды клубники обрабатывали диоксидом хлора, гипохлоритом натрия, перекисью водорода, лимонной кислотой и этанолом, применяя ультразвуковой генератор аэрозоля. Дезинфекцию проводили при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем ягоды хранили 5 дней при 1° С и еще 2 дня при 20° С.

Для оценки эффективности обработок вычисляли процент инфицированных плодов и микроорганизмов на их поверхности, а также в воздухе хранилища. В результате аэрозольной обработки любым из указанных средств уровень заражения значительно снизился. Аэрозольная форма обработки снижает зараженность не только поверхности, но атмосферы в помещении хранения. Осаждение капель из тумана, образованного водным раствором дезинфицирующих средств, также совместимо с

обработкой клубники после сбора ягоды. Такой способ дезинфекции осуществляли в контейнерах, транспортных рефрижераторах или в хранилищах [76].

Аэрозоли готовят непосредственно перед применением, используя специальные устройства для получения дисперсной среды – генераторы аэрозоля, которые применяют для обработки закрытых помещений различного назначения и расположенного там сырья, материалов, оборудования, транспорта, емкостей. Генераторы различаются по производительности, то есть по объему выпрыскиваемой жидкости за единицу времени, а также по размеру капель. По способу образования аэрозоля генераторы условно делят на так называемые «горячие» генераторы и генераторы «сухого тумана».

Первый тип генераторов реализует метод конденсации, когда аэрозоль образуется в результате конденсации капель из газа раствора дезинфектанта, который предварительно был испарен в камере. К этому типу генераторов также следует отнести пропеллентные, в которых диспергирование частиц жидкости осуществляется после возгонки пропеллентов [66].

Генераторы второго типа позволяют получить аэрозоль относительно низкой температуры. В данной главе обзора литературы будут рассмотрены только генераторы этого типа, параметры которых соответствуют задачам исследования. Генераторы различают на дисковые, инжекторные, турбоциклонные, форсуночные в соответствии с физическими принципами, используемыми для распыления жидкости.

Примером использования механического принципа могут служить центробежные генераторы аэрозолей, вращающегося со скоростью не менее  $20000 \text{ мин}^{-1}$  [64]. Такие генераторы аэрозоля используются в основном для распыления дезинфицирующих растворов, в том числе анолита.

Для объемной дезинфекции необходимо создать облако мелкодисперсных частиц, быстро распространяющееся в пространстве, и контролировать распространение частиц аэрозоля в пространстве и их концентрацию [32]. Ультразвуковое распыление, обеспечивающее равномерное и сохраняемое покрытие поверхности, позволяет обработать поверхности, соприкасающиеся со свежими пищевыми продуктами. Полагают, что эффективность применения ультразвука как технологии дезактивации может быть повышена посредством сочетания с антимикробными растворами за счет увеличения диффузии этих препаратов [114].

Сочетание двух технологий, реализующих различные механизмы микробной инактивации, позволяет эффективнее решать проблемы микробиологической безопасности и качества пищевой продукции. Однако ультразвуковое распыление требует специального оборудования, принцип действия которого заключается в следующем. Пьезоэлектрический преобразователь, размещенный в слое воды, преобразует высокочастотный электронный сигнал в механические колебания.

Поскольку скорость колебаний увеличивается до уровня, при котором частицы воды больше не могут следовать за колеблющейся поверхностью преобразователя, происходит образование вакуумного объема с последующим взрывной генерации газовых пузырьков (кавитации). Мельчайшие пузырьки разрывают поверхностное натяжение воды и рассеиваются в воздухе, конденсируясь в пар. Ультразвуковые генераторы тумана представлены рядом приборов от бытового ультразвукового увлажнителя до промышленных аэрозолирующих установок. В некоторых практических областях явление кавитации находит применение при создании облака аэрозоля с максимально высокой дисперсностью капель и удельной поверхностью.

Примером электростатического способа распыления служит вентиляторный воздушнонагреватель, в котором водяные пары из воздуха конденсируются в виде капли на поверхности охлажденного электрода, формируя конус Тейлора. Затем, под действием высокого напряжения, приложенного к двум электродам, конус Тейлора рассеивается в воздухе, образуя первичные кластерные ионы воды размером частиц 3-100 нм [57].

Процесс электрораспыления положен в основу метода преобразования атмосферного водяного пара в инженерные водные наноструктуры – наноразмерные капли воды, обладающие уникальным набором физических, химических, структурных, биологических свойств. В частности, было обнаружено, что они содержат активные формы кислорода, такие как гидроксильные  $\text{OH}^\bullet$  и супероксидные  $\text{O}_2^\bullet$  радикалы. Размер капли зависит от параметров распыления (проводимость жидкости, расход жидкости и электрическое поле).

Микронные заряженные капли очень нестабильны в электрическом поле высокой напряженности, что вызывает дальнейшее дробление исходной капли жидкости – процесс, описанный теорией Рэля. Средний размер капель, измеренный посредством атомно-силовой микроскопии, составляет 25 нм. Выявлена связь между величиной



электрического заряда кластерного иона (нанокапли) и снижением скорости испарения [134].

Наноаэрозоли лекарственных веществ рассматриваются как перспективная лекарственная форма для лечения легочных заболеваний и профилактики заболеваний, распространяющихся воздушно-капельным путем. Эффективным считается устройство, которое способно в течение не менее 5 часов генерировать наноаэрозоли лекарственных веществ с тем, чтобы не менее 10 % распыляемого вещества переходили в аэрозольную форму. Такая конструкция позволяет получать аэрозоли с размером частиц 10-300 нм и концентрацией до 0,4 мкг/дм<sup>3</sup> воздуха при скорости потока воздуха до 9 дм<sup>3</sup>/мин [37].

Эффективность электростатического способа получения аэрозоля исследовали в сравнительном тестировании при обработке ягод черники [109], которая, как и другие виды свежих продуктов, потребляется в сыром или минимально переработанном виде и подвержена микробному загрязнению. Поэтому было предпринято исследование для оценки эффективности электростатического распыления электролизированной окисляющей воды, ультрафиолета, озона и комбинации озона и ультрафиолета при уничтожении *Escherichia coli O157:H7* на ягодах черники.

Смесь из 5 штаммов *E. coli O157:H7* апплицировали на чашечку и кожуру ягоды и подвергали их обработке. Аэрозоль, образованный в электростатическом поле, уменьшал популяцию кишечной палочки всего на 0,13÷0,24 log КОЕ/г и на 0,88÷1,10 log КОЕ/г в области чашечки и на кожуре черники, соответственно. Обработка озоном (4000 мг/дм<sup>3</sup>) снизила содержание *E. coli O157:H7* всего на 0,66 log КОЕ/г и 0,72 log КОЕ/г в зоне чашечки и на кожуре, соответственно. Облучение ультрафиолетом (20 мВт/см<sup>2</sup>, 10 мин.) показало наиболее выраженный эффект, при котором регистрировали уменьшение числа клеток *E. coli O157:H7* на 2,14 log КОЕ/г и более 4,05 log КОЕ/г на поверхности чашечки и кожуры черники, соответственно. Наиболее успешной оказалась комбинированная обработка озоном в течение 1 минуты с последующим 2-минутным облучением ультрафиолетом.

Обзор многочисленных источников отечественной и зарубежной литературы [29, 30, 48, 78, 83, 84, 87, 93, 101, 123, 136, 143, 152] выявил концептуальное направление исследования, заключающееся в необходимости изучать закономерности формирования и дезинтеграции бактериальной пленки. Интерес к этой проблеме обусловлен ее прикладной значимостью в области обеспечения безопасности продуктов и пищевых

технологий. В этой области внимание уделяли зависимости дезинтеграции биопленок от параметров самой поверхности, акцент также сделан на применении метастабильных фракций электрохимически активированной воды и растворов. Повторяемость эффекта в сличительных испытаниях является неременным условием такого рода исследований, что требует применения лабораторных стендов с целью проведения эксперимента с заданными параметрами. К сожалению, промышленное приборостроение не освоило выпуск соответствующего научного оборудования.

Таким образом, важно отметить, что проблема биопленкообразования имеет общебиологическое значение, так как индуцированная резистентность возникает не только в микромире, но на разных уровнях организации биологических систем и пищевых сред. Анализ микробных биопленок как фактора риска для биобезопасности объектов пищевой промышленности с учетом оценки существующих физических, биологических и химических методов обеззараживания позволяет рассматривать возможность проведения исследований в области применения ЭХАР как высокоэффективных и экологичных дезинфицирующих и/или технологических вспомогательных средств, метода безреагентного регулирования свойств сырья и пролонгации срока годности готовой продукции.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Сканирующая электронная микроскопия (SEM)

Основные принципы подготовки препарата для сканирующей электронной микроскопии (SEM) описаны ранее [132, 133]. После фиксации (в растворе глутарового альдегида ( $1,5 \div 2,5$  %) в фосфатном буфере при  $4^{\circ}\text{C}$  в течение 12 ч) образец отмывали в трех порциях фосфатного буфера. Затем при комнатной температуре образец 12 часов фиксировали в водном растворе тетраоксида осмия ( $0,5 \div 1,5$  %). Данная процедура механически стабилизирует структуры, содержащие липиды, что обеспечивает дополнительный электронный контраст за счет связывания осмия. После завершения фиксации образец отмывали от несвязанного тетраоксида осмия в трех порциях дистиллированной воды с последующим обезвоживанием в батарее водного раствора этилового спирта возрастающей концентрации (50 %, 75 %, 80 %, 90 % и 98 %). В каждом растворе образец выдерживали по 12 часов. По завершении дегидратации образцы на 12 часов переносили в раствор спирта и гексаметилдисилазана (ГМДС) в соотношении 1:1, после чего на 12 часов в 100 % ГМДС все при комнатной температуре. Сушили препарат в потоке чистого воздуха. Подготовку препарата на всех этапах проводили в камере вытяжного шкафа. После приготовления сухого препарата, он был закреплен на держателе электронного микроскопа с использованием токопроводящего серебряного клея, а затем была нанесена тонкая пленка платины ( $\sim 10$  нм) для улучшения проводимости образца и обеспечения высокого качества изображений при проведении исследований.

Напыление проводили в среде аргоновой плазмы в установке JFC-1600 (JEOL, Япония). Слой тяжелого металла на поверхности усиливает сигнал вторичных электронов, которые формируют изображение, и обеспечивает сток электростатического заряда, а также снимает термонагрузку, что может вызвать механическое разрушение препарата.

Тонкую структуру рельефа поверхности изучали в сканирующем электронном микроскопе JSM-6390A (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении  $10 \div 20$  кВ. В каждом конкретном случае описанная методика подготовки препарата для SEM могла быть модифицирована в зависимости от особенностей образца и поставленной задачи.

Исследования проводили на базе ЦКП «Структурно-функциональные исследования биосистем» (ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино).

## **2.2 Времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов (ToF-SIMS), гель-электрофорез, UV спектрометрия**

Для определения наличия на поверхности биоорганического слоя (~40нм) *методом молекулярной спектрометрии* использовали пролетный масс-спектрометр вторичных ионов TOF-SIMS 5 (ION-TOF GmbH, Германия). Плотность дозы облучения первичными ионами не превышала  $\sim 5 \times 10^{12}$  ионов/см<sup>2</sup> [55].

В качестве препарата использовали фрагмент биопленки (контрольный или экспериментальный образец), отмытый дистиллированной водой с последующим обезвоживанием в потоке чистого воздуха. Из протокола подготовки препарата для ToF-SIMS исключали химическую фиксацию и дегидратацию в растворителе, которые вызывают неконтролируемое вымывание молекулярного состава и/или модификацию его структуры. В каждом конкретном случае методика подготовки препарата для ToF-SIMS и условия спектрометрии могли варьировать в зависимости от особенностей образца и поставленной задачи.

Исследования проводили на базе ЦКП «Анализ химических, биологических систем и природных материалов: масс-спектральная микроскопия и фемтосекундная лазерная микроскопия-спектроскопия» (ФГБУН ФИЦ Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва).

*Гель-электрофорез белков* проводили на акриламидном геле (8% разделяющий и 5% фокусирующий гель). Образец белкового раствора разводили в лизирующем буфере, содержащем: 2 % DS-Na, 10 % глицерина, 5 % 2-меркаптоэтанола, 0,004 % бромфенолового синего, 9,063 Трис HCl, pH 6,8. Затем, кипятили на водяной бане в течение 5 минут и наносили на гель, где проводили электрофорез при 20 мА в течение двух часов, после чего окрашивали Cumassi R 250. Объектом исследования служил бычий сывороточный альбумин BSA100 (Merck, Sigma-Aldrich) и желатин пищевой П-11 (ООО «Русская бакалейная компания», Россия).

Для проведения *UV спектроскопии* в чашку Петри с пленкой фосфатидилхолина на дне наливали на 5 минут воду или одну из фракций ЭХА-воды. Затем полученный экстракт центрифугировали, чтобы осадить диспергированные в нем частицы пленки. Неспецифический спектр поглощения супернатанта анализировали на спектрофотометре Shimadzu UV-2401PC (Япония). Для получения специфических спектров поглощения в видимой области растворы крахмала дополнительно окрашивали иодитным методом.

### 2.3 Электрохимическая активация водных растворов

С целью дезинтеграции биопленки получали ЭХАР – анолит и католит, произведенные путем униполярного электрохимического воздействия на водный раствор хлорида натрия в анодной или катодной камере диафрагменного электрохимического реактора [3].

Анолит: содержание смеси оксидантов в эквиваленте активного хлора  $500 \pm 50$  мг/дм<sup>3</sup>, pH 5,0-6,5, ОВП +800...+900 мВ. Католит: содержание NaOH 3 % или 10%, pH 10-13, ОВП -400...-500 мВ; в качестве контроля использовали неактивированный раствор NaOH с аналогичной концентрацией 3 % или 10 %. Промышленные образцы метастабильных фракций ЭХАР поставляла научно-производственная компания ООО «Делфин Аква» (г. Москва).

Для производства аэрозоля фракций ЭХА-воды применяли метод ультразвуковой генерации субмикронных частиц «Сухой туман». Для обеззараживания модельной поверхности плодоовощной продукции применяли анолитную (содержание смеси оксидантов в эквиваленте активного хлора 50-100 мг/дм<sup>3</sup> в зависимости от количества в исходной воде ионов хлора, pH 4,0-4,5, ОВП +700...+800 мВ) и католитную (содержание NaOH 0,4%, pH 10-11, ОВП -700...-800 мВ) фракции ЭХА-воды, полученные электролизом (в установке СТЭЛ-Универсал (ООО «Делфин Аква», Москва) питьевой воды из городского водопровода (pH 7,4, ОВП ~ 260 мВ).

Модельный тест-объект – плотный 10 %-ный агаровый гель на водном растворе с питательным субстратом содержал агар (100 мг/см<sup>3</sup>), NaCl (0,29 мг/см<sup>3</sup>), KCl (7,45 мг/см<sup>3</sup>), экстракт дрожжей (10 мг/см<sup>3</sup>), пептон (33,3 мг/см<sup>3</sup>) и электролиты K<sup>+</sup> (100 мМ/дм<sup>3</sup>), Na<sup>+</sup> (5 мМ/дм<sup>3</sup>). Подробно методика описана в [131].

Для изучения влияния ЭХА-воды на основные молекулярные макронутриенты в водном растворе (белки, растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых в воде макронутриентов (липиды, полисахариды) использовали её анолитную и католитную фракции.

Для измерения pH, ОВП и удельной электропроводности использовали многопараметрический прибор Exellence S470 (МЕТТЛЕР ТОЛЕДО, Швейцария).

## 2.4 Моделирование обсемененности производственной среды

В экспериментах по моделированию обсемененности производственных трубопроводов использовали суспензии коммерческих препаратов бактерий *E. coli* «Бификол» (НПО АО «Микроген», Россия) – *E. coli* М-17, *Bifidobacterium bifidum* 1 и МКБ препарата «Эвиталия» (ПРОБИОТИКА НПФ, Россия) – *Lactococcus lactis* ВКМ В2232D; *Streptococcus thermophilus* ВКМ В-2237D; *Lactobacillus acidophilus* ВКМ В-1660; *Lactobacillus helveticus* ВКМ В-842; *Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermanii* ВКМ В2233D.

## 2.5 Анализ качества пшеничной муки, дрожжей и хлеба

Для изучения возможности безреагентного регулирования свойств пищевых сред использовали фракции ЭХА-воды, муку пшеничную хлебопекарную высшего сорта, полученную из торговых сетей (АО «МАКФА», Россия; «Нижегородская», Россия), дрожжи хлебопекарные прессованные («Саф-Момент», Россия), соль поваренную пищевую сорта экстра («Салина», Россия), воду питьевую.

Растяжимость и гидратационную способность клейковины оценивали по значениям прибора ИДК-1. Свойства муки оценивали по количеству и качеству клейковины (ГОСТ 27839-2013) [16]. Для определения водоудерживающей способности муки (ВУС) 1 г образца смешивали с 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и выдерживали в течение 30 мин, затем центрифугировали (30 мин, 3000 мин<sup>-1</sup>).

Подъемную силу дрожжей определяли стандартным и ускоренным методом (по ГОСТ 171-2015) [13].

Качество хлеба оценивали органолептически с участием 5 экспертов балловым методом, пористость определяли на приборе Журавлева. Степень согласованности экспертных оценок сравнивали с помощью теста множественного сравнения по методу наименьших квадратов разности Фишера.

Значение pH раствора измеряли с помощью портативных приборов HI98120 (Hanna, Германия), ОВП – ST20R (Ohaus, Китай).

## **2.6 Приготовление и анализ качества мясных рубленых полуфабрикатов**

Для производства мясных рубленых полуфабрикатов использовали сырье по ГОСТ 31778-2012 [19], ГОСТ 34306-2017 [24], ГОСТ Р 51574-2018 [27], ГОСТ 33562-2015 [23] и воду, прошедшую стадии очистки и ЭХА в установке «ИЗУМРУД» (Россия), со значением ОВП ЭХА-воды +34 мВ. Для проведения исследований контаминации в качестве объектов использовали колбаски для жарки.

Органолептическую оценку на соответствие ГОСТ 9959-2015 [25] проводила дегустационная комиссия в составе 10 экспертов. Массовую долю белка определяли по ГОСТ 25011-2017, п. 6 [15], массовую долю жира – по ГОСТ 23042-2015 [14], массовую долю влаги – по ГОСТ 33319-2015 [22].

Микробиологические показатели определяли стандартными методами: количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) – по ГОСТ 10444.15-94 [12]; бактерии группы кишечной палочки (БГКП) – по ГОСТ 31747-2012 [18], *Salmonella* – по ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) [17], *Listeria monocytogenes* – по ГОСТ 32031-2012 [20].

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 Разработка многофункционального циркуляционного реактора для формирования, исследования и дезинтеграции в контролируемых условиях бактериальной пленки (модель трубопровода)

Заращение биоматериалом конструктивных частей водотока может служить источником заражения технологической воды. Этот фактор гораздо более критичен для производственных процессов, где всегда присутствует риск появления в трубопроводе микробной пленки. Источником заражения, например, могут быть микроорганизмы, привнесенные в результате нарушения санитарных норм. В пищевом производстве кишечная палочка является санитарно-показательным микроорганизмом. В нашем исследовании экспериментальное формирование бактериальной пленки из планктонной формы условно-патогенных бактерий проводили в реакторе (рисунок 3).

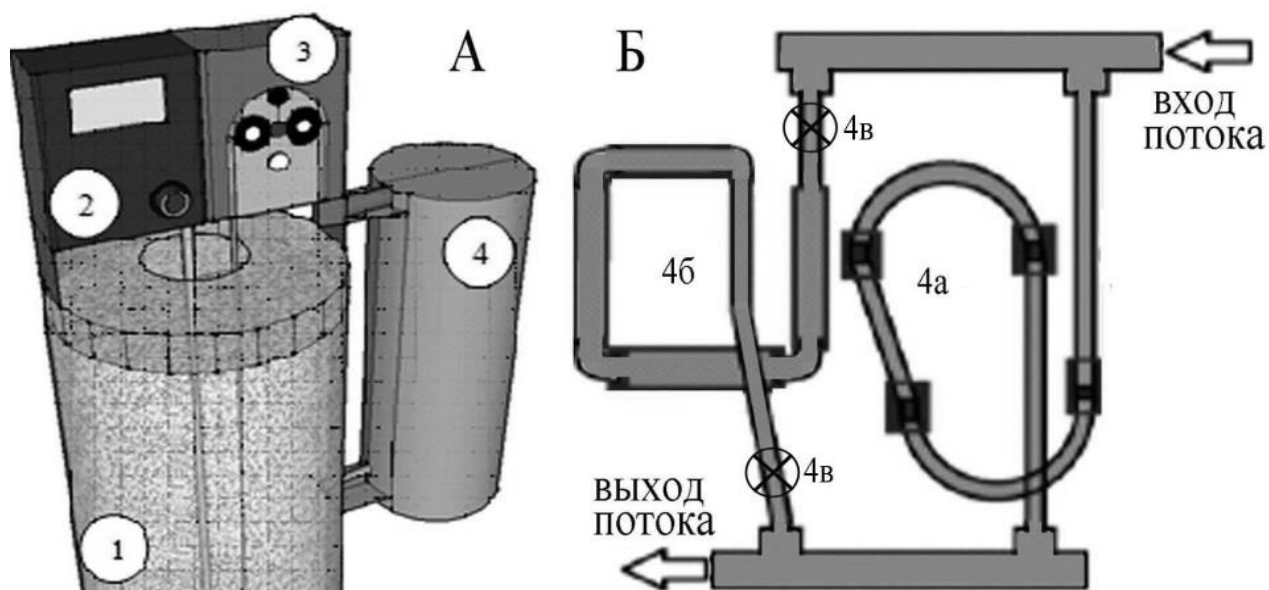


Рисунок 3 – Многофункциональный лабораторный циркуляционный реактор для формирования в контролируемых условиях микробной пленки: (А) схема реактора, где: 1 – резервуар с исследуемой жидкостью, 2 – компрессор и трубопровод для оксигенации жидкости, 3 – перистальтический насос, 4 – система трубопровода. (Б) система трубопровода реактора детально, где: 4а – спираль трубок из ПВХ с силиконовыми переходниками, что позволяет в разрыв вставлять трубки из других материалов, 4б – спираль трубок из ПВХ для моделирования застойной зоны, 4в – кран



Присутствие *E. coli* в пробах, взятых с поверхности оборудования, служит критерием неблагополучного санитарного состояния производства. Конструкцией реактора предусмотрены регулировка температуры, скорости потока жидкой среды, состава газовой фазы, а также обработка средствами, включая анолит и католит. Реактор выполнен в виде действующего стенда, конструктивные особенности которого показаны на схеме.

Суспензией *E. coli* (штамм BZ21 DE3) в лизогенной среде культивирования (LB - lysogeny broth) заполняли внутренний объем циркуляционного реактора, где пленку формировали в течение 7 сут. Перед дезинфекцией, чтобы удалить свободно плавающие микроорганизмы и отмыть объем трубопровода от субстрата, использовали католит с содержанием NaOH 3 %, а для сравнения – стандартный раствор NaOH аналогичной концентрации. Во всех случаях процедура длилась 20 мин при 20° С и 50° С.

Результаты данного исследования приведены на рисунке 4 (серии A1, B1, B1, Г1: увеличение = 500, серии A2, B2, B2, Г2: увеличение = 3000, серии A3, B3, B3, Г3: увеличение = 10000).

На микрофотографиях видно, что после 20 мин обработки меняется структура поверхности биопленок, качество которой зависело от вида обработки. После промывания водой (серия А) на поверхности оставался плотный газон из бактериальных клеток, заключенных в матрикс. В результате обработки 3 %-ным NaOH (ОВП +29±5 мВ) наблюдали частичное вымывание бактериальной пленки (серия Б).

При той же температуре (20° С) католит с аналогичной концентрацией NaOH, но отличающийся значением ОВП (-930±5 мВ), почти полностью удалял матрикс (серия В). На микрофотографиях с высоким пространственным разрешением (x10000) визуализировалось некоторое количество деформированных клеток, которые расположены внутри небольших фрагментов матрикса.

Этот эффект не становился более выраженным после обработки католитом, нагретым до 50° С (серия Г).

Таким образом, основной мишенью действия католита является матрикс, вместе с которым удаляются погруженные в него клетки. После обработки сохранялся только нижний слой бактерий, которые были механически прикреплены к поверхности подложки с помощью нитевидных структур (пилей), что не позволяет провести полную дезинфекцию по критерию отсутствия кишечной палочки.

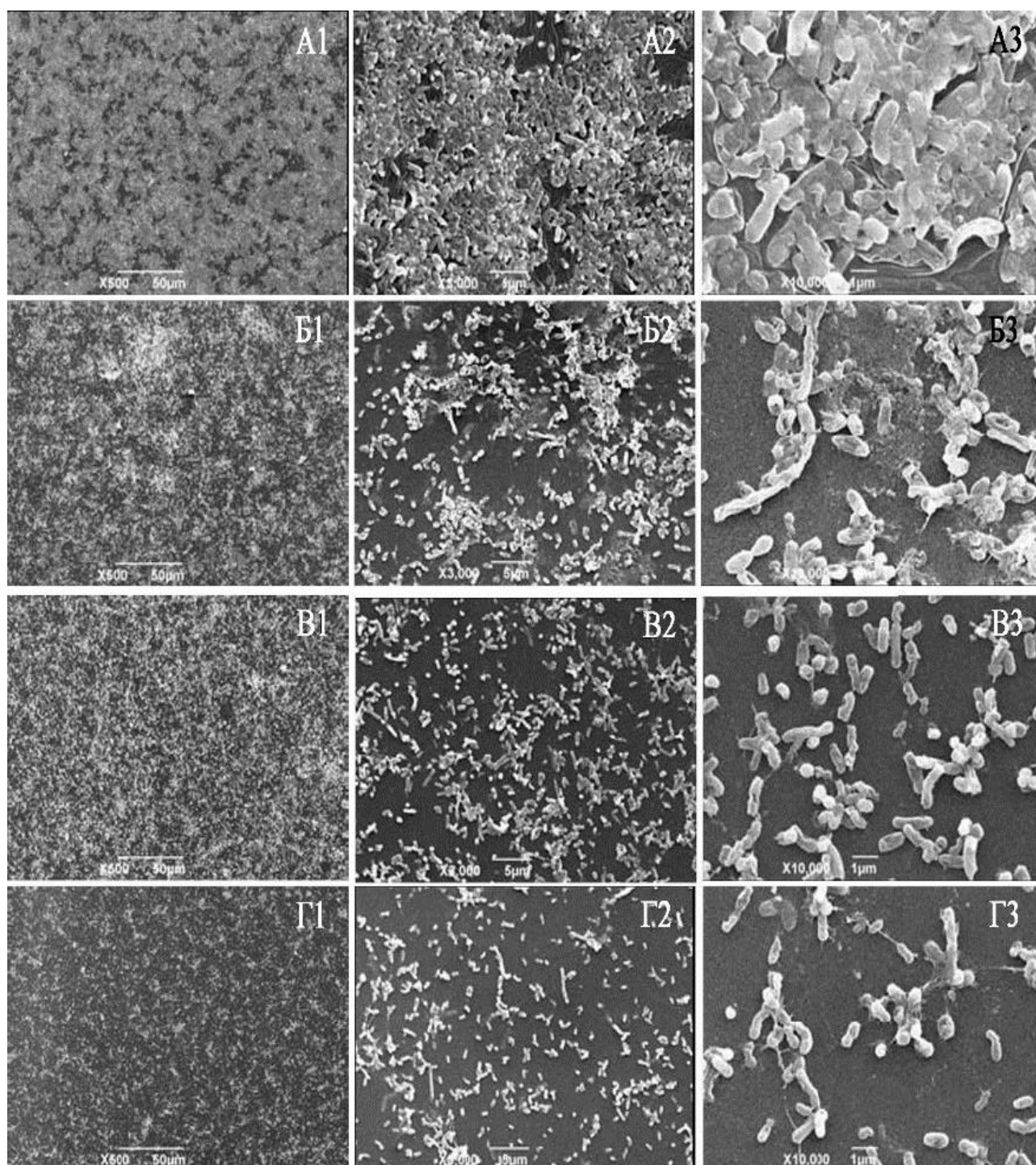


Рисунок 4 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки реактора после инкубации планктонной формы *E. coli* в течение 7 сут с последующей дезинтеграцией пленки в течение 20 мин в потоке: (серия А) воды, (серия Б) водного 3 %-ого раствора NaOH при 20° С, (серия В) катодит с содержанием NaOH 3 % при 20° С, (серия Г) катодит с содержанием NaOH 3 % при 50° С

Здесь и далее изображения получены в сканирующем электронном микроскопе. режим вторичных электронов.

Для полной дезинтеграции биопленки продолжительность дезинфекции увеличили до 3 часов, а в католите повысили концентрацию NaOH до 10 % с последующей обработкой образца анолитом.

Полученные результаты приведены на рисунке 5 (серии A1, B1, B1: увеличение = 500, серии A2, B2, B2: увеличение = 3000, серии A3, B3, B3: увеличение = 10000). На микрофотографиях контрольного варианта (серия А) видна плотная структура бактериальной пленки.

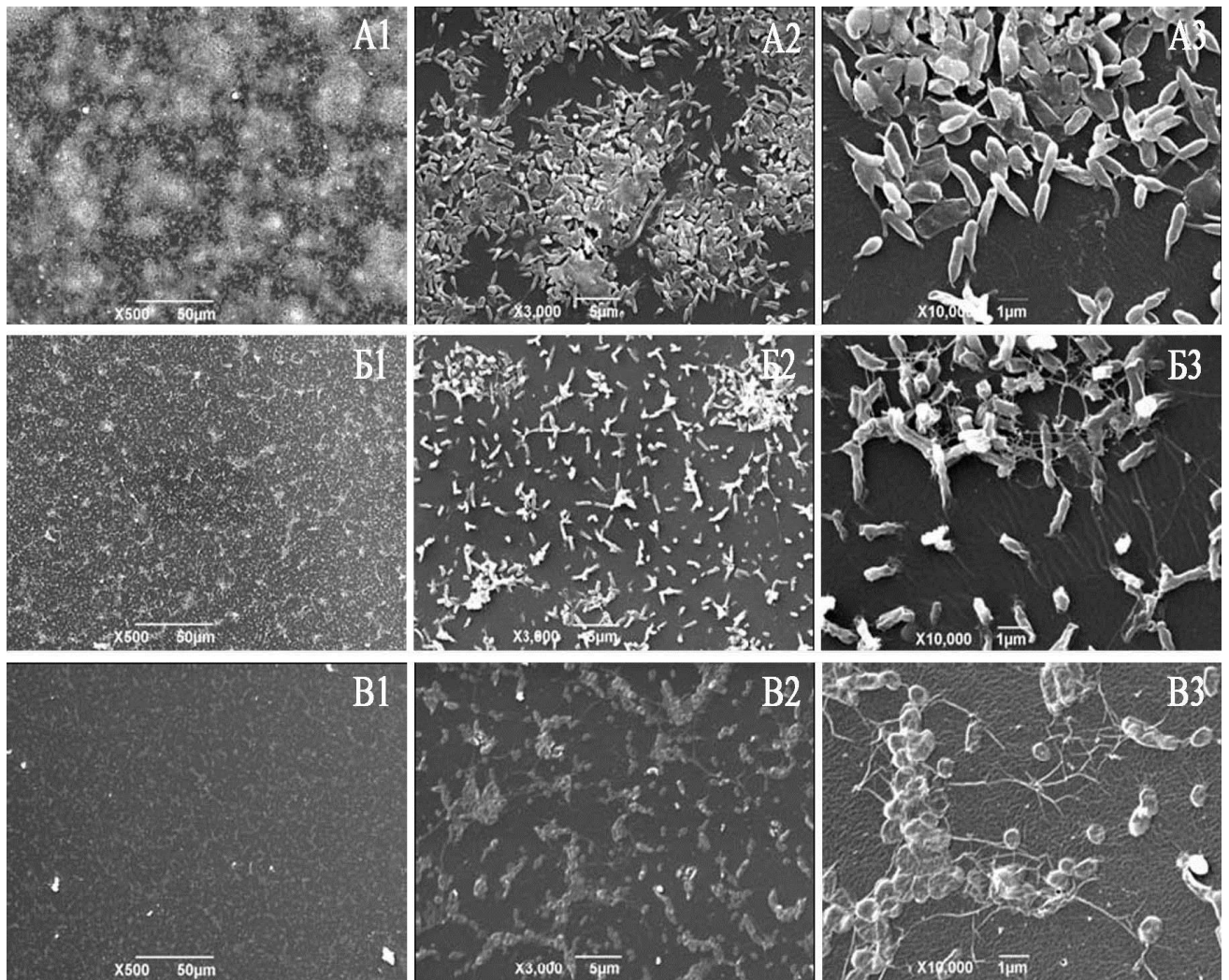


Рисунок 5 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из реактора после инкубации планктонной формы *E. coli* в течение 7 сут с последующей дезинтеграцией пленки в течение 180 мин: (серия А) потоком воды, (серия Б) католит с содержанием NaOH 10% при 20°C, (серия В) католит с содержанием NaOH 10% при 20° С с последующей обработкой в течение 20 мин анолитом

При большем увеличении идентифицировались бактерии *E. coli* с характерным морфологическим признаком в виде нитевидного придатка пилы. После обработки

системы циркуляционного реактора католитом ситуация менялась качественно (серия Б). В результате на подложке наблюдались вытянутой формы фрагменты клеток; матрикс располагался вокруг или формировал тонкие нити.

Последующее действие анолита заключалось в том, что от клеток оставались округлые следы (серия В). Этот морфологический признак может свидетельствовать о том, что окисленная фракция ЭХАР способна вызывать дополнительный дезинтегрирующий эффект. Таким образом, сравнение данных (рисунки 4 и 5) позволяет заключить, что увеличение длительности промывания ЭХАР с 20 мин до 180 мин приводило к более полному удалению матрикса.

### **3.2 Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной молочнокислыми бактериями (модель молокопровода)**

В пищевых производствах причиной формирования биопленки помимо привнесенных бактерий могут быть полезные микроорганизмы, вовлеченные в производственный процесс, например, молочнокислые бактерии. Конструкция циркуляционного стенда позволяет моделировать трубопровод, по которому проходят смывные воды молочных предприятий, загрязненные следами продукта.

В данном исследовании источником исходной планктонной формы служили лиофильно высушенные молочнокислые бактерии, входящие в состав препарата "Эвиталия". Технологическое загрязнение моделировали, смешивая молоко жирностью 3,2 % с деминерализованной водой, содержащей 0,15 % и  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,15 %  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , в отношении 1:10, соответственно. В таком питательном водном растворе размешивали навеску препарата и полученной суспензией молочнокислых бактерий заполняли систему реактора, где бактериальная пленка формировалась в течение семи суток.

Перед дезинфекцией, чтобы удалить свободно плавающие микроорганизмы и отмыть объем трубопровода от питательного субстрата, систему реактора промывали водопроводной водой. Вначале исследовали влияние краткосрочного воздействия на бактериальную пленку щелочных растворов, когда трубку в течение 5 минут промывали со скоростью 23  $\text{дм}^3/\text{час}$ . В опытах применяли 10 %-ный раствор NaOH и католит с 10 %-ным NaOH (pH 13,47, ОВП -52 мВ).



В варианте комбинированной обработки систему промывали последовательно католитом, а затем анолитом (оксидантов  $500 \pm 50$  мг/дм<sup>3</sup>, минерализация 0,6 г/дм<sup>3</sup>, pH 5,5, ОВП +900 мВ). По завершении дезинфекции, препараты трубки готовили для SEM в соответствии с описанной ранее методикой. Результаты данного исследования приведены на рисунке 6.

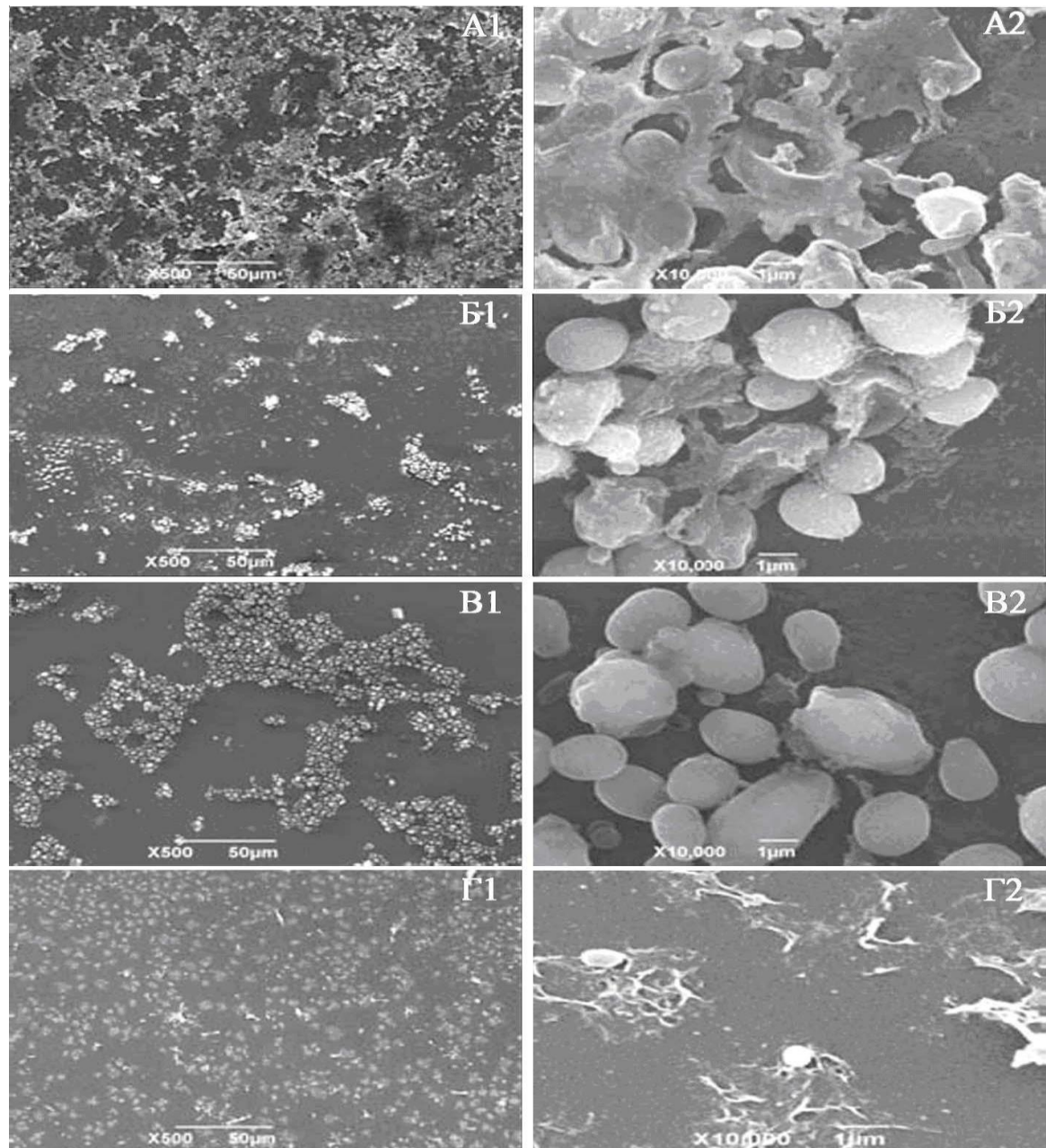


Рисунок 6 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из циркуляционного реактора после инкубации планктонной формы молочнокислых бактерий в течение семи суток с последующей дезинтеграцией бактериальной пленки при 20° С в течение 5 мин: (серия А) потоком воды, (серия Б) 10 %-ным водным раствором NaOH, (серия В) католитом с 10 %-ным NaOH, (серия Г) католитом с 10%-ным NaOH и анолитом, последовательно

В препарате бактериальной пленки, отмытом водой, хорошо видны матрикс и признаки развития в виде отпочковавшихся клеток (рисунок 6, серия А). Пленка, обработанная 10 %-ным раствором NaOH не удалена полностью, в ее составе присутствует клеточная компонента и разрушенный матрикс (рисунок 6, серия Б). Иная картина наблюдается после промывки системы реактора католитом (рисунок 6, серия В). В этом случае препарат представлен четко очерченными кластерами клеток, что обусловлено удалением основной массы матрикса, цементирующего структуру бактериальной пленки. Однако наличие микроорганизмов может свидетельствовать об остаточном слое, к которому бактерии прикреплены посредством адгезии. Наличие пленки матрикса, обеспечивающей адгезию клеток к поверхности, служит причиной для *de novo* формирования биопленки.

После краткосрочной обработки (20 мин) фракциями ЭХАР значительно снижалась обсемененность поверхности ПВХ трубки, но полной дезинфекции не происходило. Поэтому длительность воздействия на пленку, сформированную молочнокислыми бактериями, увеличили до 180 мин.

Наиболее существенные изменения произошли после комбинированного действия обеих фракций ЭХАР. В этом сравнительном эксперименте исследовали дезинфекцию посредством только католита или дополняя ее стадией обеззараживания анолитом.

По завершении обработки препараты трубки циркуляционного реактора готовили для SEM в соответствии с описанной выше методикой (раздел 2.1 «Материалы и методы»). Результаты данного исследования приведены на рисунке 7.

Полученные данные подтверждают тот факт, что увеличение времени обработки потоком воды не влияет на качество очистки поверхности (рисунок 7, серия А). Наоборот, практически полное удаление бактериальной пленки наблюдается под действием католита (рисунок 7, серия Б). Применение комбинированной дезинфекции католитом и анолитом не усиливало дезинтеграцию биопленки (рисунок 7, серия В).

Суммируя результаты данного этапа работы, можно прийти к следующему заключению. На примере биопленки, сформированной из МКБ, подтверждено то, что мишенью восстановленной фракции ЭХАР является материал межклеточного матрикса. Бактерии, входящие в состав препарата «Эвиталия», в отличие от *E. coli*, не имеют механизма сцепления с поверхностью посредством пилей, поэтому клеточная компонента биопленки смывалась вместе с матриксом.

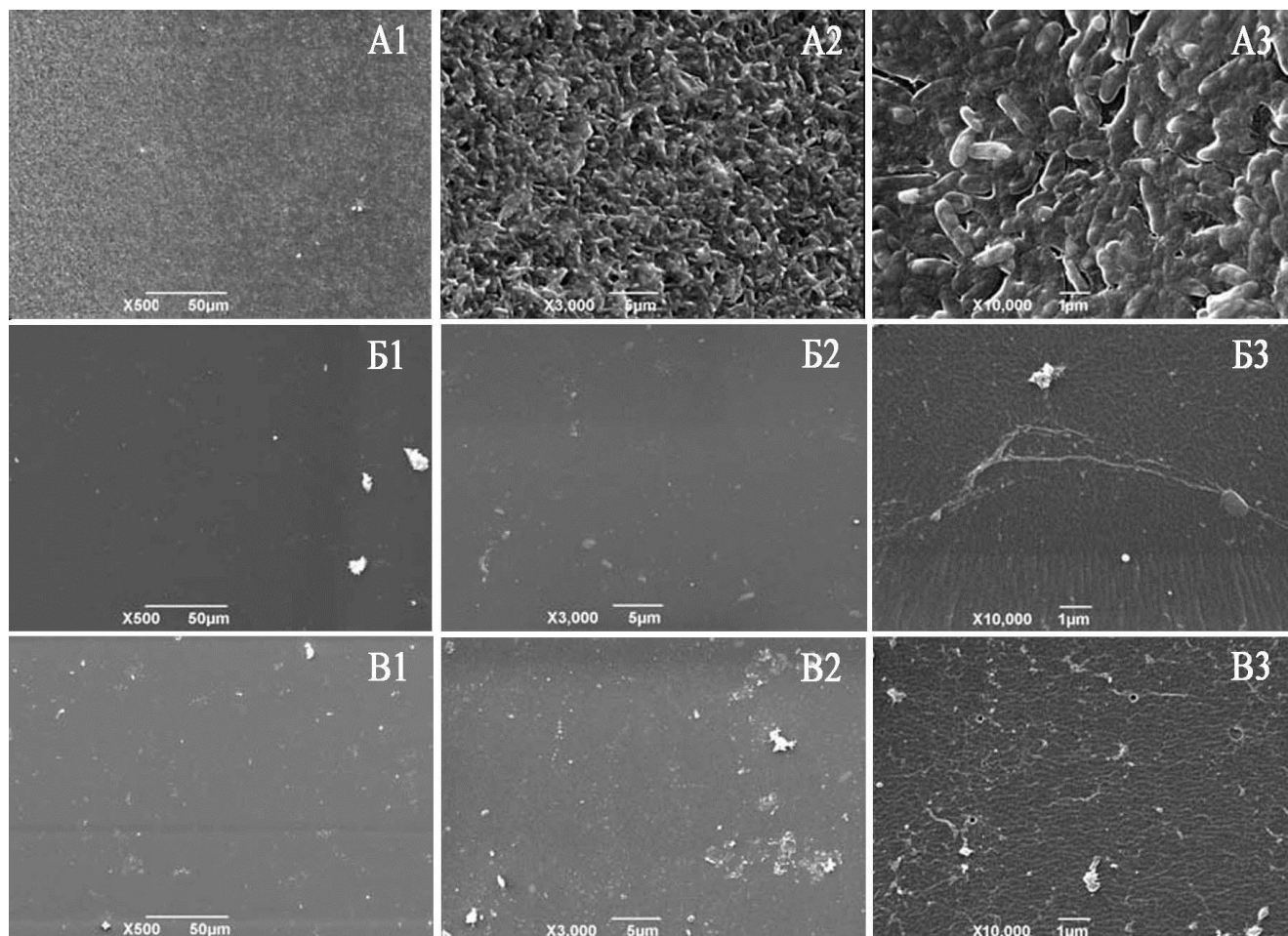


Рисунок 7 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из реактора после инкубации планктонной формы МКБ в течение 7 сут с последующей дезинтеграцией пленки при 20° С в течение 180 мин: (серия А) потоком воды, (серия Б) потоком католита, (серия В) потоком католита и анолита последовательно

Показано, что после анолита поверхность трубки стала заметно грубее (рисунок 7, В3). В результате такого эффекта «травления» появилась более выраженная шероховатость, что является дополнительным фактором, облегчающим формирование пленки *de novo* посредством адгезии или механического закрепления.

Разработанная экспериментальная модель подходит как для оценки устойчивости микрофлоры к действию ЭХАР, так и для культивирования микроорганизмов – продуцентов биологически активных веществ (БАВ). Была проведена сравнительная оценка развития пробиотических культур микроорганизмов в молочной среде с использованием дистиллированной воды (контроль) и воды с отрицательным ОВП (опыт).

Активность развития бактерий контролировали по количеству жизнеспособных клеток через  $(48 \pm 24)$  часа культивирования общепринятыми методами. Данные показаны в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние ОВП молочной среды на количество жизнеспособных клеток пробиотических бактерий

Наименование показателя	Значение показателя	
	Контроль	Опыт
Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), мВ	358	-400
Количество жизнеспособных клеток мезофильных термофильных молочнокислых бактерий, КОЕ в см <sup>3</sup>	$11 \times 10^8$	$7 \times 10^9$
Продолжительность культивирования, ч	$72 \pm 1$	$48 \pm 1$
Температура культивирования, °С	$32 \pm 1$	$32 \pm 1$

Как видно из таблицы, изменение ОВП молочной среды при использовании воды с отрицательным ОВП (-400 мВ) в соотношении 1:10 положительно влияет на развитие исследуемых видов бактерий. Продолжительность сквашивания у опытного образца сокращалась с 72 до 48 ч, а количество жизнеспособных клеток увеличивалось, т.е. снижение ОВП приводит к ускорению роста и развития молочнокислых бактерий, что необходимо отметить как отдельный самостоятельный результат, полученный в ходе работы.

С помощью разработанной системы *in vitro* моделировали вспомогательные работы по очистке трубопровода от клеток МКБ – продуцентов БАВ. С помощью разработанной модели изучали механизм влияния ЭХАР на морфологические характеристики МКБ посредством структурного анализа методом SEM. Результаты приведены на рисунке 8.

Показано, что структура контрольных и опытных образцов значительно различалось. Как видно из рисунка 8 в контроле (А) бактерии не идентифицировались, а матрикс морфологически был слабо выражен. 10 %-ный водный раствор NaOH (Б) не удалял пленки, но в ее составе преобладали разрушенные фрагменты клеток.



После обработки поверхности трубки католитом (В) в структуре набухшего матрикса наблюдались бактерии, а размер сохранившихся клеток уменьшился. При совместной обработке обеими фракциями ЭХАР (Г) происходила глубокая дезинтеграция биопленки.

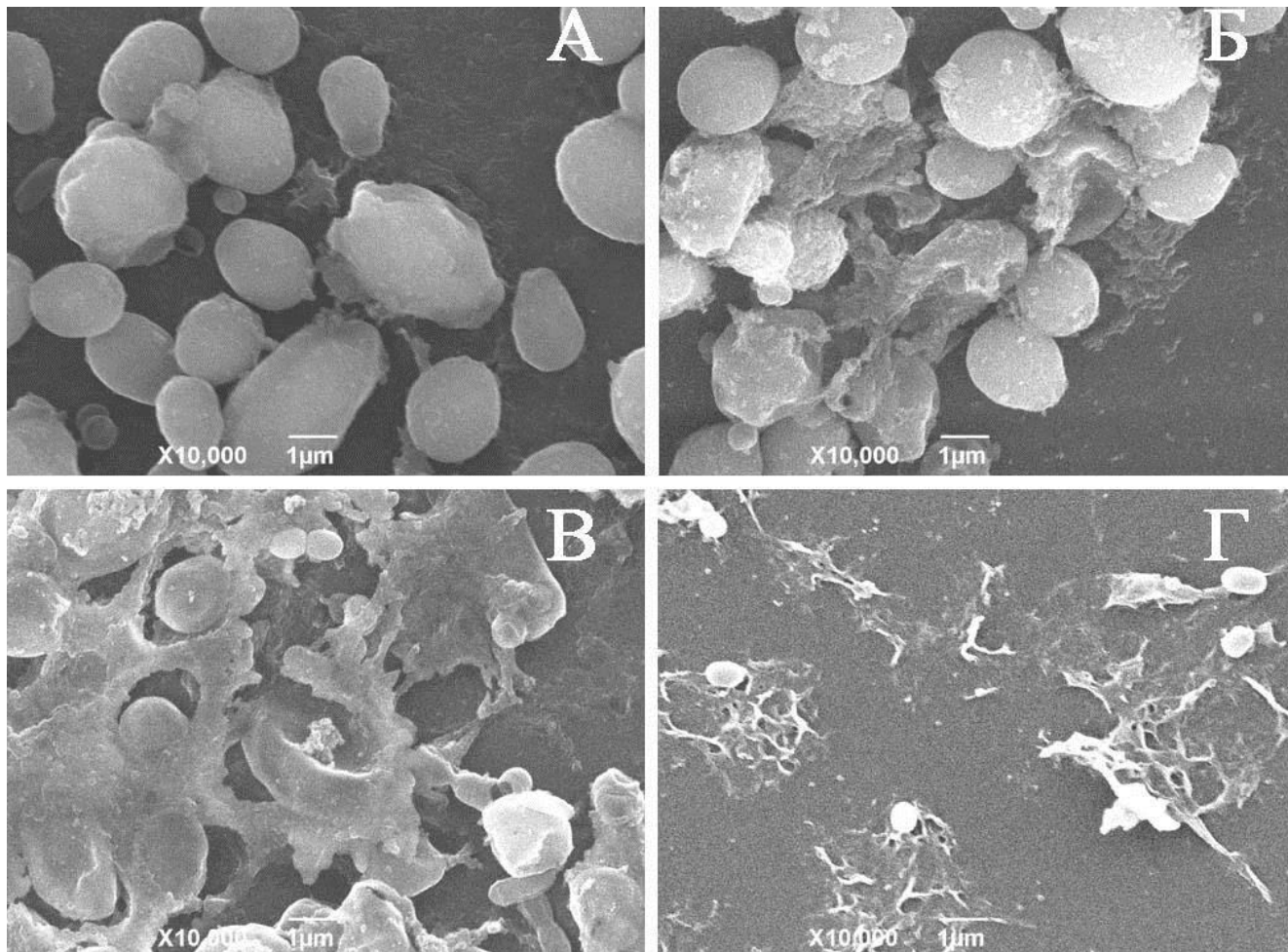


Рисунок 8 – Микрофотография бактериальной пленки на внутренней поверхности трубки из ПВХ реактора, где биопленки: (А) без обработки, (Б) обработаны 10 %-ным водным раствором NaOH, (В) обработаны 10 %-ным католитом, (Г) после обработки последовательно 10 %-ным католитом и анолитом

Таким образом, на примере композиции пробиотических МКБ изучено влияние ЭХАР на интенсивность роста и морфологические характеристики микроорганизмов на модельных средах. Показано, что разработанный реактор эффективен при биопленкообразовании и оценке действия ЭХАР на клетки и матрикс в модельных условиях на ранее не изученных объектах.

### 3.3 Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной бинарной композицией микроорганизмов в условиях застойной зоны (модель конструктивного узла)

Моделирование конструктивного узла реализовано с формированием застойной зоны в варианте «*by pass*» в виде локальной ниши с более медленной скоростью потока рабочего раствора. В исследовании использовали композицию молочнокислых бактерий и кишечной палочки. Микробиологический ансамбль формирует специфичное строение бактериальной пленки и, следовательно, ее свойства, что влияет на качество дезинфекции поверхности. Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из циркуляционного реактора после инкубации планктонной формы бактерий приведены на рисунке 9.

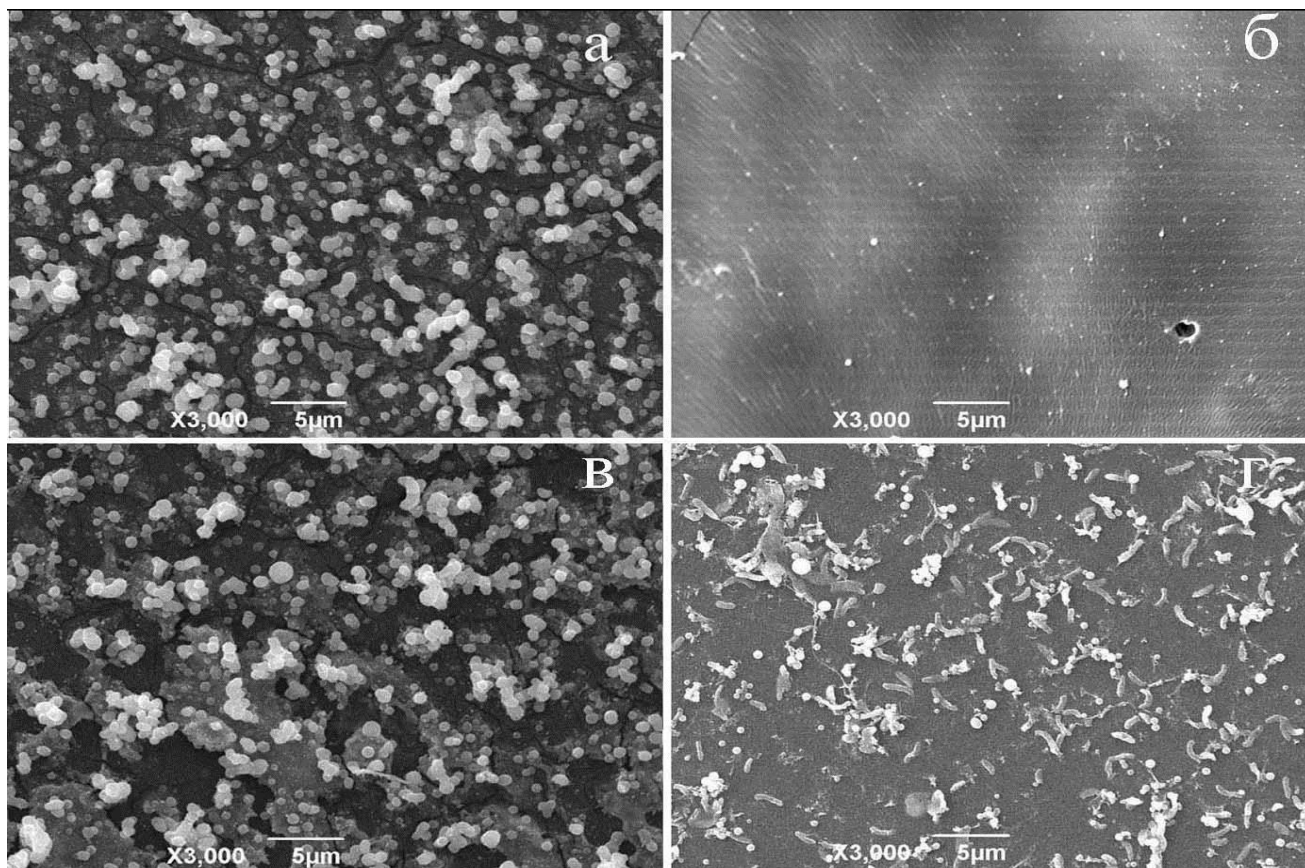


Рисунок 9 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из циркуляционного реактора после инкубации планктонной формы бактерий, где (а) пленка сформирована МКБ и отмыта обычной водой, (б) пленка сформирована МКБ и отмыта католитом, (в) пленка сформирована МКБ в композиции с *E. coli* и отмыта обычной водой, (г) пленка сформирована композицией МКБ в композиции с *E. coli* и отмыта католитом

Из рисунка видно, что используемый циркуляционный реактор оказался эффективным инструментом для моделирования формирования и дезинтеграции бактериальной пленки в застойной зоне. Показано, что застойная зона требует особого контроля качества очистки поверхности. Данный вывод вполне ожидаем, что особенно ценно, так как научный прогноз подтвержден экспериментальными данными, полученными в лабораторных условиях.

Исследования показали, что даже при тщательном промывании системы на внутренней стенке трубки реактора оставались следы микронных размеров (рисунок 10).

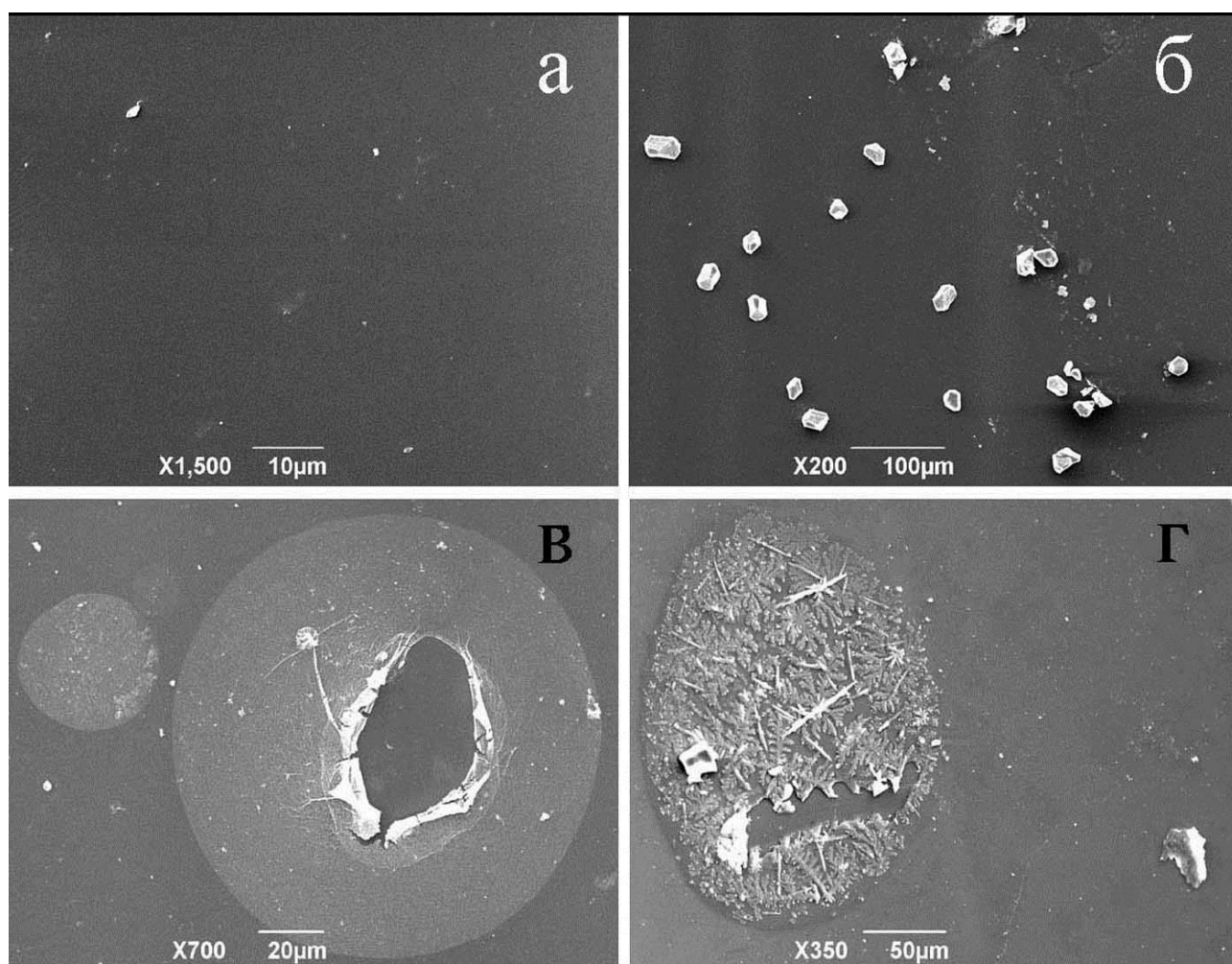


Рисунок 10 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки их циркуляционного реактора после обработки потоком ЭХА-воды, где (а) зона основного потока без биопленки, (б) застойная зона без биопленки, (в) застойная зона с пленкой МКБ, (г) также застойная зона с пленкой МКБ

Если в зоне основного потока практически не наблюдаются остаточные образования (рисунок 10а), то в застойной области видны микровключения разной

морфологии. Например, после высыхания ЭХАР на поверхности чистой ПВХ трубки из циркуляционного реактора формируются структуры, подобные кристаллам (рисунок 10б). После удаления пленки молочнокислых бактерий в застойной зоне образуются микрокапли, следы которых видны в сканирующем электронном микроскопе (рисунок 10в, г). В двух последних случаях клеточной компоненты не видно, поэтому источником загрязнения могут быть фрагменты биопленки в дезинфицирующем растворе.

Молекулярный анализ чистоты поверхности ПВХ трубки реактора проводили методом масс-спектрометрии вторичных ионов биомолекул (ToF-SIMS). Ожидаемый эффект полного удаления биопленки заключается в том, что в результате обработки исчезают все ее структурные элементы, в т. ч. следы матрикса, и появляется молекулярный спектр материала.

Для изучения возможности ЭХАР физико-химически модифицировать поверхность сравнивались данные ToF-SIMS исходной и обработанной трубки. Сравнительные данные по изучению внутренней поверхности ПВХ трубки из циркуляционного реактора приведены на рисунке 11.

Анализ результатов (рисунок 11а) показал совпадение спектров поверхности исходной и обработанной ПВХ трубки. Данный факт свидетельствовал о полной дезинфекции системы циркуляционного реактора от биопленки, сформированной МКБ. Результаты SEM (рисунки 11б-11г) свидетельствовали об отсутствии видимых бактериальных загрязнений.

При этом необходимо отметить, что трубки для циркуляционного реактора были сделаны из полимера ПВХ, на пористой поверхности которого биопленка растет относительно быстро за счет адгезии и механического связывания, и по этим причинам труднее проводить дезинфекцию. Разработка санитарной инструкции полной дезинфекции водопровода (молокопровода) требует учета конструктивных деталей соответствующей технологической линии.

Резюмируя изложенное выше можно заключить, что посредством экспериментального моделирования определена специфика взаимодействия бактериальной пленки сложного клеточного состава и ЭХАР, как экологического и безопасного способа дезинфекции.

Изучены строение и степень дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной в турбулентном потоке и застойной зоне лабораторного

циркуляционного реактора с использованием суспензии молочнокислых бактерий в комплексе с кишечной палочкой или без нее.

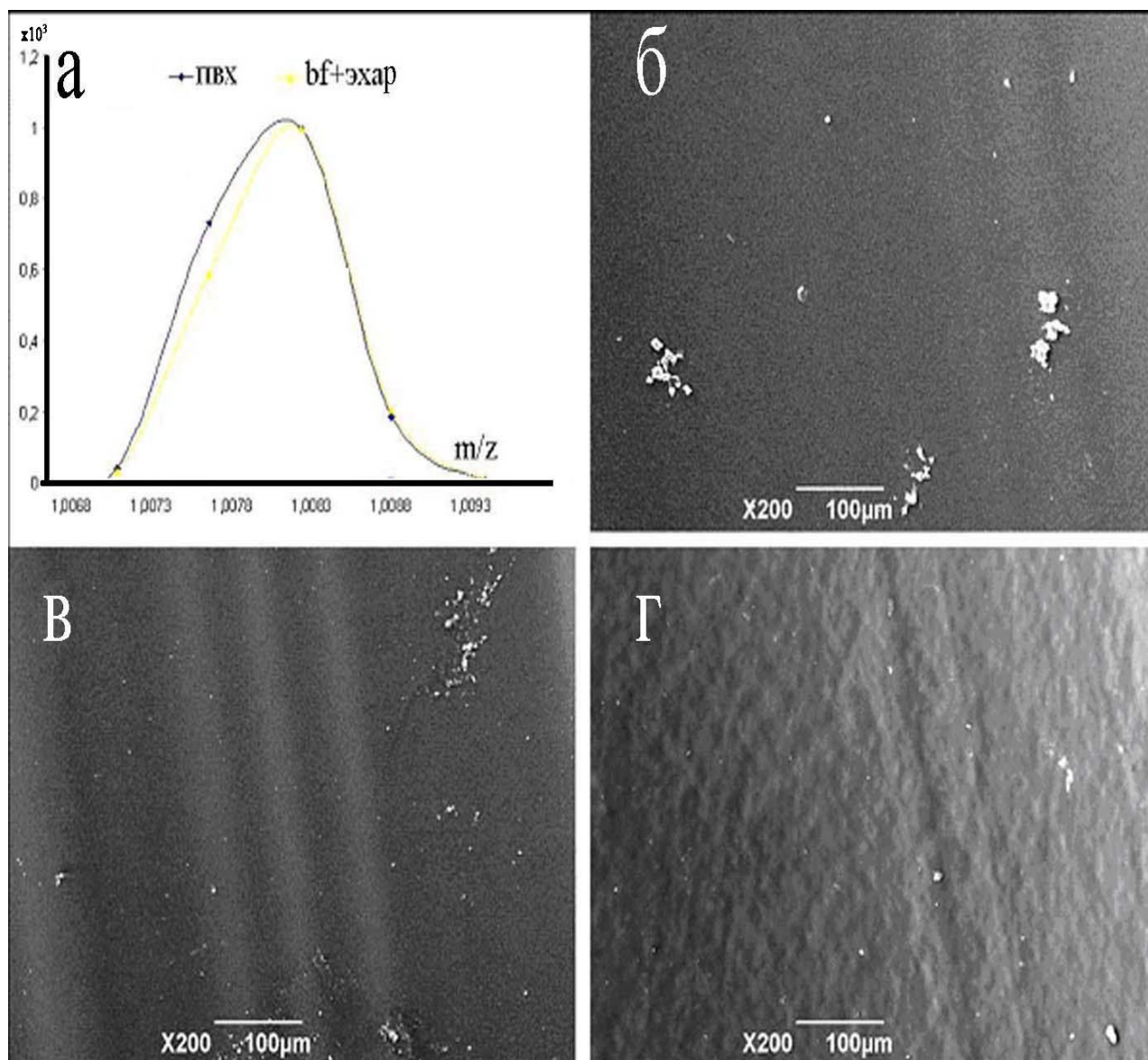


Рисунок 11 – Сравнительные результаты изучения разными методами внутренней поверхности ПВХ трубки из циркуляционного реактора, где (а) ToF-SIMS, где по оси абсцисс отложен параметр  $m/z$  – отношение массы и заряда вторичного молекулярного иона, по оси ординат – количество вторичных ионов.

Обозначения: «пвх» - пик молекулярного спектра исходной трубки, «bf+ЭХА-вода» - трубки после удаления катодом пленки МКБ. SEM внутренней поверхности: (б) исходной трубки, (в) исходной трубки после обработки катодом, (г) трубки после удаления пленки МКБ посредством катодита

Методы ToF-SIMS и SEM обеспечили анализ чистоты изучаемой поверхности на молекулярном уровне.



### **3.4 Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной на пористой поверхности керамзитовой гранулы (модель тепличного производства)**

Концепция данного этапа работы состоит в моделировании роста и изучении основных закономерностей разрушения биопленки на примере модели тепличного производства посредством использования анолита и католита. При сохранении общей направленности экспериментов, а также подходов к анализу структуры рельефа, каждая новая модель обладает своей спецификой, которая обусловлена изменением моделируемой технологии.

Особенность данного этапа исследований заключалась в том, что изучали бактериальную пленку, сформированную на поверхности пористой гранулы гидропонного покрытия. В закрытых теплицах на поверхности гидропонного покрытия развиваются микроорганизмы, вызывающие заболевания растений, нарушение их роста и развития.

По мере увеличения биомассы микробной пленки интенсифицируется ее разложение ввиду дефицита субстратов и нарастающей гипоксии в объеме биопленки. Это создает проблемы с обеспечением микробиологической безопасности производимой продукции и снижает эффективность производства. Для изучения дезинтеграции биопленки, сформированной на поверхности пористой керамзитовой гранулы, нами был разработан реактор (рисунок 12).

Реактор для формирования бактериальной пленки на поверхности керамзитовой гранулы представляет собой стеклянную ёмкость, разделенную двумя горизонтальными подвижными барьерами, которые притапливают гранулы.

Барьеры насажены на ось якорной мешалки, что позволяет перемешивать не только питательный раствор, содержащий планктонную форму микроорганизмов, но образцы пористого материала. Привод (шаговый двигатель 28BYJ-48) мешалки расположен в верхней части лабораторного стенда и подключен к контроллеру (ARDUINO MEGA 2560).

Реактор рассчитан на 20-30 гранул и работает следующим образом. После того, как в пространство между барьерами засыпаются керамзитовые гранулы, в объем заливают питательный раствор и запускают программу перемешивания.

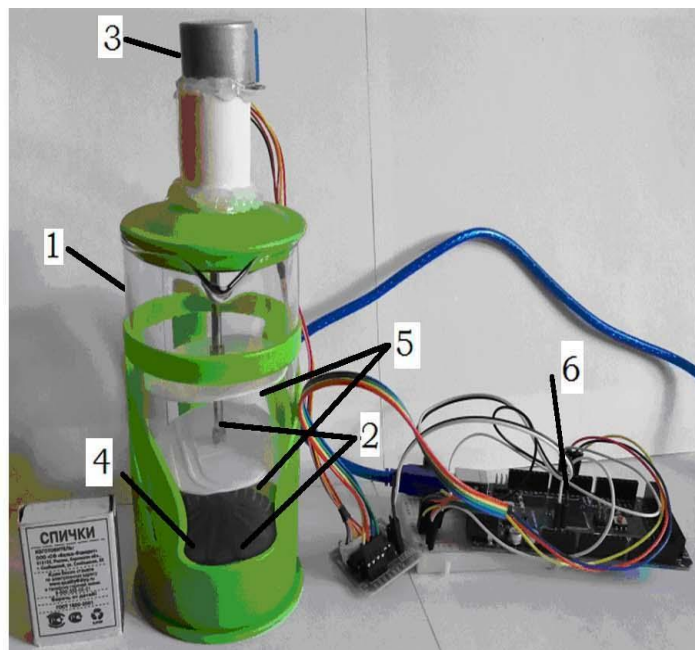
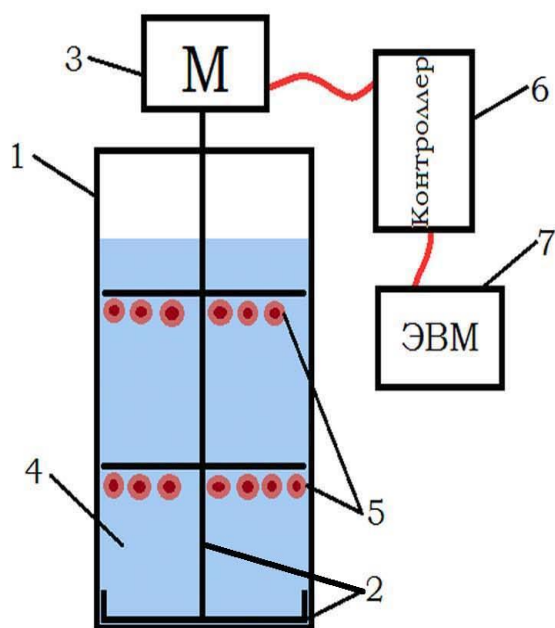


Рисунок 12 – Принципиальная схема (слева) и общий вид разработанного реактора для формирования бактериальной пленки на поверхности пористого материала гидропонного покрытия, например, керамзитовой гранулы, как элемента тепличного производства. Обозначения: 1– корпус; 2 – якорная мешалка; 3 – привод якорной мешалки; 4 – питательный/рабочий раствор; 5 – слой гранул керамзита; 6 – контроллер управлением привода; 7 – ЭВМ (пульт управления)

По завершении формирования биопленки, перемешивание останавливают, раствор сливают, а вместо него заливают ЭХАР. Последующую дезинфекцию также проводят при перемешивании. По мере готовности ЭХАР сливают и гранулы керамзита извлекаются для изучения.

Таким образом, в результате выполнения исследования разработан и введен в эксплуатацию действующий лабораторный реактор для формирования биопленки в полости пористого материала. Эффективность данной системы подтверждают сравнительные данные ультрамикроскопического анализа (рисунки 13-14).

Для экспериментального моделирования роста и дезинтеграции бактериальной пленки использовали разработанную нами бинарную композицию микроорганизмов, которая включает молочнокислые бактерии и кишечную палочку.

Для реактора, имитирующего условия роста биопленки на гидропонной подложке, на дистиллированной воде готовили суспензию каждого препарата с добавлением глюкозы, гидрофосфата и дигидрофосфата натрия, хлорида натрия. Бактериальную пленку растили при комнатной температуре  $22 \pm 2^\circ \text{C}$  в течение 7 суток.

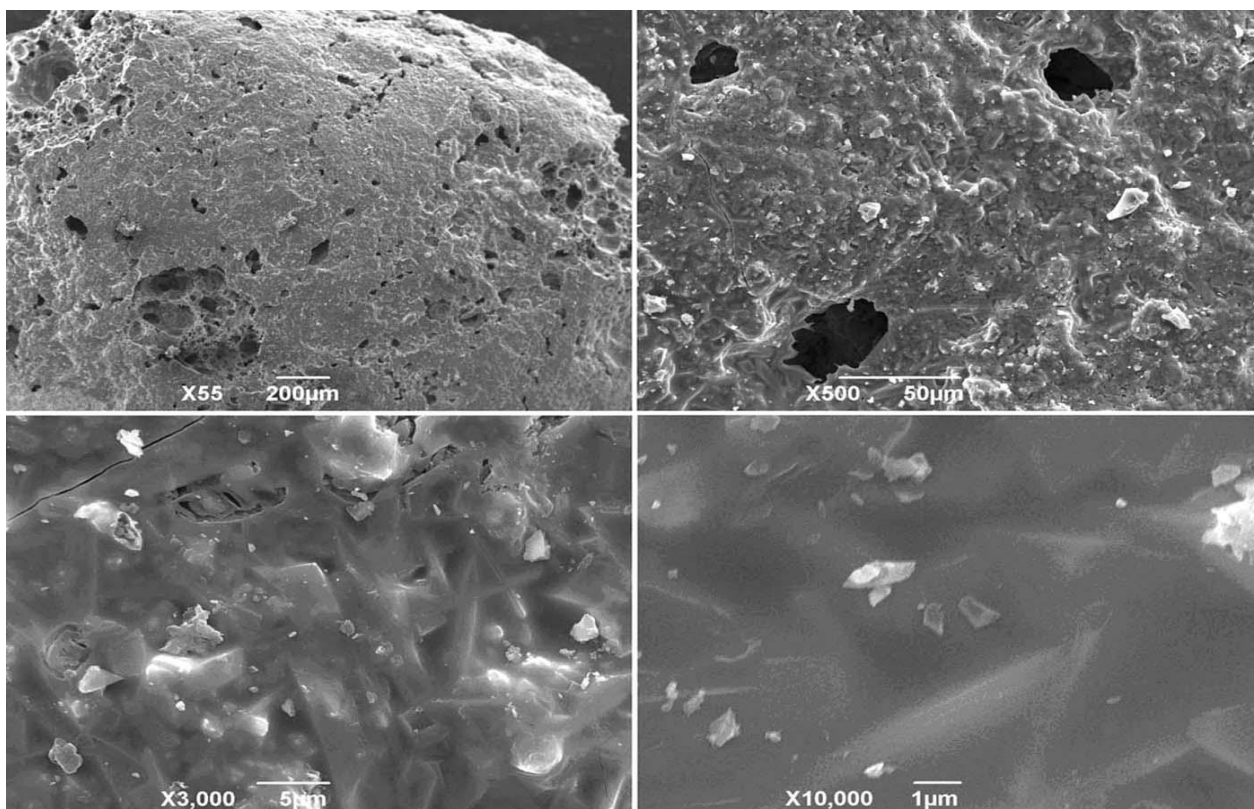


Рисунок 13 – Микрофотографии поверхности чистой керамзитовой гранулы, на которой отсутствует биопленка

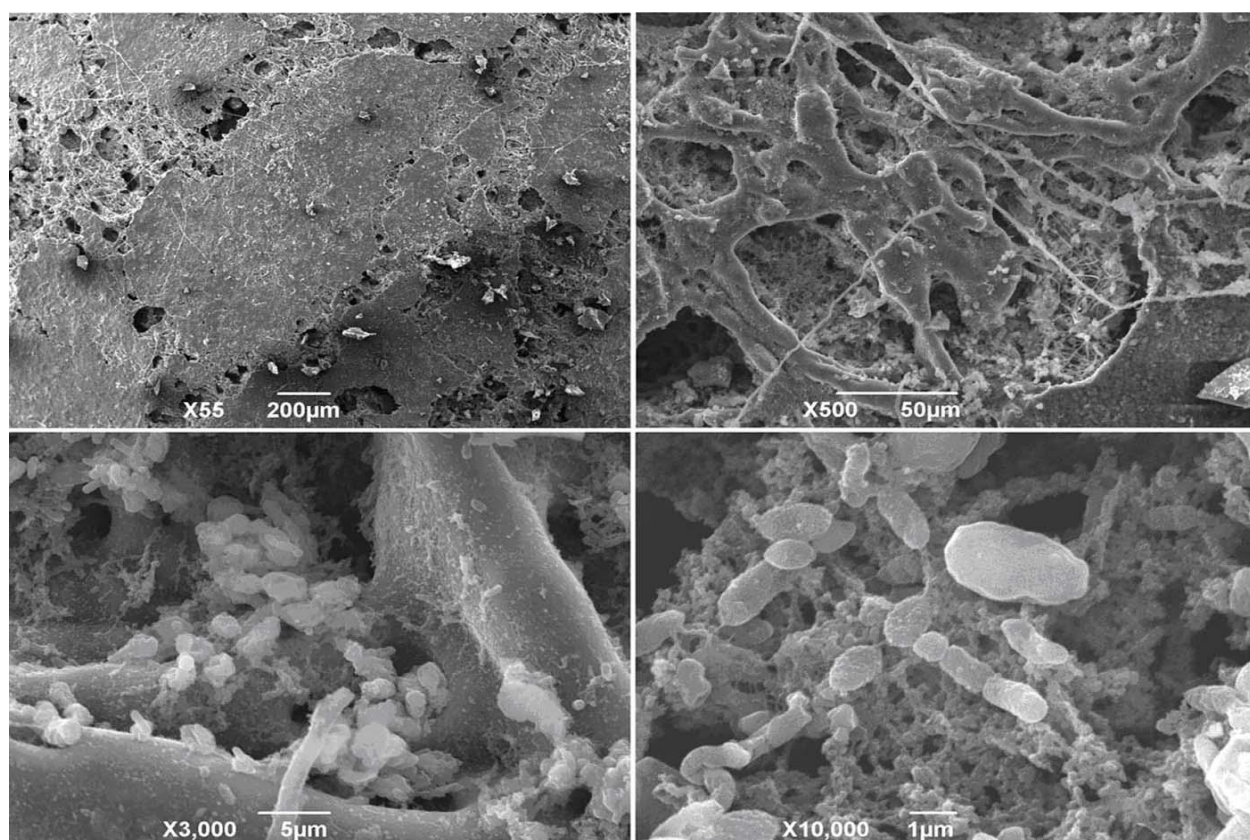


Рисунок 14 – Микрофотографии поверхности керамзитовой гранулы, на которой сформирована биопленка



Рисунок 15 иллюстрирует характерные результаты определения методом SEM структуры рельефа бактериальной пленки на поверхности керамзитовой гранулы, обработанной разными растворами.

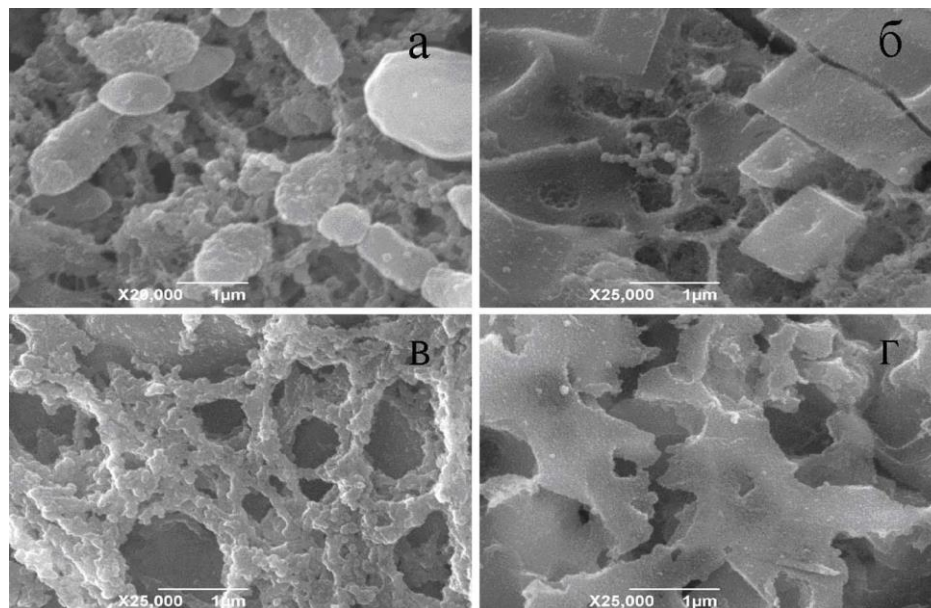


Рисунок 15 – Микрофотографии структуры бактериальной пленки на поверхности гранулы, отмытой потоком: (а) воды, (б) 10%-ного водного раствора NaOH, (в) католита, (г) последовательно католита и анолита

По-видимому, абсолютная дезинфекция пористой поверхности потоком ЭХАР не всегда достижима, но такое требование и не ставится в технологии тепличного производства. Из сравнения со структурой исходной бактериальной пленки (рисунок 15а) видно, что все используемые растворы дезинтегрируют биопленку, но структура разрушений визуально отличается (рисунок 15б-г). Общим морфологическим признаком является видимое отсутствие клеточной компоненты.

### **3.5 Разработка модели поверхности плодоовощной продукции, ультрамикроскопическое исследование структуры биопленки и степени ее дезинтеграции субмикронным аэрозолем ЭХА-воды, обеззараживание поверхности растительного сырья**

С учетом хрупкости и чувствительности к агрессивным средам поверхности биологической продукции (фруктов и ягод) для обеззараживания модельной

поверхности использовали анодную и катодную фракции ЭХА-воды, полученные в лабораторном электролизере из водопроводной воды.

Для создания модели плодоовощной продукции был разработан тест-объект, представляющий собой 10 %-ный агаровый гель, содержащий питательный субстрат и электролиты ( $100 \text{ мМ/дм}^3 \text{ K}^+$  и  $5 \text{ мМ/дм}^3 \text{ Na}^+$ ).

Биопленку формировали нанесением на поверхность агарового геля водной суспензии бифидобактерий и *E. coli* («Бификол»). Структуру образующейся пленки изучали с помощью SEM (рисунок 16), для чего использовали методику подготовки препарата, отработанную на неорганических материалах.

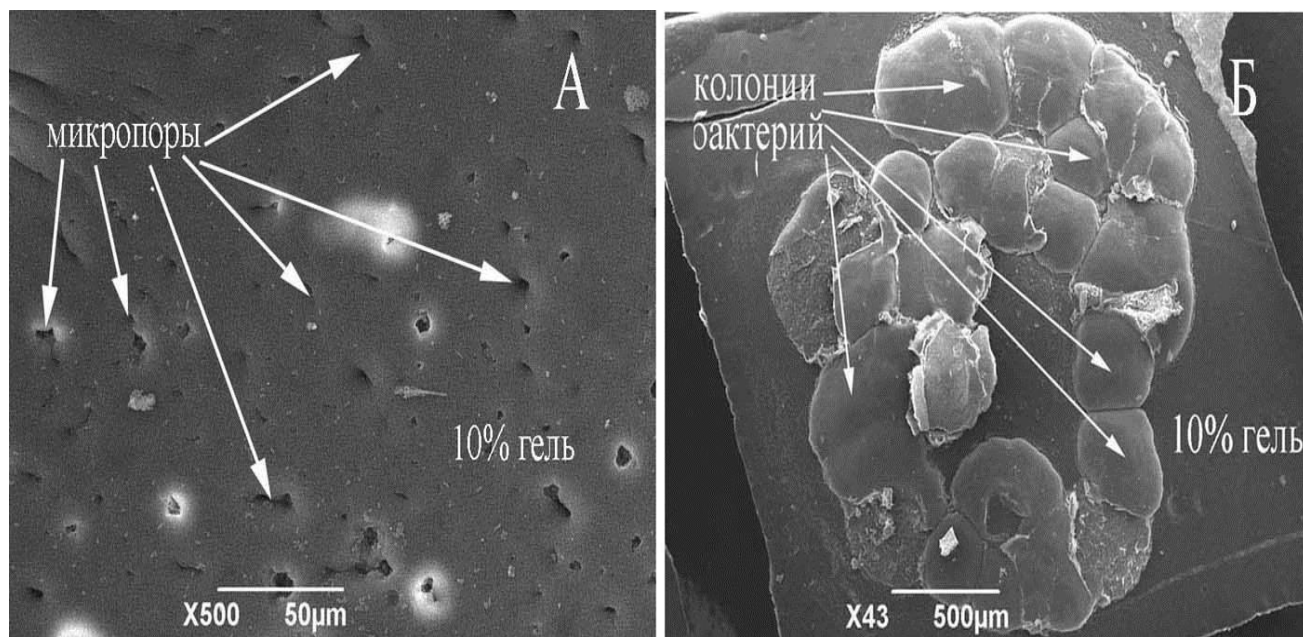


Рисунок 16 – Микрофотографии тест-объекта, моделирующего плодоовощную продукцию: (А) поверхность 10 %-ного агарового геля, который содержит  $\text{K}^+$  ( $100 \text{ мМ/дм}^3$ ),  $\text{Na}^+$  ( $5 \text{ мМ/дм}^3$ ), питательный субстрат; (Б) биопленка в виде кластера колоний, сформированных из композиции бифидобактерий и *E. coli*

Рисунок 16А демонстрирует наличие на достаточно однородной поверхности геля микропор, свидетельствующих об адекватности предложенной модели поверхности плодоовощной продукции. На рисунке 16Б показана образованная на поверхности геля биопленка, состоящая из нескольких бактериальных колоний, сформированных из бинарной системы планктонных бифидобактерий и *E. coli*.

Микрофотографии матрикса бактериальной пленки (препарат «Бификол»), сформированной на поверхности тест-объекта (10 %-ный агаровый гель) приведены на рисунке 17.

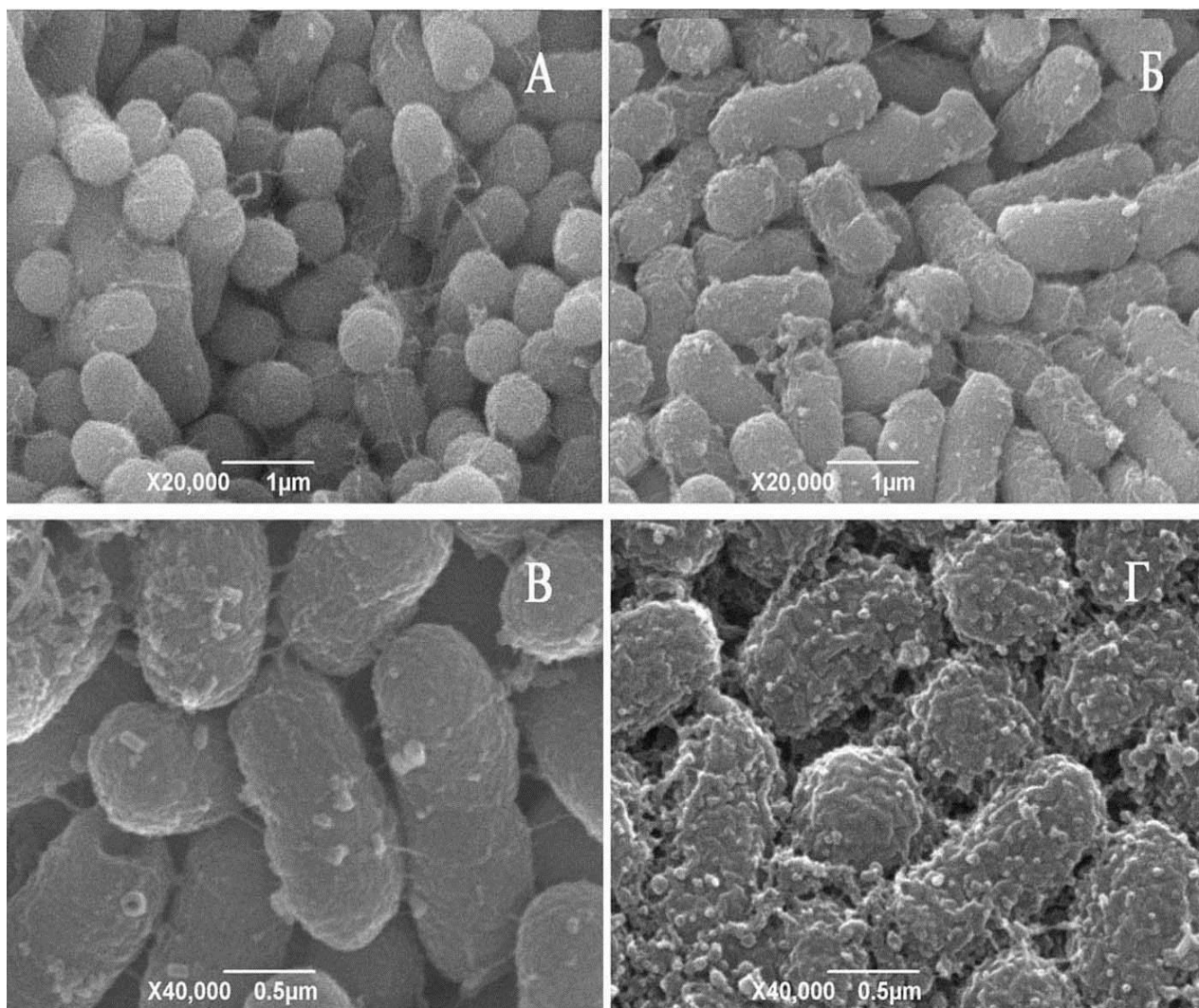


Рисунок 17 – Микрофотографии матрикса бактериальной пленки из препарата «Бификол», сформированной на поверхности тест-объекта (10 %-ный агаровый гель): (а) верхний слой молочнокислых бактерий, (б) нижний слой клеток кишечной палочки, (в) клетки *E. coli*, обработанные потоком анолита, (г) клетки *E. coli*, обработанные в среде аэрозоля анолита

Изображения, полученные при «крейсерском» (рисунок 17а-б) и более высоком увеличении (рисунок 17в-г), показывают перспективу метода SEM в области изучения поверхности бактериальной пленки с пространственным разрешением на уровне наноструктур. Используя разработанную методику проведен анализ результатов.

Сравнительные данные эксперимента по дезинфекции посредством потока ЭХА-воды приведены на рисунке 18, где микрофотографии (серия А) соответствуют обработке бактериальной пленки потоком воды.

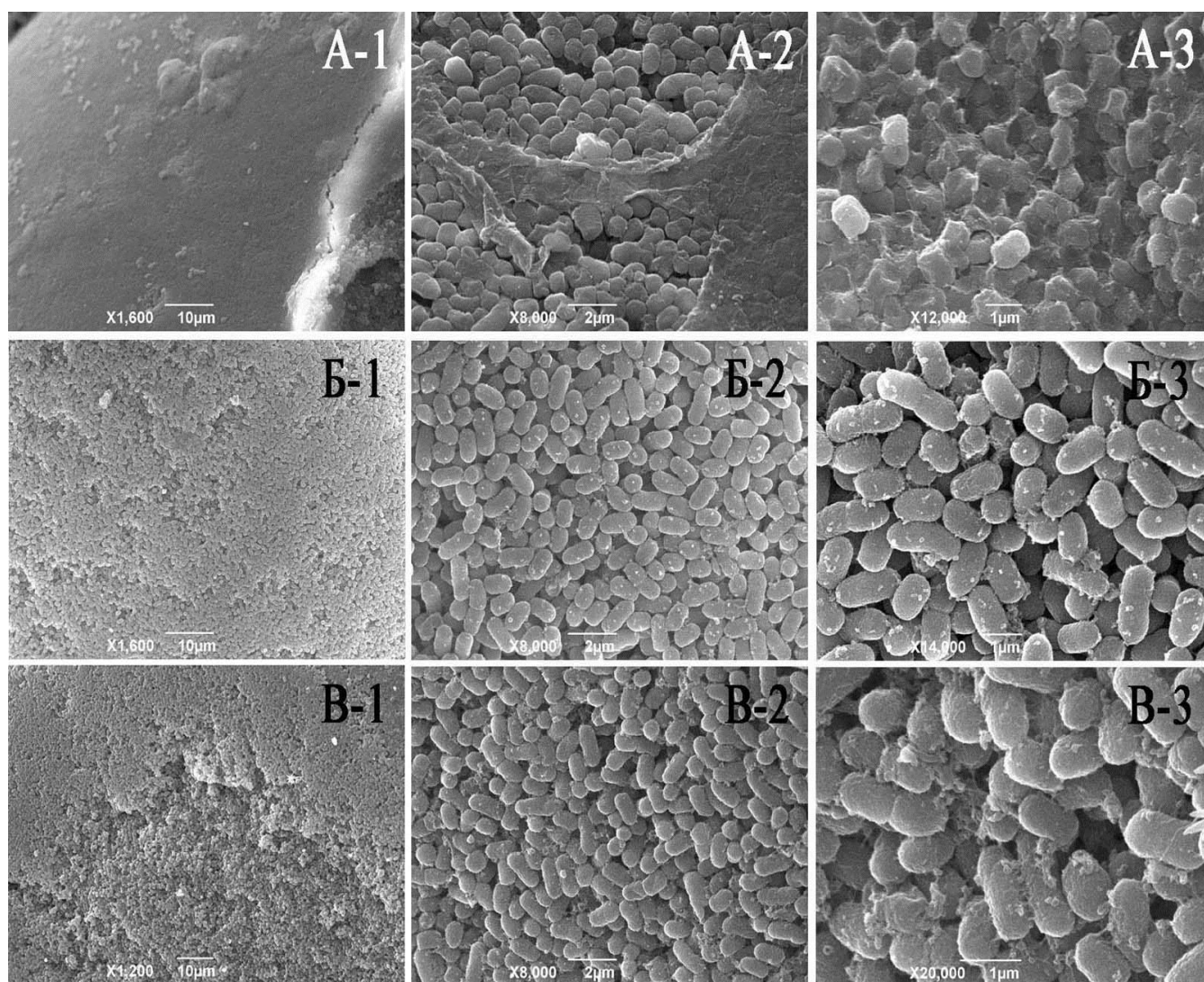


Рисунок 18 – Микрофотографии бактериальной пленки, сформированной на поверхности тест-объекта (10 %-ный агаровый гель), после обработки: (серия А) 40 мин потоком воды, (серия Б) 40 мин потоком католита, (серия В) по 20 мин потоком католита и анолита, последовательно

Видно, колония бактерий сверху покрыта тонкой пленкой (рисунок 18А-1). Поверхностная пленка на некоторых участках удалена (рисунок 18А-2), под ней находится верхний слой клеток (рисунок 18А-3). Плотная упаковка объясняется достаточным для интенсивного роста микроорганизмов количеством субстрата, поступающего непосредственно от подложки.

Другими словами, в моделируемой ситуации развитие колонии бактерий практически не зависит от транспорта веществ из внешнего окружения. Высокий уровень автономности является дополнительным фактором, который значительно затрудняет качество дезинтеграции биопленки.

Иная структура наблюдается после обработки бактериальной колонии католитом (рисунок 18, серия Б), который разрыхляет матрикс бактериальной пленки, возможно, за счет деградации матрикса. В результате с поверхности смывается барьерная пленка (рисунок 18Б-1) и подлежащий слой молочнокислых бактерий (рисунок 18Б-2; рисунок 18Б-3). Разрушение бактериальной колонии вызывает и последовательное воздействие католитом и анолитом (рисунок 18 серия В).

Данный факт соответствует результатам, полученным ранее на других экспериментальных моделях, в которых также применяли дезинфекцию потоком раствора. В результате такого метода обработки на поверхности образца остается много влаги, которая способствует регенерации биопленки. Кроме того, за счет гидродинамических эффектов поток жидкости способен оказывать механическое воздействие, что снижает качество деликатной продукции, например, ягод или листьев салата.

Поэтому на следующем этапе исследования дезинтеграцию тест-объекта проводили в аэрозоле субмикронных частиц ЭХА-воды (так называемый мелкодисперсный «Сухой туман»), для производства которого было разработано специальное техническое устройство (рисунок 19) и смоделирован лабораторный стенд на основе ультразвукового генератора аэрозоля (рисунок 20).

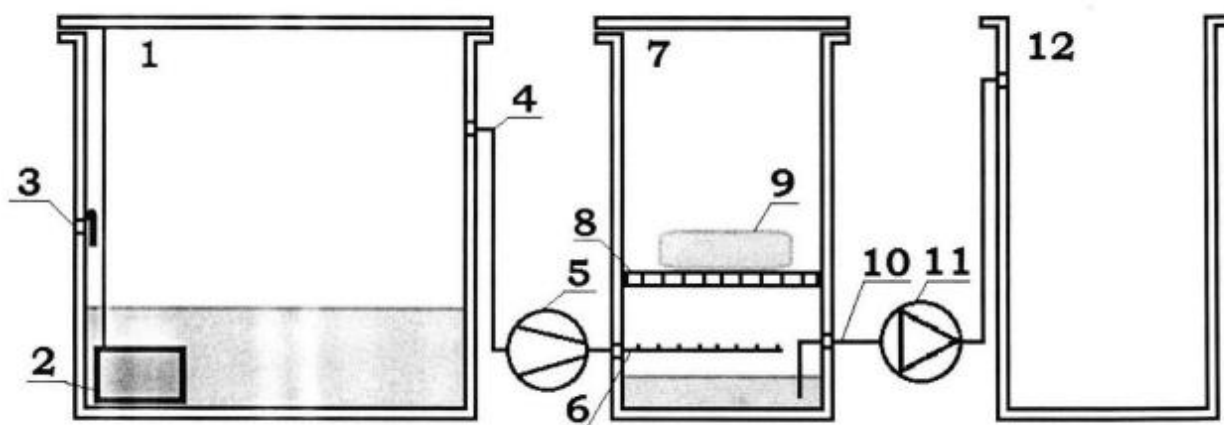


Рисунок 19 – Устройство для обработки плодовоовощной продукции жидкостным туманом из дезсредства, где 1 – резервуар, 2 – генератор капель, 3 – обратный клапан, 4 – трубопровод подачи, 5 – компрессор, 6 – распределительный коллектор, 7 – камера обработки, 8 – решетка для размещения объекта обработки, 9 – объект обработки, 10 – трубопровод отвода конденсата, 11 – насос, 12 – резервуар для сброса конденсата



Разработанное устройство (патент № 198829, приложение А) позволяет моделировать условия для изучения жизненного цикла биопленок, образованных на поверхности плодоовощной продукции, с возможностью их дезинтеграции жидкостным капельным туманом. Техническим результатом является создание условий для образования жидкостного тумана, произведенного из дезсредств, полученных методом «зелёной» электрохимии, с последующей регулируемой их подачей в камеру для обработки поверхности плодоовощной продукции.

Необходимо отметить, что воздействие ультразвука на метастабильную ЭХА-воду нормализует ее параметры. Так, в условиях используемого стенда обработка ЭХА-воды ультразвуком в течение 15 мин изменяла ОВП анолитной фракции с  $+800 \pm 5$  мВ до  $+700 \pm 5$  мВ, а католитной с  $-760 \pm 5$  мВ до  $+200 \pm 5$  мВ. Поэтому начальная версия испытательного стенда (рисунок 20, Б-В) была видоизменена на проточный вариант, в котором свежая ЭХА-вода поступает непрерывным потоком (рисунок 20, А). Чтобы избежать выпадения капель влаги на бактериальную пленку, чашку Петри располагали вниз поверхностью тест-объекта (рисунок 20, А-Б).

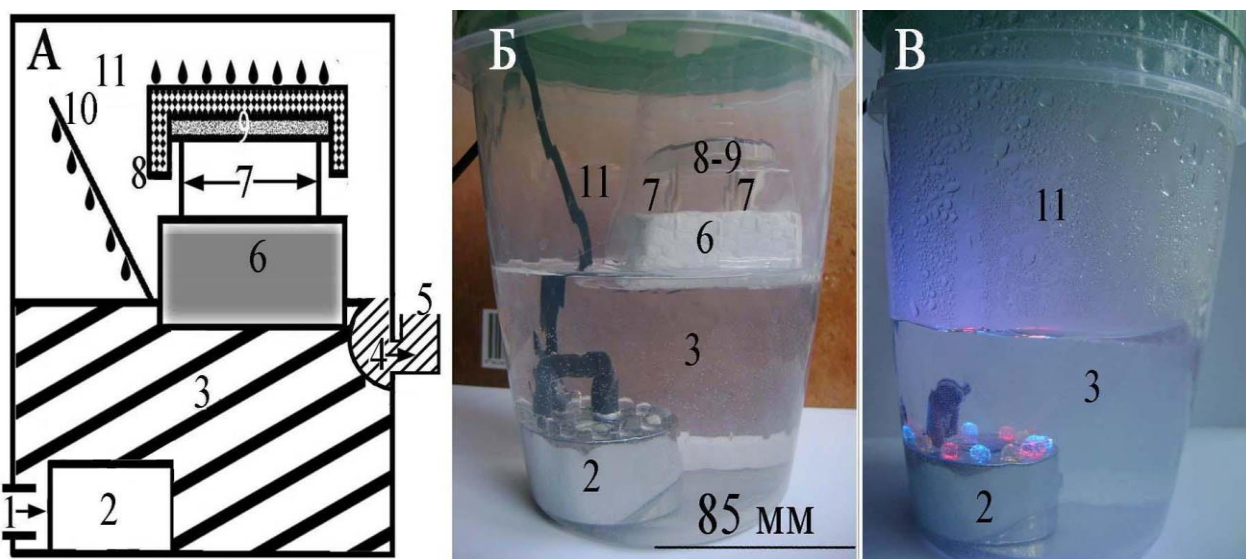


Рисунок 20 – Стенд для нанесения на поверхность субмикронных частиц аэрозоля жидкости: (А) схема стенда для получения аэрозоля, (Б) стенд в собранном виде; (В) стенд в рабочем режиме «Сухой туман», где 1 – вход потока жидкости, 2 – ультразвуковой генератор, 3 – объем распыляемой жидкости, 4 – выход потока жидкости, 5 – сифон для слива жидкости, 6 – плавающая платформа, 7 – стойки для крепления чашки Петри, 8 – чашка Петри, 9 – агаровый гель с бактериальной пленкой на поверхности, 10 – отражатель брызг жидкости, 11 – объем аэрозоля («Сухой туман»)

Сравнительные результаты дезинфекции в среде «Сухой туман» приведены на рисунке 21.

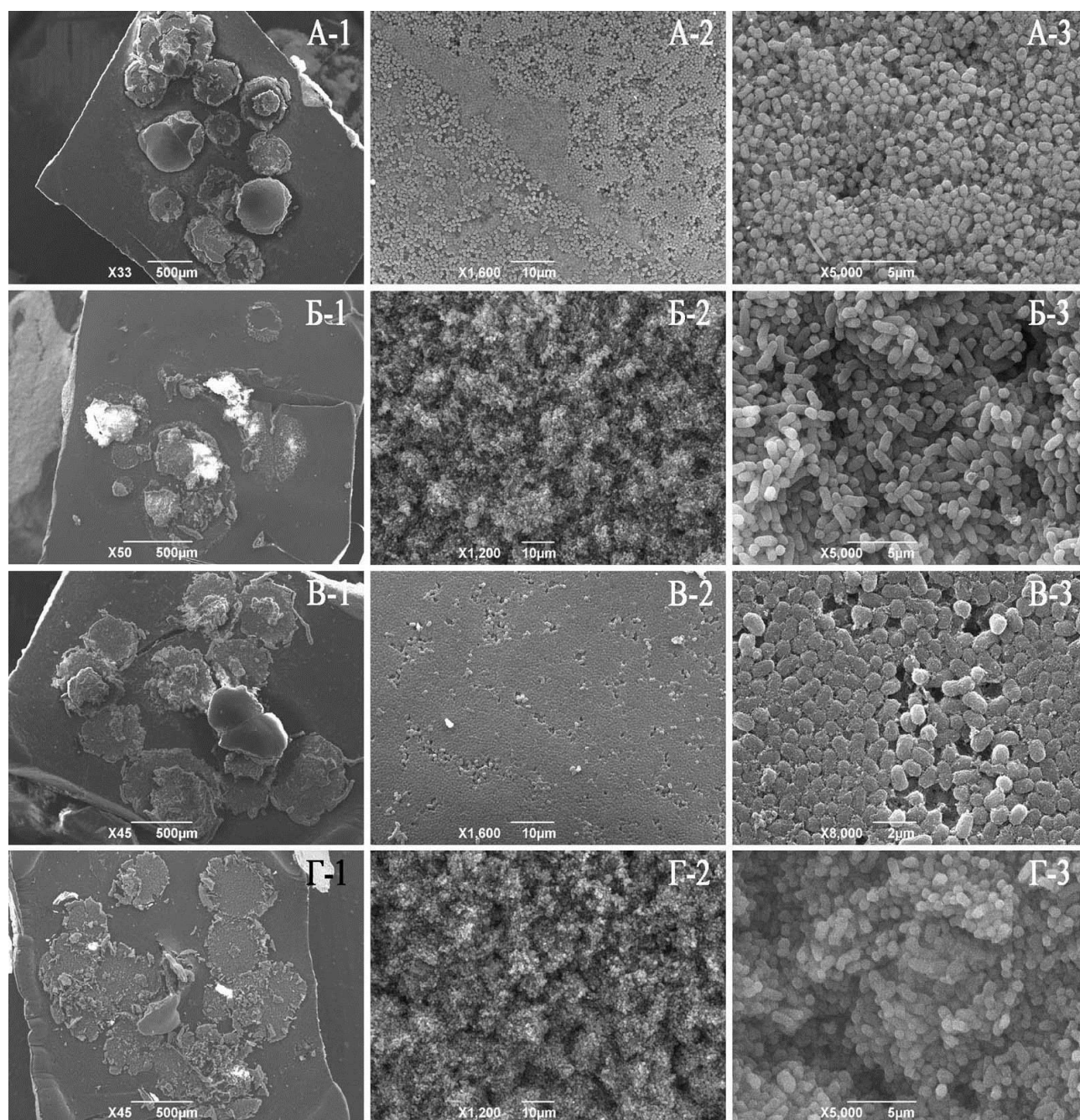


Рисунок 21 – Микрофотографии бактериальной пленки на поверхности геля, подвергнутого обработке аэрозолем «Сухой туман»: (серия А) аэрозоль воды, 40 мин; (серия Б) аэрозоль католитной фракции, 40 мин; (серия В) аэрозоль анолитной фракции, 40 мин; (серия Г) аэрозоль католитной (20 мин) и анолитной (20 мин) фракции, последовательно

На фотографиях видно (А-1; Б-1; В-1; Г-1), что основная масса клеток удалялась, но везде оставался их донный слой. В случае обработки аэрозолем католитной фракции

клеточная масса выглядела более разрыхленной (Б-2; Г-2), чем без таковой (А-2; В-2), что указывает на наличие эффекта действия. Деградация межклеточного матрикса хорошо прослеживалась при большом увеличении (Б3; Г3). В гораздо менее выраженной форме эффект присутствовал в среде аэрозоля воды, где оставались следы барьерной пленки (А-2), а также сохранялся поверхностный слой МКБ (А-3). Опыт, накопленный при анализе биопленки на поверхности керамзитовой гранулы, показал, что некорректно ставить цель абсолютной дезинфекции пористого материала посредством ЭХА-воды. Ключевыми задачами настоящего этапа работы явились поисковые научные исследования, определение механизма и оценка возможности дезинтеграции бактериальной пленки (включая *E. coli*) на поверхности тест-объекта посредством обработки аэрозолем ЭХА-воды. Полученные результаты иллюстрирует блок микрофотографий (рисунок 22).

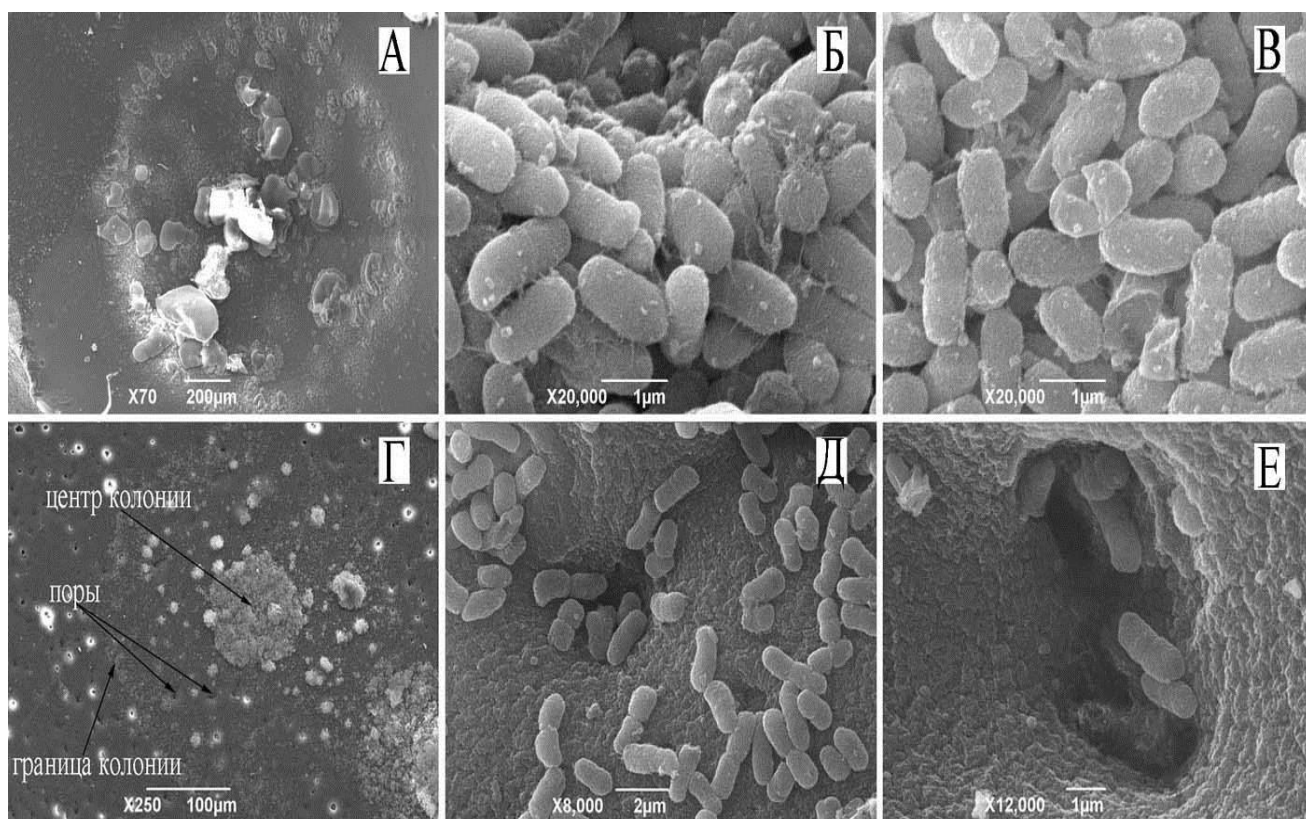


Рисунок 22 – Микрофотографии тест объекта (10%-ный агаровый гель), где (А) участок поверхности со следами неполного удаления кластера бактериальных колоний в результате обработки последовательно аэрозолем католитной и анолитной фракций; (Б) фрагмент колонии, обработанной католитной фракции; (В) фрагмент колонии, обработанной последовательно католитной и анолитной фракциями; (Г) участок поверхности со следами неполного удаления отдельной колонии; (Д) то же со скоплением клеток *E. coli* в области микропоры; (Е) то же при большем увеличении



Наиболее эффективный режим реализуется при действии аэрозоля католитной фракции с последующей обработкой аэрозолем анолитной фракции (А). При этом католитная удаляет поверхностную пленку колонии (Б), что облегчает диффузию анолитной в тело биопленки с последующим разрушением микроорганизмов (В). Следует отметить, что не удастся полностью удалить бактериальную пленку (Г). Складывается впечатление о прорастании колонии бактерий вглубь тест-объекта (10 %-ный агаровый гель).

Такой эффект обусловлен, возможно, наличием микропор на поверхности тест-объекта (Д, Е). Показан возможный механизм деструкции бактериальной пленки со скоплением клеток *E. coli*, что важно – в щадящих условиях без добавления хлорсодержащих составляющих.

На следующем этапе работы использовали рабочий раствор анолита, разбавленный в 5 раз до концентрации активных веществ  $100 \text{ мг/дм}^3$ . Для определения КМАФАнМ плодоовощного сырья (сельдерей листовой, морковь, яблоки) брали смывы с их поверхности и сеяли на подложки, которые помещали в термостат ( $35 \pm 0,5^\circ \text{C}$ ) на двое суток без циркуляции воздуха. Результаты данного исследования приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика показателей КМАФАнМ на поверхности исходного растительного сырья и после единоразовой промывки водой и анолитом

Сырье	КМАФАнМ, КОЕ/г			
	Норма (не более)	Фактический результат		
		Исходное сырьё	Промывка водой	Промывка рабочим раствором анолита
Сельдерей	$1,0 \times 10^4$	$9,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	Не обнаружено
Морковь		$2,4 \times 10^8$	$7,0 \times 10^7$	Не обнаружено
Яблоки		$1,2 \times 10^7$	$5,0 \times 10^5$	Не обнаружено

Из данных таблицы видно, что исходное сырьё заражено микроорганизмами и не рекомендуется к употреблению в пищу в необработанном виде. Обработка сырья водой не являлась эффективной, а анолит уничтожил бактерии на продуктах. Полученные результаты позволяют рекомендовать аэрозоль анолитной фракции ЭХА-воды к

применению при предобработке сырья и материалов, а анолит – в целях обеспечения микробиологической безопасности готовых продуктов на этапах их переработки и производства без снижения потребительских свойств.

Практическая апробация метода аэрозольной обработки плодоовощной продукции проводилась на базе столовой Московского авиационного института. Полученные результаты доказывают эффективность предложенного метода подавления микробной контаминации.

### **3.6 Исследование метода безреагентного корректирования свойств пищевых сред (муки, дрожжей и хлеба) при использовании ЭХА-воды**

В связи с тем, что ЭХА-вода обладает высокой физико-химической активностью, на следующем этапе работы была изучена возможность безреагентного регулирования свойств пищевых сред и влияния на технологические процессы (на примере муки, дрожжей и хлеба) за счет ее взаимодействия с пищевыми ингредиентами. Для этого, на первом этапе была разработана специальная схема установки для подготовки водных ЭХА-растворов (патент № 213020, приложение Б), представленная на рисунке 23.

Разработанная установка работает следующим образом: в анодную и катодную камеры 2 и 3 устанавливаются сменные трубчатые электроды 5 и 6 по принципу «труба в трубе», причём меньший электрод устанавливается внутри цилиндрической керамической мембраны 4, представляющей собой стакан. Для удобства обслуживания клеммы выполнены в виде быстроразъемных соединений. В установку заливается водный раствор, после подключения микроконтроллера 12 к источнику постоянного тока 7 выставляются предполагаемая сила тока, время обработки и контроля, по истечению заданных интервалов срабатывают соленоидные клапаны 15, 16 и запускаются насосы 17, 18.

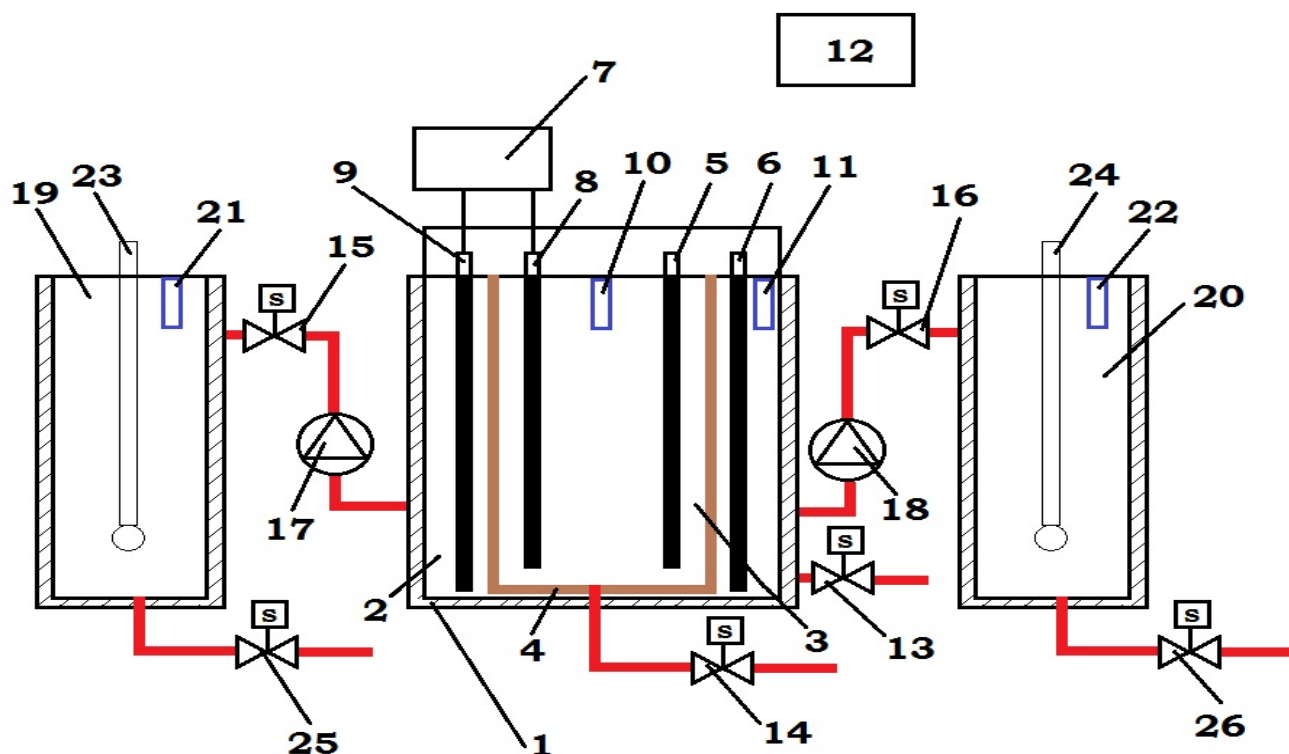


Рисунок 23 – Установка для подготовки водных растворов, где 1 – диэлектрический корпус, 2 – анодная камера, 3 – катодная камера, 4 – керамическая мембрана, 5 и 6 – трубчатые анод и катод, 7 – источник тока, 8 и 9 – соединительные провода и клеммы, 10, 11, 21 и 22 – датчики уровня, 12 – микроконтроллер, 13, 14, 15, 16, 25 и 26 – клапаны слива, 17 и 18 – насосы для забора полученных растворов, 19 и 20 – резервуары, 23 и 24 – измерительные электроды

Наполнение резервуаров 19, 20 регулируется поплавковыми датчиками уровня 21, 22, по достижению уровня насосы 17, 18 отключаются. После измерения электродами 23, 24 водные растворы сливаются через соленоидные клапаны 25, 26 и могут быть использованы для проведения экспериментов. Для удобства эксплуатации анодной и катодной камер 2 и 3 предусмотрены сливные соленоидные клапаны 13, 14, после опорожнения камер и отключения источника питания электроды 5, 6 могут быть извлечены для чистки или замены на другие.

Затем было изучено влияние анодной и катодной фракций ЭХА-воды на параметры качества пшеничной муки, дрожжей и хлеба. Также определяли изменения ОВП и pH анолитной и католитной фракций ЭХА-воды в зависимости от времени хранения (закрытая емкость, 72 ч) с целью контроля их физико-химических свойств для последующего использования, например, не на месте получения (рисунки 24 и 25).

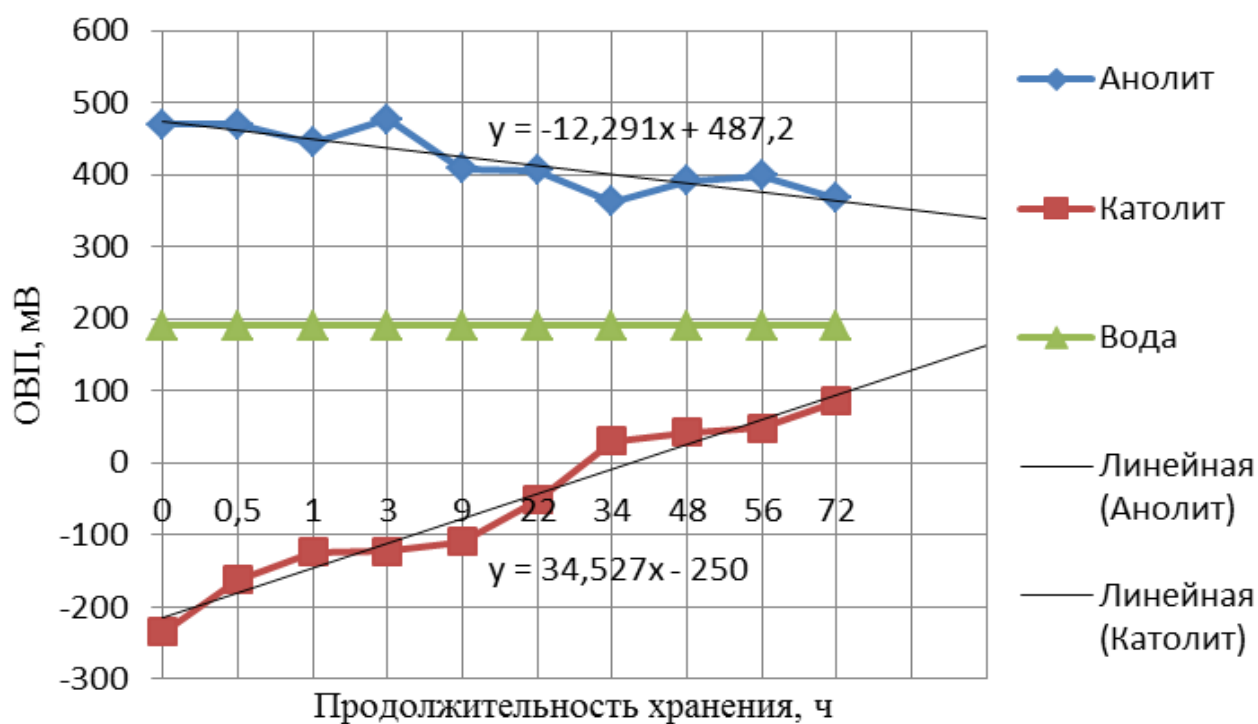


Рисунок 24 – Изменение ОВП фракций ЭХА-воды в период релаксации

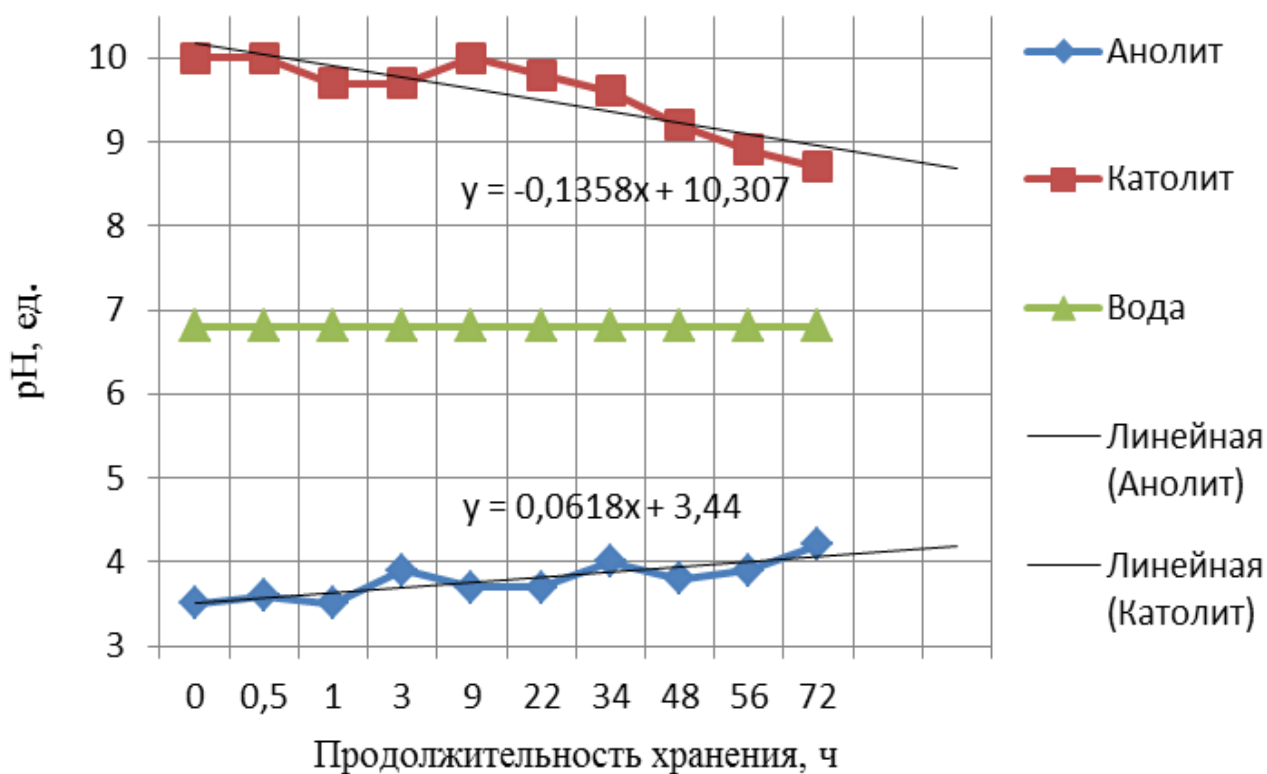


Рисунок 25 – Изменение значения pH фракций ЭХА-воды в период релаксации

Видно, как со временем происходит изменение ОВП обеих фракции (релаксация метастабильного состояния). Показатели pH фракций ЭХА-воды также изменялись во

времени в направлении исходных значений. Установлено влияние фракций ЭХА-воды на свойства муки, дрожжей и качество хлеба (таблицы 3-4).

Таблица 3 – Влияние фракций ЭХА-воды на свойства клейковины и ВУС муки

Образцы муки и фракции ЭХА-воды	Количество клейковины, %	Значение ИДК-1, ед. приб.	Растяжимость клейковины, см	Гидратационная способность, %	ВУС муки, %
№ 1 [контроль]	36,0±0,1	75,3±0,5	14±0,5	188,0±2,1	170±2,6
№ 1 + анолитная	35,2±0,1	67,7±0,3	12±0,3	176,7±1,8	168±0,6
№ 1 + католитная	36,0±0,2	66,8±0,4	12±0,3	190,1±3,3	190±2,3
№ 2 [контроль]	32,0±0,1	55,4±0,3	11±0,5	174,2±1,6	170±1,6
№ 2 + анолитная	30,8±0,2	58,3±0,3	10±0,1	160,7±2,2	169±0,5
№ 2 + католитная	33,2±0,2	66,5±0,3	11±0,3	180,9±2,5	179±0,5

Представленные в таблице 3 данные свидетельствуют о том, что:

- мука №1 по сравнению с мукой №2 содержала больше клейковины, обладала более высокой гидратационной способностью; её клейковина была более слабой, а выход при отмывке больше;
- анолитная фракция ЭХА-воды не влияла на качество клейковины, но снижала её относительное содержание;
- католитная фракция ЭХА-воды снижала значения ИДК в слабой муке и повышала в крепкой муке; связи белков в клейковине усиливались и ослаблялись, соответственно.

Различия значений ИДК и растяжимости клейковины указывают на то, что влияние анолитной и католитной фракций может быть связано с изменением зарядов радикалов аминокислот (вероятно, в основном, глиадиновой фракции).

Показана возможность использования фракций ЭХА-воды для коррекции технологических свойств муки пониженного качества. Определено, что анолитная фракция, не изменяя качество клейковины уменьшает ее количество на 2,0–3,7 %.

Католитная фракция способствует укреплению теста при использовании муки с более слабой клейковиной (показатель ИДК снизился на 11,3 %) и расслаблению – с более крепкой (показатель ИДК повысился на 20 %), повышению ВУС слабой муки на 11,7 %, сильной – на 5,3 %, активации дрожжевых клеток и повышению показателя Н/Д хлеба.

Таблица 4 – Влияние фракций ЭХА-воды на подъемную силу дрожжей и физико-химические показатели качества хлеба

Образцы муки и фракции ЭХА-воды	Стандартный метод, мин	Ускоренный метод, мин	Пористость хлеба, %	Удельный объем хлеба, см <sup>3</sup> /г	H/D	pH
№ 1 [контроль]	66,4±2,5	66,5±0,1	62,2±0,4	2,86±0,14	0,64±0,04	2,2±0,1
№ 1 + анолитная	69,0±2,0	77,0±0,1	61,0±0,2	2,72±0,10	0,78±0,03	2,0±0,1
№ 1 + католитная	61,6±1,8	63,0±0,2	63,8±0,3	2,82±0,16	0,79±0,03	2,2±0,1
№ 2 [контроль]	68,2±2,4	68,0±0,1	61,8±0,2	2,69±0,14	0,70±0,02	2,1±0,1
№ 2 + анолитная	70,2±1,7	80,0±0,2	61,2±0,3	2,58±0,12	0,80±0,03	2,1±0,1
№ 2 + католитная	65,5±1,5	64,0±0,2	62,6±0,4	2,72±0,12	0,80±0,04	2,2±0,1

У образцов хлеба, приготовленных на католитной фракции, в сравнении с анолитной удельный объем и пористость были выше на 3,7–5,4 % и 2,3–4,6 %, соответственно.

Таким образом, использование католитной фракции при замесе пшеничного теста может ускорять процесс его созревания за счет повышения бродильной активности дрожжей, интенсификации набухания крахмальных зерен и белков, способствует увеличению выхода сырой клейковины, улучшению связывания влаги.

Выявленное влияние ЭХА-воды на свойства муки, дрожжей и хлеба и определение различий в этом отношении между ее фракциями свидетельствует о возможности безреагентной технологической коррекции свойств муки пониженного качества в хлебопечении. При этом католитная фракция активизирует дрожжевые клетки и способствует укреплению теста из муки с более слабой клейковиной и расслаблению – с более крепкой.

### **3.7 Разработка метода повышения микробиологической безопасности продуктов питания из сырья животного происхождения (на примере мясных рубленых полуфабрикатов) при хранении, основанного на применении ЭХА-воды в рецептуре**

Для исключения воздействия дезинфицирующих хлорактивных веществ на пищевое сырье (предотвращение их взаимодействия с белками, фосфолипидами и другими нутриентами) в данной работе были проведены очистка и обеззараживание используемой в технологическом процессе воды, подаваемой централизованными системами питьевого водоснабжения (ГОСТ Р 51232-98) [26].

С этой целью использовали многоступенчатую водоподготовку и ЭХА с помощью установки «Изумруд» (Россия). В анодной камере установки происходит дезактивация микроорганизмов и токсинов, а также повышение в обработанной воде кислородной емкости. Затем, во флотационном реакторе отделяют часть полученной воды с коагулированными органическими частицами, связанными с кислородными пузырьками. В катодной камере происходит инаktivация хлорсодержащих оксидантов, осаждение ионов тяжелых металлов и придание воде антиоксидантных свойств. Помимо высокого качества очистки и экологичности процесса, особенностью воды, подготовленной таким образом, является насыщение водородом и пониженное значение ОВП.

С помощью органолептических, физико-химических и микробиологических методов анализа изучали влияние ЭХА-воды на качество и срок годности охлажденных мясных рубленых полуфабрикатов (свиной фарш). Образцы фарша в виде колбасок в оболочке с длиной  $110 \pm 10$  мм замешивали с введением воды в количестве 10% от массы фарша. Исследовали 3 типа образцов:

№1 – контроль (питьевая вода с ОВП  $+205 \pm 5$  мВ), традиционная рецептура,

№2 – смесь 50/50 питьевой и ЭХА-воды с ОВП  $+114 \pm 5$  мВ,

№3 – только ЭХА-вода с ОВП  $+34 \pm 5$  мВ.

Образцы хранили при температуре  $4-8^{\circ}\text{C}$ . Эксперименты проводили в четырехкратной повторности. Проведенное микробиологическое исследование не выявило наличия БКПП (колиформы), *Listeria monocytogenes* и *Salmonella* ни в одном образце.

Показано соответствие качества контрольного и опытных образцов требованиям ГОСТ 23042-2015 [14], ГОСТ 25011-2017 п.6 [15], ГОСТ 33319-2015 [22]. Внешний вид всех трех образцов – измельченное мясо свинины, консистенция у исследуемых образцов упругая.

Вкус и запах оттаянных образцов от таковых контроля не отличались. Некоторые различия содержания белков, жиров и влаги (рисунок 26) между контрольным и опытными образцами не превышали свойственных примененным методам погрешностей.

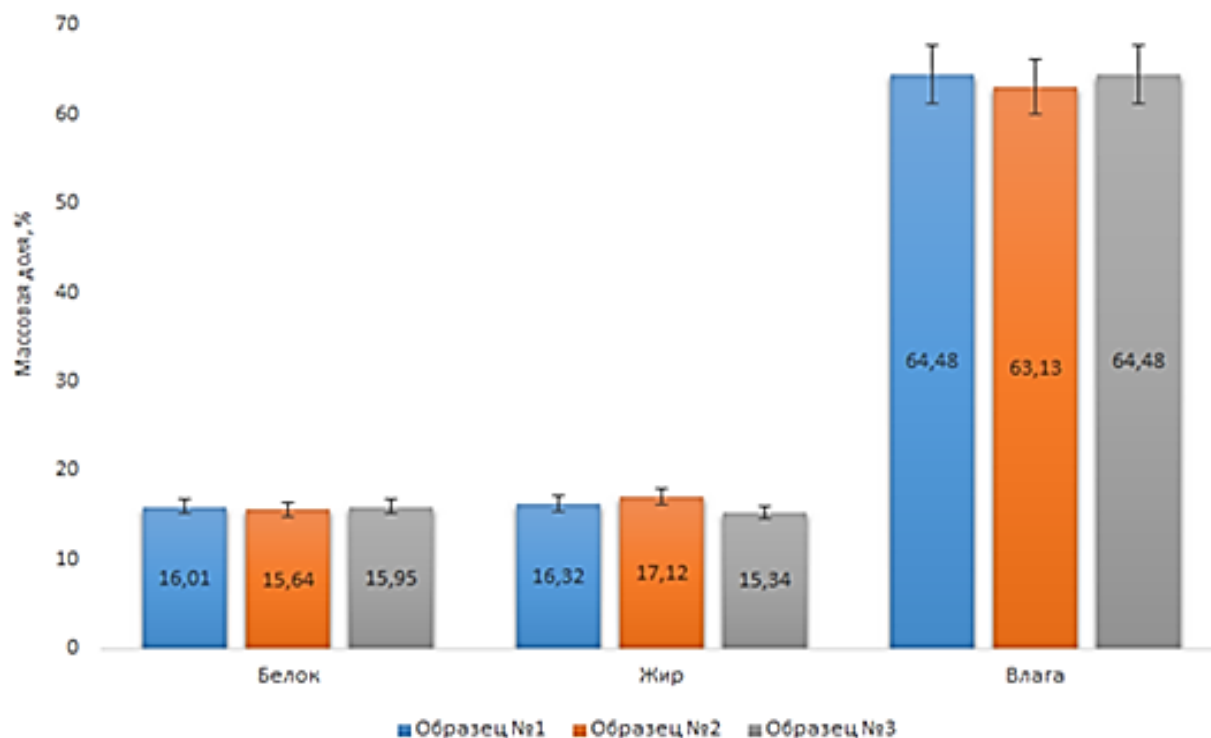


Рисунок 26 – Влияние способа обработки воды на содержание белка, жира и влаги

Показано, что ЭХА-вода не влияла на сохранность макронутриентов. Результаты определения КМАФАнМ при хранении полуфабрикатов приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Влияние ЭХА-воды на КМАФАнМ (КОЕ/см<sup>3</sup>) и продолжительность хранения мясных рубленых полуфабрикатов

Образцы	Норма (не более), ТР ТС 021/2011	КМАФАнМ образцов при хранении, сут			
		0	10	15	18
№ 1	5,0×10 <sup>6</sup>	2,0 x 10 <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>4</sup>	1,8 x 10 <sup>5</sup>	4,9 x 10 <sup>6</sup>
№ 2		2,0 x 10 <sup>3</sup>	8,2 x 10 <sup>3</sup>	1,1 x 10 <sup>5</sup>	2,0 x 10 <sup>6</sup>
№ 3		3,0 x 10 <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>	7,0 x 10 <sup>4</sup>	2,6 x 10 <sup>5</sup>



По данным таблицы к 18-м суткам хранения контрольный образец № 1 на питьевой воде имел критическое значение контаминации ( $4,9 \times 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>), а образец № 3 на ЭХА-воде – только  $2,6 \times 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>, что более чем на порядок ниже допустимых нормативными документами значений.

Можно заключить, что эффект проведенной многоступенчатой очистки и ЭХА воды наблюдается при хранении мясных рубленых полуфабрикатов с сохранением в них влажности, массовой доли белка и жира. Пролонгация срока годности полуфабрикатов с ЭХА-водой в рецептуре может достигать 20 % (18 сут по сравнению с 15 сут по традиционной технологии) с учетом коэффициента резерва 1,3 (МУК 4.2.1847-04) [39].

Для оценки качества полуфабрикатов разработали шкалу балловой оценки мясного рубленого полуфабриката «Колбаски для жарки» на основе методик, изложенных в [9, 21, 53]. Оценку производили после тепловой обработки.

Для подробного описания органолептические показатели качества определяли по шести показателям, таким как внешний вид, сочность, вкус, консистенция, запах (аромат) и цвет. Была создана комиссия из технологов отдела развития и производства АО «ЧМПЗ» в количестве 10 человек.

Приготовленные на гриле колбаски для жарки разрезали на кусочки и положили на 3 тарелки. Тарелки с кулинарной продукцией были подписаны на обратной стороне. Дегустация проводилась согласно характеристикам при балловой оценке. Шкала балловой оценки мясного рубленого полуфабриката приведена в таблице 6.

Далее полученные результаты подвергались математико-статистической обработке. Результаты экспертной оценки качества продукта «Колбаски для жарки» показали, что все исследуемые образцы набрали высокие баллы при органолептической оценке.

Таким образом, метод электрохимической активации воды создает благоприятные предпосылки для его использования в мясной промышленности. На основе [3, 107] и результатов настоящего исследования использование ЭХА-воды может рассматриваться с точки зрения пролонгации срока годности и повышения эффективности процессов экстракции, приготовления эмульгированных фаршевых систем.

Таблица 6 – Шкала балловой оценки мясного рубленого полуфабриката

Характеристика	Описание при балловой оценке				
	5 баллов	4 балла	3 балла	2 балла	1 балл
Внешний вид	Измельченное мясо, сформованное в свином череве в виде колбасок	Измельченное мясо, сформованное в свином череве в виде колбасок	Измельченное мясо, сформованное в свином череве в виде колбасок	Измельченное мясо с красным мясным соком, сформованное в свином череве в виде колбасок	Измельченное мясо с посторонними включениями, сформованное в свином череве в виде колбасок. Разваливается
Цвет	Свойственный цвет после тепловой обработки	Свойственный цвет после тепловой обработки с некоторыми включениями	Серый с красными оттенками	Красный, бордовый	Темно-коричневый
Консистенция	Нежная, сочная	Немного суховата	Плохая разжевываемость	Структура фарша разваливается при надавливании	Сухая, черствая
Вкус, запах	Свойственные данному виду продукта, вкус в меру соленый	Свойственные данному виду продукта, с ароматом пряностей	Свойственные данному виду продукта, но чувствуется посторонний запах и привкус	Свойственные данному виду продукта, вкус соленый	Свойственные данному виду продукта, посторонние вкусы, не входящие в рецептуру

Повышенный энергетический уровень и аномальная реакционная способность активированных водных сред позволяет снизить или полностью исключить применение при производстве мясопродуктов традиционно используемых химических дезинфектантов, если это необходимо для повышения уровня безвредности и безопасности продуктов питания.

Применение средств на основе ЭХА-воды позволяет осуществлять безреагентное, экологически безопасное регулирование микробиологических функционально-технологических и качественных свойств мясных систем с пролонгацией их срока годности.

Разработанные методические рекомендации по применению средств «зеленой» электрохимии для обеззараживания сырья, продукции и оборудования приведены в приложении В, акты лабораторно-производственных испытаний, опытно-промышленной апробации и внедрения результатов научной работы – в приложении Г.

С целью развития полученных результатов на заключительном этапе исследований было изучено влияние ЭХА-воды на основные макронутриенты в водном растворе (белки, растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых макронутриентов (липиды, полисахариды).

### **3.8 Исследование влияния ЭХА-воды на макронутриенты в водном растворе (белки, растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых в воде макронутриентов (липиды, полисахариды)**

Поиск новых технологий производства пищевых продуктов для обеспечения населения сопряжен с необходимостью поддерживать высокий уровень качества производимой продукции. Отвечая этой необходимости, в пищевой промышленности появляются новые способы переработки сырья, более совершенные, экономичные и экологически безопасные технологические решения.

Научное сопровождение разработок призвано обеспечить получение новейших знаний об изменении пищевых веществ и систем в технологическом процессе, пищевой ценности новых продуктов и их влиянии на организм человека и окружающую среду. Электрохимическая активация – современный способ обработки воды с целью очистки, кондиционирования и направленного изменения физико-химических свойств воды и водных растворов без введения химических реагентов.

В различных областях сельского хозяйства и пищевой промышленности ЭХА водные растворы известны не только как эффективные и безопасные дезинфицирующие средства, но и как перспективные экстрагирующие, гидролизующие и модифицирующие агенты. В большинстве методов экстракции используются чистые

органические растворители для получения экстрактов с высоким антиоксидантным потенциалом. Однако такие реагенты имеют серьезные недостатки - они экологически небезопасны, часто представляют собой летучие и взрывоопасные вещества. В поиске альтернативных способов экстракции исследователи применяют в качестве основных или дополнительных приёмов, как физические воздействия, так и более щадящие химические средства, ферментные препараты, а также комбинации различных методов [3, 107].

Таким образом, большой интерес представляет проведение как поисковых научных исследований, направленных на изучение взаимодействия ЭХА-воды с пищевыми ингредиентами (в частности, определение взаимосвязи между окислительно-восстановительным потенциалом воды и свойствами растворов компонентов сырья и готовых продуктов), так и прикладных. Перспективным является определение влияния ЭХА-воды на макронутриенты в водном растворе (белки, растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых в воде макронутриентов (липиды, полисахариды) для интенсификации процесса экстракции более безопасным методом, в том числе без использования реагентов, высоких значений температур и давления. Метод электрохимической активации рассматривается в качестве «зеленой» альтернативы органическим растворителям в процессе экстракции и является перспективным технологическим решением для повышения качества и безопасности продукции. Основным сырьем для производства продуктов питания и полуфабрикатов являются биологические матрицы, что обуславливает актуальность научной проблемы, направленной на исследование механизмов и биотехнологических эффектов действия ЭХА-воды на макронутриентные «мишени».

### **3.8.1 Исследование изменений свойств водного раствора белка под действием ЭХА-воды**

Водорастворимые белки по химической структуре являются полиэлектролитами. Мономерные звенья полимерной цепи белковой молекулы содержат ионогенные боковые группы. Белки рассматриваются как полиэлектролиты со свойствами полиамфолитов, в макромолекуле которых чередуются кислотные и основные группы. Благодаря наличию ионизованных групп макромолекулы полиэлектролитов имеют ряд

характерных электрических, конфигурационных и гидродинамических свойств. Водные растворы белков электропроводны, их свойства могут изменяться под действием электрического поля.

Показательным примером зависимости от внешних физических факторов и присутствия примесей в растворе могут служить сывороточные белки, широко используемые во многих продуктах. Например, технология текстуризации изолятов сывороточных белков предусматривает изменение упаковки глобулярных белков для улучшения взаимодействия с другими компонентами и создания новых функциональных ингредиентов, в том числе в составе волокнистых экструдированных белковых продуктов, альтернативных мясным продуктам [129].

В литературе удобным и хорошо изученным объектом исследования белковой природы считается бычий сывороточный альбумин (БСА) – глобулярный белок с молекулярной массой 64 кДа. Молекула БСА образована одной полипептидной цепью, состоящей из 583 (по данным других авторов – 607) остатков аминокислот и сложена в виде ряда петель.

Петли способны смещаться относительно друг друга, поэтому трехмерная структура альбумина лабильна, обладает конформационной подвижностью и подвержена пространственным эффектам при взаимодействии с разными веществами. Функциональные свойства сывороточного альбумина зависят от концентрации, физико-химических свойств среды, взаимодействия с растворителем. Для растворов сывороточных альбуминов характерно присутствие димеров, олигомеров и более крупных агрегатов [50, 126].

Присутствие примесей сказывается на структурных и конформационных изменениях молекул БСА. В частности, присутствие в растворах небольших концентраций мочевины (до 2М) приводит к уменьшению размеров агрегатов БСА вследствие разрушения гидрофобных связей.

С повышением концентрации мочевины до 2-8 М происходит денатурация молекул БСА, увеличиваются размеры агрегатов [50].

В работе [34] посредством методов флуоресцентной и спектроскопии отражения, вискозиметрии показано влияние примеси диметилфоамида (ДМФА) на гидродинамические свойства раствора БСА и выявлено, что при концентрации ДМФА ниже 0,2 М БСА сохраняет нативную эллипсоидную конформацию, а при концентрации

ДМФА выше 0,25 М структура БСА переходит к форме закрученного статистического клубка.

Существенное влияние на структуру и свойства белков способны оказать различные виды физического воздействия. Так методами диск-электрофореза, гель-хроматографии и кислотно-основного титрования установлено, что вакуумное ультрафиолетовое (ВУФ) облучение в диапазоне длин волн 131–161 нм в дозах 6–300 кДж/м<sup>2</sup> индуцирует разрыв слабых внутримолекулярных связей, рост молекулярной массы и увеличение объема макромолекулы БСА на фоне разрушения её гидрофобного ядра.

Облучение дозами не выше 72 кДж/м<sup>2</sup> вызывает конформационные перестройки в молекулах белка, а при больших дозах облучения формируются ассоциаты белковой макромолекулы. По изменению кривых кислотно-основного титрования фиксировали изменение функциональных свойств молекул БСА, а именно повышение буферной емкости облученного белка после ВУФ-облучения пленок белка в дозе от 6 кДж/м<sup>2</sup> до 30 кДж/м<sup>2</sup>.

Логично предположить, что в водной среде белок как полиэлектролит с высокой конформационной подвижностью может быть чувствителен к окислительно-восстановительным свойствам ЭХА-воды, в частности, с отрицательными значениями ОВП. Поэтому целью следующего этапа исследования являлось изучение влияния ЭХА-воды с крайне низкой величиной ОВП в начальной точке на свойства водного раствора белка (бычий сывороточный альбумин BSA100, Merck, Sigma-Aldrich; желатин пищевой П-11, ООО «Русская бакалейная компания», Россия).

Католитную фракцию электрохимически активированной воды с отрицательным значением ОВП получали в проточном электрохимическом модуле ПЭМ-3. Воду из водопровода (ОВП +190 мВ) пропускали последовательно через анодную камеру модуля, реакционно-флотационный реактор, гетерофазный каталитический реактор и катодную камеру модуля и в итоге получали образцы с ОВП, равным -223 мВ.

Установленные закономерности представлены на рисунке 27.

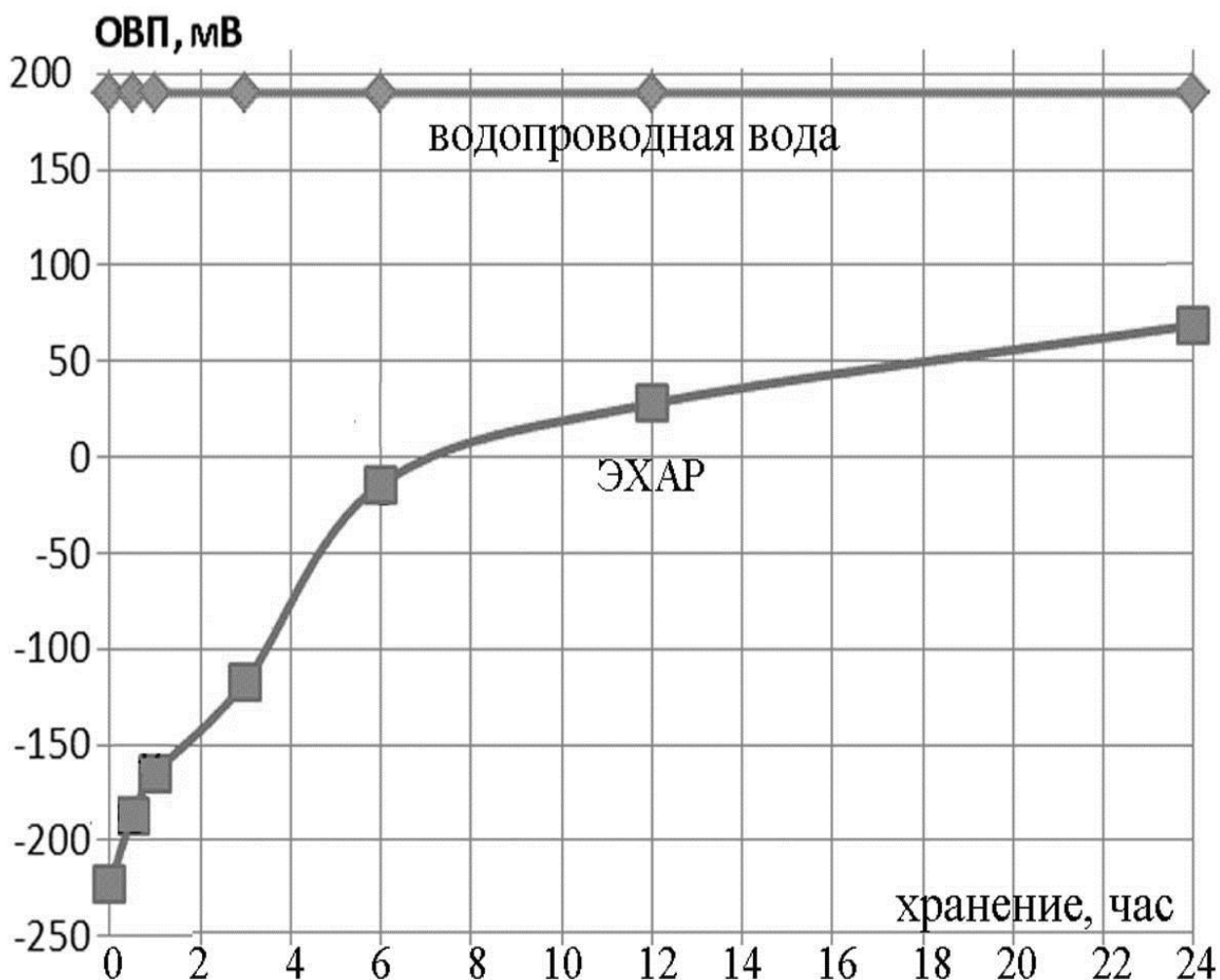
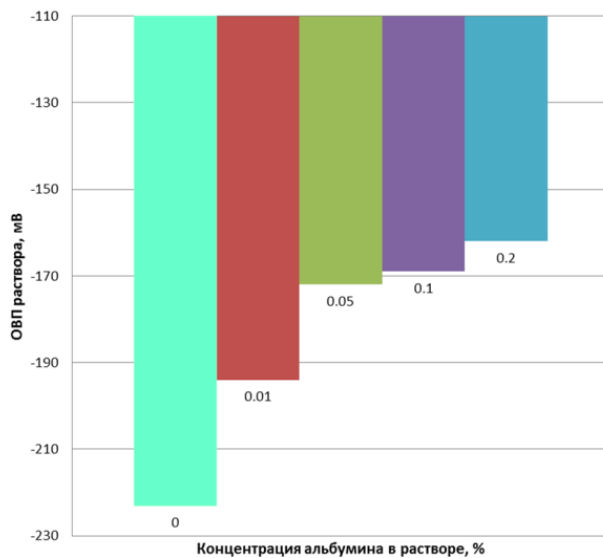


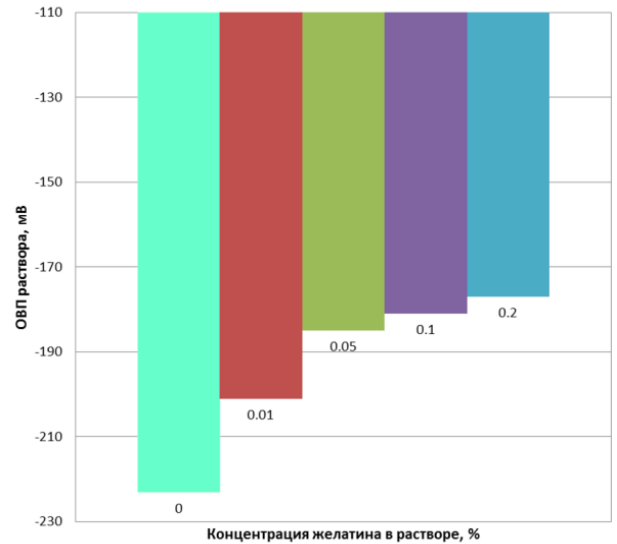
Рисунок 27 – Изменение со временем окислительно-восстановительного потенциала у ЭХА-воды и водопроводной воды при 20° С

Видно, что со временем ЭХА-вода показывает рост ОВП, демонстрируя релаксацию метастабильного состояния. Значение ОВП ЭХА-воды, равное -223 мВ, постепенно увеличивалось. Наибольшую скорость релаксации отмечали в первые 6 часов, после чего процесс замедляется, ОВП переходил в область положительных значений, достигнув через 24 часа +69 мВ.

На рисунке 28 приведены характеристики ОВП растворов после добавления альбумина и желатина в ЭХА-воду. Полученные данные (рисунок 28а,б) показывают, что растворение как альбумина, так и желатина в ЭХА-воде вызывает рост ОВП растворов. Эффект становится более выраженным с увеличением содержания белков.



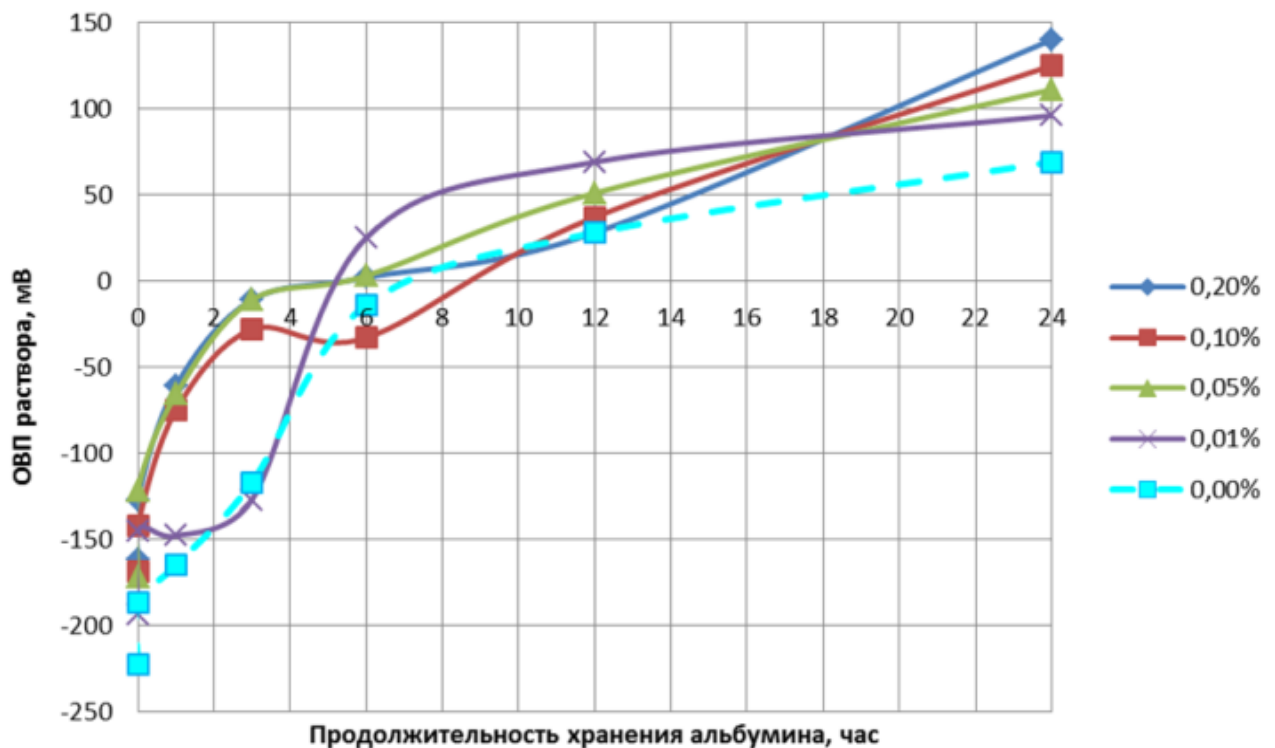
(а)



(б)

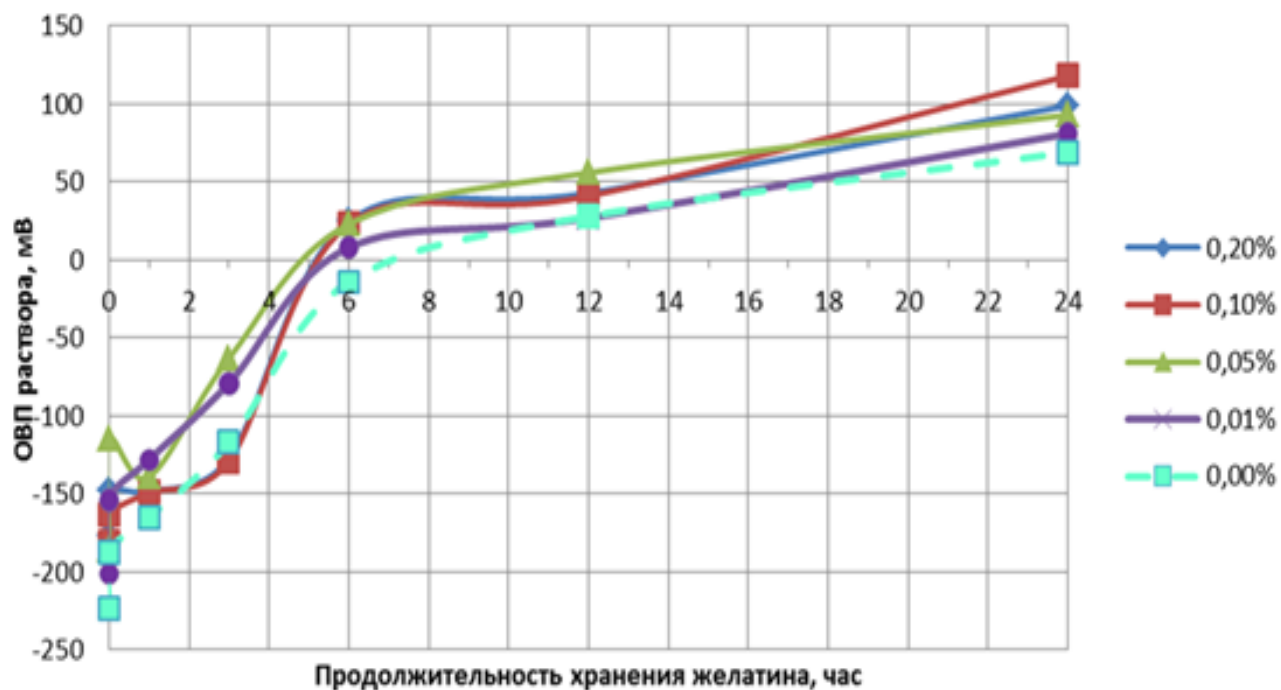
Рисунок 28 – Влияние концентрации белков на значения ОВП раствора ЭХАР, где  
 (а) – величина ОВП растворов с разной концентрацией альбумина в начальный момент;  
 (б) – величина ОВП растворов с разной концентрацией желатина в начальный момент

В начальный момент ОВП, оставаясь отрицательной величиной, не достигает значения +190 мВ, характерного для исходной воды из водопровода. Со временем наблюдается изменение ОВП раствора (рисунок 29).



(а)





(б)

Рисунок 29 – Влияние концентрации белков на изменение ОВП при хранении раствора в ЭХА воде (а) альбумина; (б) желатина

Отметим, что увеличение концентрации как альбумина, так и желатина способствовало более быстрому восстановлению ОВП ЭХА-воды.

Графики демонстрируют процесс восстановления ОВП в растворах бычьего сывороточного альбумина и желатина. С увеличением концентрации белков в области значений 0,01 % ÷ 0,2 % скорость релаксации повышается постепенно. Добавление белков способствует более быстрому восстановлению ОВП ЭХА-воды, причём в зависимости от концентрации и вида белка кинетика процесса различается, а максимальные значения через 24 часа для обоих белков остаются существенно ниже ОВП контрольного образца без добавок (+190 мВ).

Таким образом, содержание белковых молекул в растворах на основе ЭХА-воды оказывает влияние на процесс релаксации активированных растворов, что проявляется в восстановлении ОВП водной среды.

В дальнейшем изучали изменение под действием ЭХА воды свойств водных раствора бычьего сывороточного альбумина, желатина, казеина используя вискозиметрический метод, UV спектрометрию, масс-спектрометрию вторичных ионов

(ToF-SIMS), гель-электрофорез и высокоэффективную жидкостную хроматографию HPLC.

Здесь и далее действие ЭХА-воды на макронутриенты изучали, используя воду (pH 7,2, ОБП +360 мВ) из городского водопровода, а также фракции католита (pH 8,2, ОБП -800 мВ) или анолита (pH 2,2, ОБП +800 мВ). Фракции ЭХА-воды получали на установке типа «СТЭЛ» (Россия).

Исследование проводили на трех препаратах, содержащих белок (альбумин, казеин, пищевой желатин), на основе которых получали маточный водный 1 %-ный раствор, который затем разводили в пять раз водой (контроль) или одной из фракций ЭХА-воды. Готовые пробы анализировали несколькими физико-химическими методами. На первом этапе наличие эффекта оценивали посредством спектрометрии растворов белка в области ультрафиолета (UV) (рисунок 30).

Посредством UV спектрометрии регистрируется неспецифическое действие ЭХА-воды, уменьшение уровня поглощения и появление пика при 280 нм.

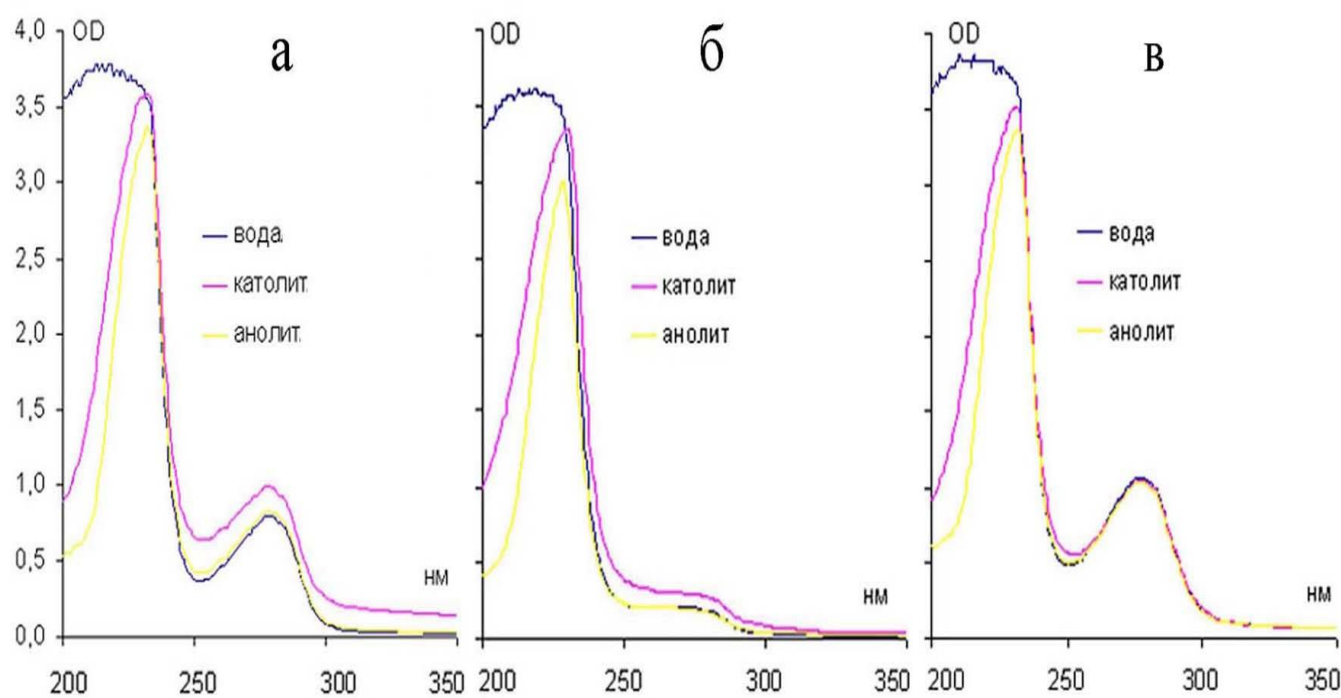


Рисунок 30 – Неспецифические UV спектры поглощения 0,20% растворов белка в воде или водных фракциях ЭХА-воды (анолитная, католитная фракция), где (а) растворы альбумина, (б) растворы желатина, (в) растворы казеина

Дополнительные уточнения дали гель-электрофорез белка и молекулярный анализ ToF-SIMS (рисунок 31, таблица 7).

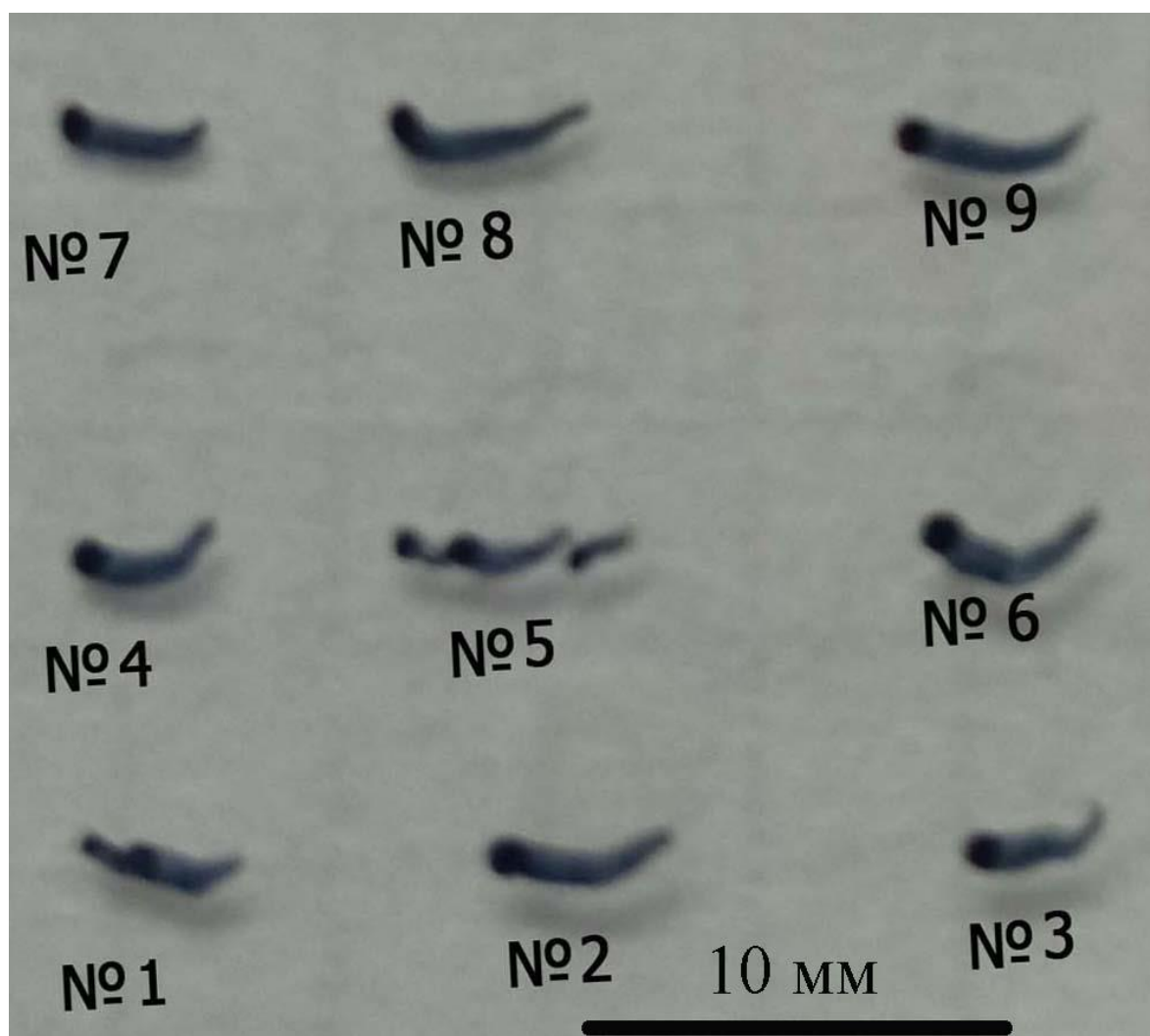


Рисунок 31 – Препараты веществ в растворе воды или фракций ЭХА-воды, которые нанесены на поверхность покровного стекла в виде отдельных капель и высушены в потоке чистого воздуха. Контур области прозрачной пленки высохшего препарата виден над чертой, под которой подписан номер соответствующего образца

Таблица 7 – Нумерация и описание препарата для ToF-SIMS молекулярного анализа

Вещество\раствор	Вода	Католит	Анолит
Агар	№1	№2	№3
Альбумин	№4	№5	№6
Лецитин	№7	№8	№9

При помощи TOF-SIMS был получен масс-спектр каждого препарата. Характерный масс-спектр альбумина приведен на рисунке 32а.

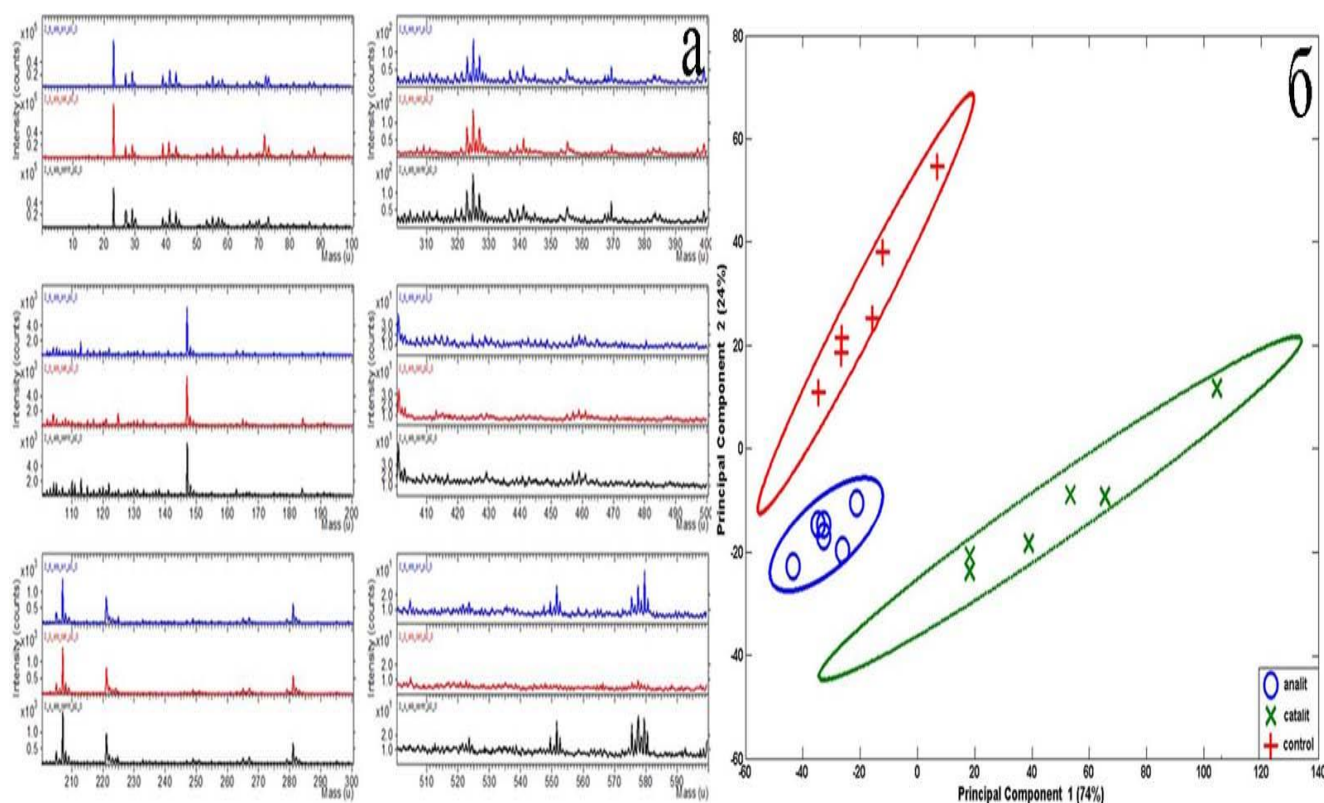


Рисунок 32 – Результаты ToF-SIMS анализа образцов альбумина, приготовленных из раствора белка в воде (контроль) или фракций ЭХА-воды (анолитная, католитная), где (а) характерный вид масс-спектра, где контроль показан черным цветом, образец в анолитной фракции – синим, образец в католитной – красным; (б) PCA различий между масс-спектрами образцов белка, где эллипсами (здесь и далее) обозначены 95 % доверительные интервалы для групп из 6 измерений в каждой

Результат обработки данных ToF-SIMS указанного белка с помощью метода главных компонент PCA (principal component analysis) показан на рисунке 32б. Сравнение масс-спектров альбумина, растворенного в воде (контроль) или фракциях ЭХА-воды, свидетельствуют об отличии всех трех образцов. Значительная гетерогенность зафиксирована в образцах с использованием католитной фракции.

Данные синхронного гель-электрофореза белков (альбумина, желатина, казеина) показаны на рисунке 33. Видно, что полученные данные отличаются, но нет значительного различия между растворами одного белка, например, альбумина, в воде или фракциях ЭХА-воды.

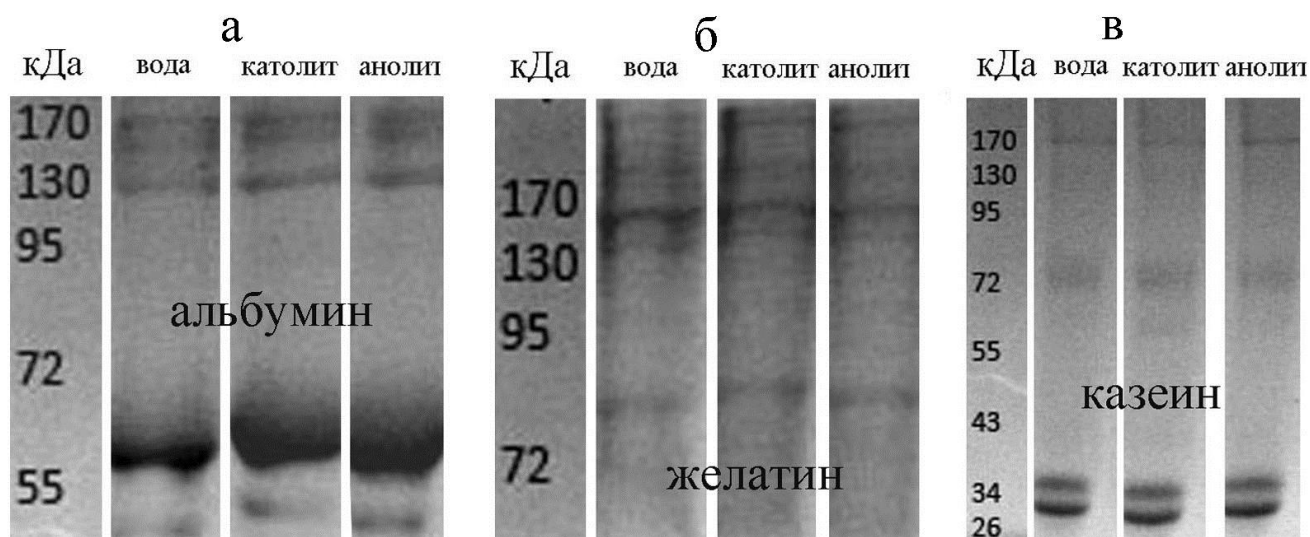


Рисунок 33 - Гель-электрофорез белков в растворе воды или ЭХА-воды (католитная, анолитная фракция), где (а) альбумина, (б) желатина, (в) казеина

Данное заключение подтверждают результаты HPLC – высокоэффективной жидкостной хроматографии (рисунок 34).

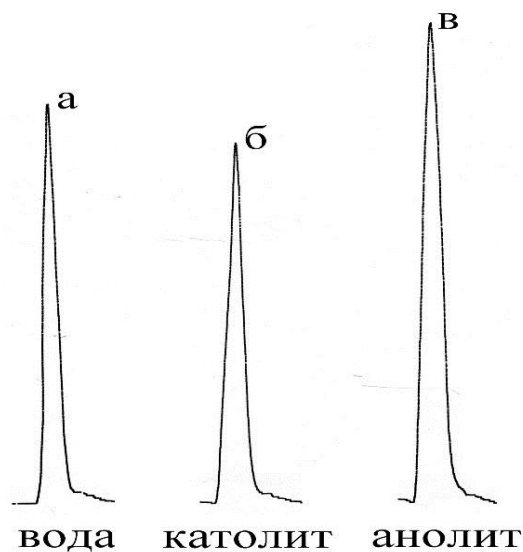


Рисунок 34 – Данные высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) альбумина в водных растворах, где (а) раствор белка в воде, (б) раствор белка в католитной фракции, (в) раствор белка в анолитной фракции

На следующем этапе исследования проводили измерение кинематической вязкости альбумина. Вязкость жидкой среды может зависеть не только от химической структуры, молекулярной массы, свойств и концентрации биополимера, но и от характеристик водного растворителя. В данной работе на примере бычьего сывороточного альбумина (Merck, Sigma-Aldrich) исследовали влияние ЭХА-воды на свойства раствора белка.

На рисунке 35 показан результат действия ЭХА-воды на вязкость растворов 1 %-ного и 10 %-ного растворов альбумина, который заключается в сохранении начальной вязкости в течение всего времени наблюдения (9 часов) – закономерность, характерная для всего анализируемых концентраций раствора альбумина (1 % или 10 %).

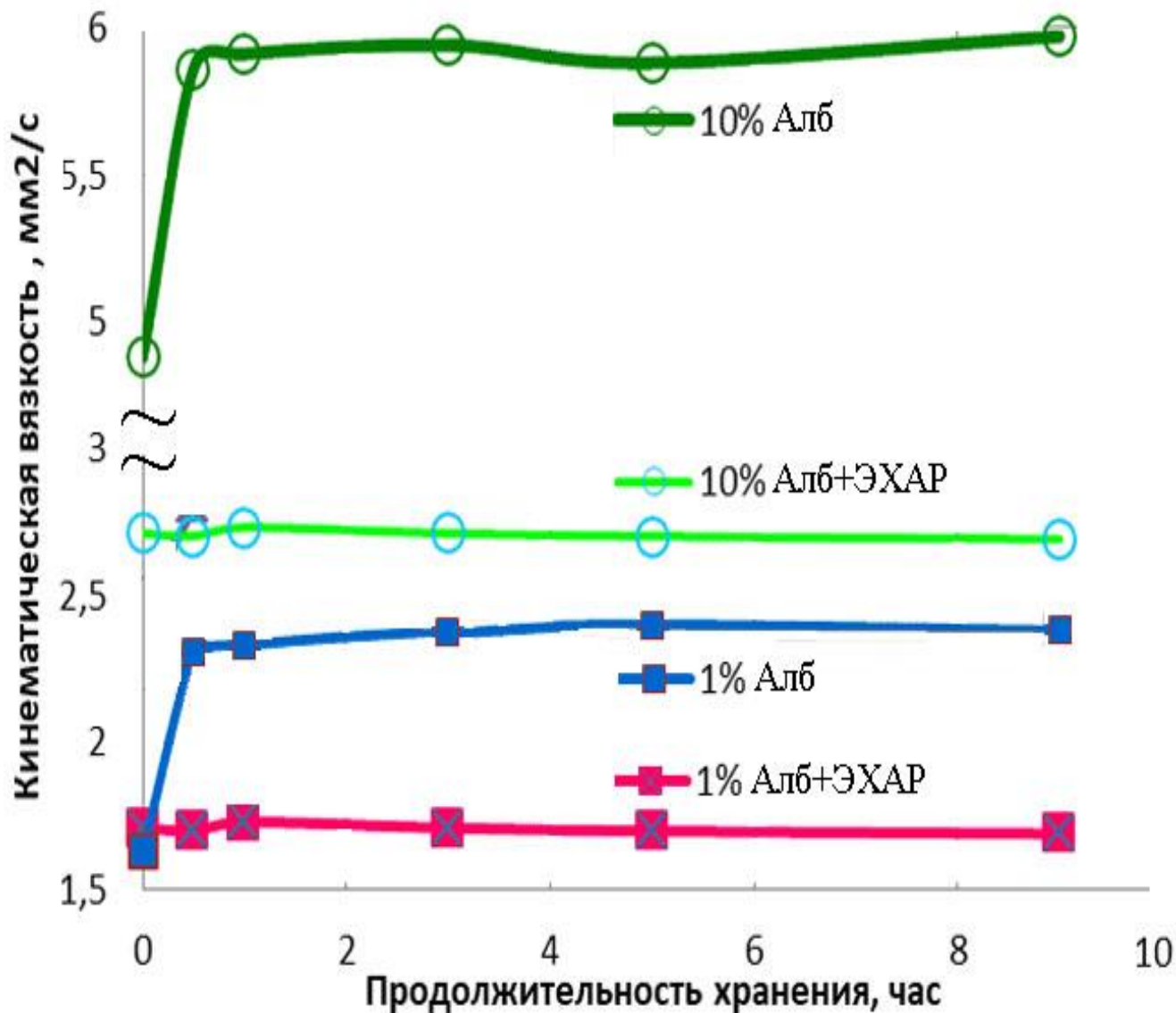


Рисунок 35 – Изменение кинематической вязкости растворов разной концентрации альбумина в воде (Алб) или в ЭХА водного раствора (Алб+ЭХАР) при хранении

Таким образом, показано, что исследуемый образец монопродукта белковой природы (альбумин) и композиция протеинов в пищевых образцах (желатин, казеин) подвержены модификации в растворе фракций ЭХА-воды. На примере водных растворов показано, что анолитная фракция оказывает фокусирующее действие, превращая белковый раствор в более однородную по молекулярному составу среду.

Такой результат, возможно, обусловлен унифицированным действием окисленной фракции ЭХА-воды (анолитная), содержащей относительно высокую



концентрацию пероксида водорода, мишенью молекулы которого является дисульфидная связь серосодержащих аминокислот, например, цистеина.

Механизм действия восстановленной фракции ЭХА-воды (католитная) прогнозировать трудно. Дело в том, что рассмотрение активности антиоксидантов в биологических системах ограничено функцией компенсации окислительного стресса до нормального уровня ОВП среды ( $\sim +360$  мВ).

В наших экспериментах раствор белка в католитной фракции обладает аномально отрицательным значением потенциала ( $-800$  мВ), который не индуцируется при физиологических условиях или патологических изменениях. Несовпадение данных гель электрофореза и ToF-SIMS обусловлено различием физических принципов, лежащих в основе каждого метода. Если при электрофорезе в электрическом поле «разгоняются» белки и их крупные фрагменты, то масс-спектрометрия регистрирует ионы аминокислот и небольших пептидов.

Интересны данные, полученные при изучении вязкости раствора, содержащего альбумин. Показано, что в течение всего интервала наблюдения (9 часов) раствор белка в ЭХА-воде в концентрациях 1 % и 10 % сохраняет начальную вязкость в отличие от контрольного образца.

Возможно, причины снижения вязкости растворов альбумина в электрохимически активированной воде обусловлены конформационными изменениями молекул белка и усилением их электростатического отталкивания, когда возрастает диссоциация карбоксильных групп и становится отрицательным суммарный заряд белка.

Данный эффект, который соотносится с изменением других физико-химических характеристик раствора, может стать основой для качественного изменения ряда технологий пищевого производства.

### **3.8.2 Исследование изменений под действием ЭХА-воды свойств водного раствора полисахарида (агар-агар и модифицированный крахмал)**

Известна способность фракции ЭХА-воды в качестве перспективных экстрагирующих и гидролизующих агентов (таблица 8). Механизм электролиза воды при различных рН и методы оценки каталитической активности описаны в [159].

Таблица 8 – Некоторые патенты РФ [43, 44, 45] в области экстрагирующих и гидролизующих агентов

Номер патента	Авторы	Наименование
2130472	О.И. Квасенков, В.А. Ломачинский, Э.С. Гореньков	Способ производства красителя из шелухи лука
2372399	Т.А. Исмаилов, М.Н. Исламов, М.Т. Темербулатов	Способ извлечения винно-кислых соединений из виноградной выжимки
2197840	Г.В. Маслова, П.Б. Василевский, Н.В. Степанова	Способ получения альгиновой кислоты и альгината натрия из бурых водорослей

Нами изучено изменение под действием ЭХА-воды свойств водного раствора полисахарида растительного происхождения (агар-агар, растворимый крахмал), используя UV-vis спектрометрию, ToF-SIMS и измерение вязкости.

Маточный водный 2,5 % раствор крахмала (модифицированный растворимый крахмал) или 0,3 % раствор агара разводили в 5 раз водой или одной из фракций ЭХА-воды.

Готовые пробы растворов анализировали перечисленными физико-химическими методами. Полученные результаты представлены ниже.

Наличие интегрального эффекта действия ЭХА-воды оценивали посредством спектрометрии полученных растворов полисахаридов в области ультрафиолета (UV).

В отличие от водных растворов в образце анолитной фракции ЭХА-воды отмечено изменение спектра полисахаридов, о чем свидетельствует пиковое значение при длине волны 225 нм. Спектр агар-агара также трансформируется в католитной фракции (рисунок 36а). Степень изменения спектра восстановленной фракции находится в пределах между таковыми в контроле и в анолитной фракции ЭХА-воды.



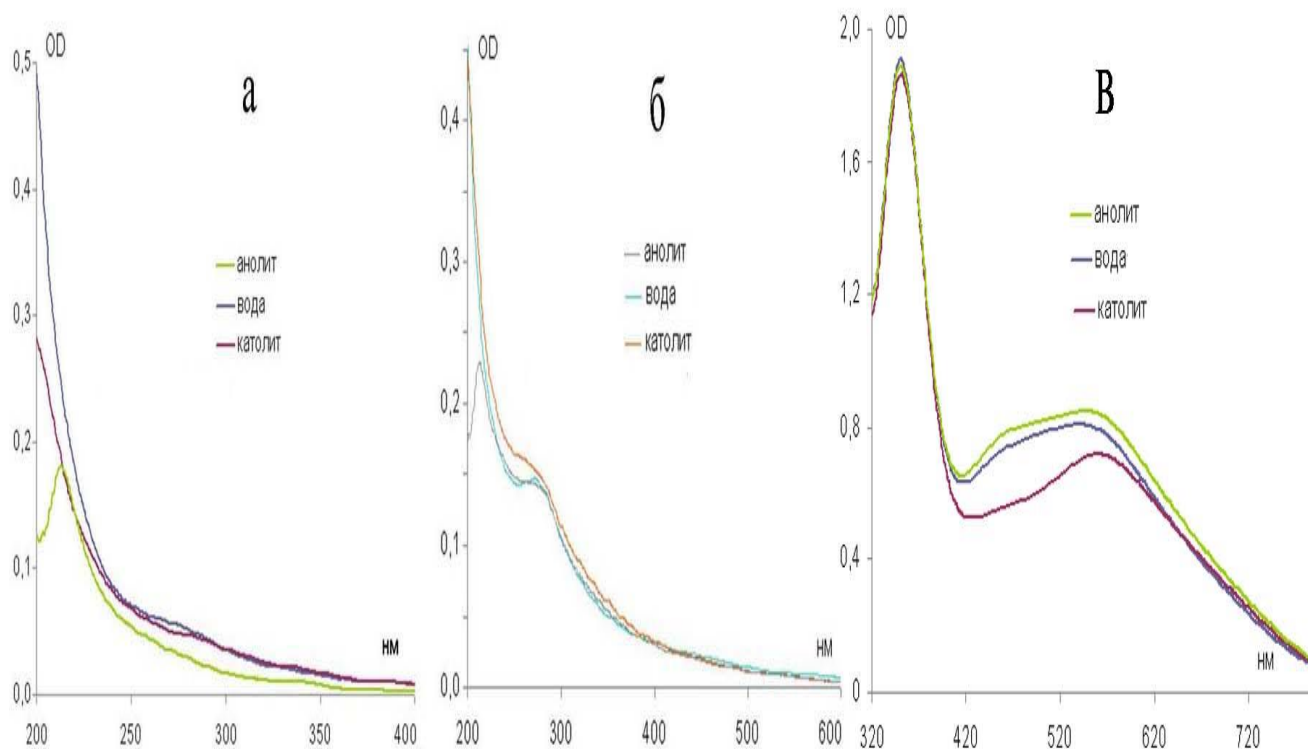


Рисунок 36 – Спектры поглощения растворов полисахаридов в воде (контроль) или фракциях ЭХА-воды: (а) неспецифический агар-агара, (б) неспецифический растворимого крахмала, (в) специфически окрашенных олигосахаридов крахмала

С помощью иодитного окрашивания получали специфические спектры поглощения в видимой области для олигосахаридов (пик при длине волны 355 нм). В отличие от ультрафиолетового спектра видимые спектры растворов крахмала в воде и в анолитной фракции совпадают (рисунки 36б и 36в, соответственно). Снижение содержания олигосахаридов в католитной фракции указывает на возможность наличия у нее активности, подобной амилолитической.

Выполняя молекулярный анализ методом ToF-SIMS, подготовку препарата растворов полисахаридов, как и их сравнительный анализ (PCA), проводили в соответствии с унифицированной методикой, описанной выше в разделе, посвященном анализу белков. Характерные масс-спектры агар-агара и растворимого крахмала приведены на рисунках 37а и 38а, соответственно.

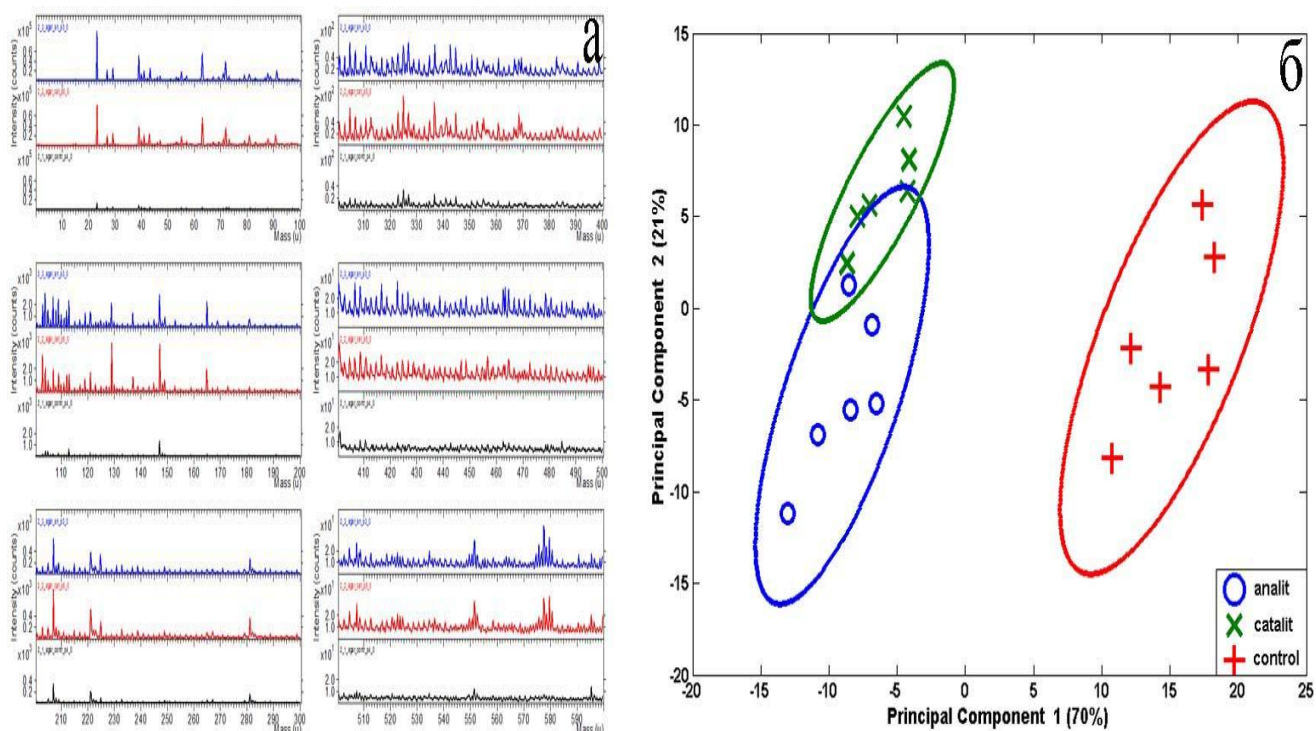


Рисунок 37 – Результаты ToF-SIMS анализа образцов агар-агара, приготовленных из раствора полисахарида в воде (контроль) или фракций ЭХА-воды, где (а) характерный вид масс-спектра, где контроль показан черным цветом, образец из анолитной фракции – синим, образец из католитной – красным; (б) PCA различий между масс-спектрами образцов агар-агара

Там же (рисунки 37б, 38б) показаны результаты обработки данных молекулярного анализа для указанных полисахаридов с помощью PCA. Полученные данные свидетельствуют о значительном отличии масс-спектров агар-агара, обработанного фракциями ЭХА-воды, от масс-спектра контрольного образца в воде.

Масс-спектры растворов полисахарида в анолитной и католитной фракциях между собой достоверно не различаются, что соответствует тенденции на сближение, отмеченной для UV спектров (рисунок 36а).

Иная картина наблюдается для образцов растворимого крахмала, где регистрируется отличие в молекулярном составе между фракциями ЭХА-воды (рисунок 38б), что соответствует данным UV-vis спектрометрии (рисунок 36б, рисунок 36в). Однако данные ToF-SIMS противоречат результатам UV спектрометрии в том, что есть разница между раствором крахмала в воде и в католитной фракции. По-видимому, изменение молекулярного состава олигосахаридов, вызванное обработкой католитной

фракции, в отличие от анолитной, не повлияло на спектральные характеристики раствора.

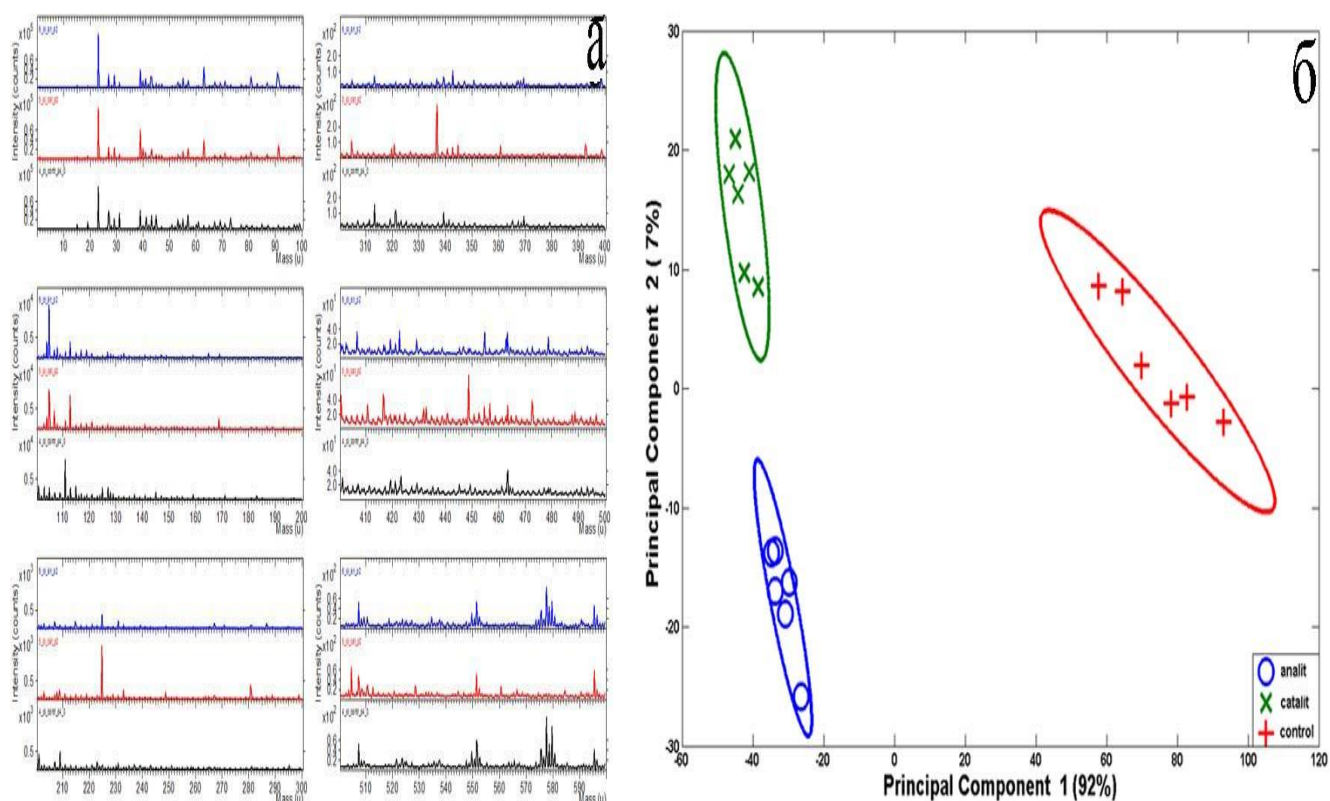


Рисунок 38 – Результаты ToF-SIMS анализа образцов растворимого крахмала, приготовленных из раствора крахмала в воде (контроль) или фракций ЭХА-воды, где (а) характерный вид масс-спектра, где контроль показан черным цветом, образец из раствора анолитной фракции – синим, образец из раствора католитной фракции – красным; (б) PCA различий между масс-спектрами образцов крахмала

На следующем этапе исследовали влияние ЭХА-воды на кинематическую вязкость растворов полисахаридов из семейства гидроколлоидов, содержащих функциональные кислотные группы, при диссоциации которых отщепляются ионы  $H^+$  ( $-COO^- + H^+$ ,  $-SO_3^- + H^+$ ,  $-S^- + H^+$ ).

Гидроколлоиды растворимы в холодной воде с образованием вязких растворов. Для исследования был выбран агар-агар GELAGAR марки IT+ (B&V S.R.L., Италия) – полисахарид сложного состава, содержащий сульфатные группы.

Учитывая низкую растворимость агар-агара в холодной воде, растворы готовили на водопроводной и ЭХА-воде с концентрациями 0,1 %, 0,3 %, 0,5 %.

Видно (рисунок 39), что по сравнению с водным раствором агар-агара действие ЭХА-воды состояло в снижении кинематической вязкости в начальный момент и поддержании ее значения в течение интервала (9 часов) наблюдения.

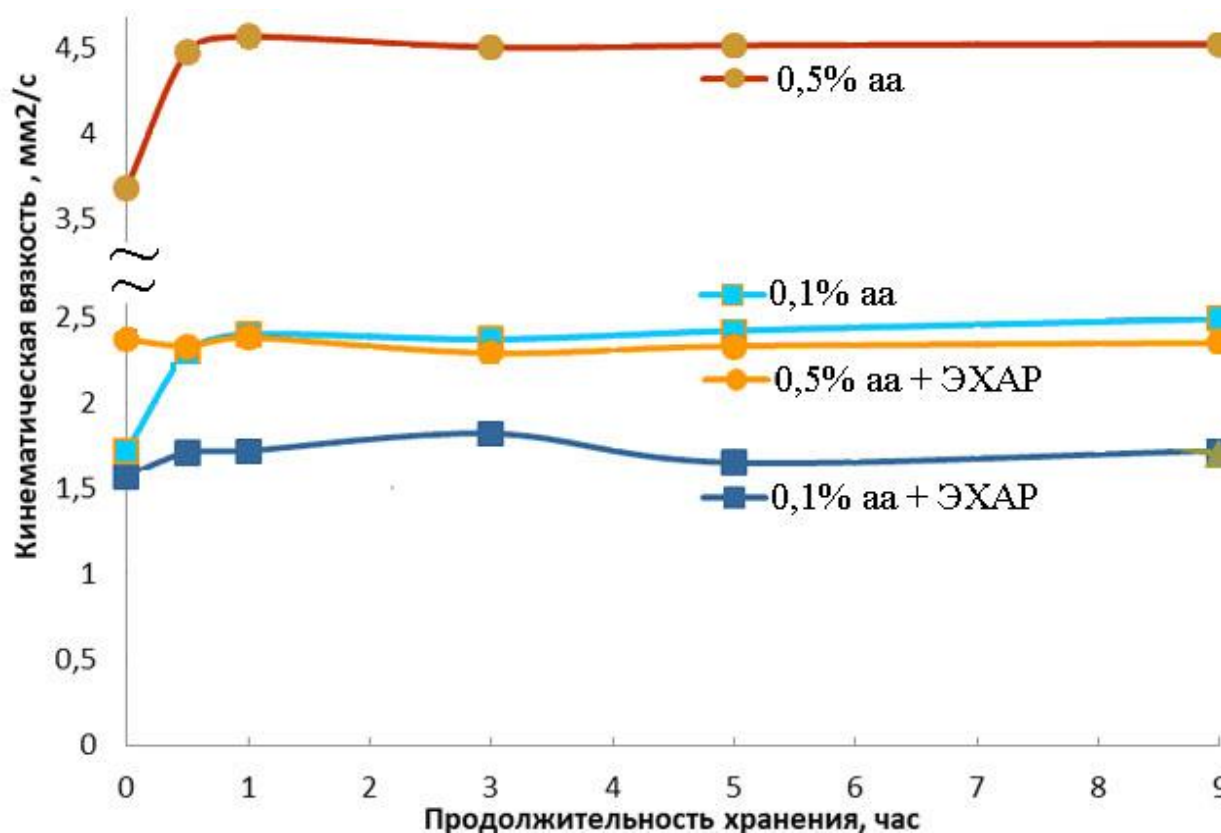


Рисунок 39 – Изменение кинематической вязкости водных растворов разной концентрации агар-агара в воде (аа) или в ЭХА водном растворе (аа+ЭХАР) при длительном хранении

Таким образом, используя ряд физико-химических подходов, показано, что исследуемые образцы полисахаридов растительного происхождения (агар-агар, растворимый крахмал) подвержены модификации под действием фракций ЭХА-воды. На UV спектрах поглощения эффект показан для раствора в анолитной фракции. Однако, масс-спектрометрия (ToF-SIMS) проб растворов агар-агара показывает идентичность результатов обработки обеими фракциями ЭХА-воды. Возможно, несовпадение данных UV спектрометрии и ToF-SIMS обусловлено различием физических принципов, лежащих в основе каждого метода анализа. Если UV спектрометрия реагирует на наличие крупных биоорганических молекул, то масс-спектрометрия регистрирует небольшие фрагменты.

Интересно то, что католитная фракция оказывает действие, свойственное амилолитическим ферментам. На примере агар-агара показано, что электрохимическая активация воды является способом снижения вязкости водного раствора полисахарида со сложной структурой без уменьшения концентрации основного вещества и/или введения добавок.

Результаты, полученные в опытах с полисахаридами, указывают на возможность применения ЭХА-воды в технологии получения продуктов функционального питания и продукции, в производстве которых используются загустители или гелеобразователи.

### **3.8.3 Отработка метода взвешивания слоя биомолекул, полученного после высушивания капли раствора, нанесенной на измерительную головку кварцевого резонатора**

С целью организации исследований по изучению экстрагирующей способности фракций ЭХА-воды (на примере обработки водонерастворимого пищевого крахмала) вначале был отработан метод взвешивания субмикронных слоев биомолекул, основанный на регистрации изменения частоты кварцевого резонатора.

Принцип работы состоит в том, что при напылении пленки на поверхность кристалла-резонатора меняется его резонансная частота, смещение которой пропорционально массовой толщине нанесенного слоя. Такой принцип успешно используют в кварцевом измерителе толщины (КИТ) пленки, нанесенной на поверхность посредством, например, термического распыления материала в вакууме. При этом слой растет от нулевой толщины.

В нашем случае задача качественно меняется, что обусловлено необходимостью взвешивания вещества, растворенного в жидкости. Решается обратная задача, когда каплю раствора (максимальный вес) сразу наносят на поверхность кристалла, а по мере испарения растворителя, т.е. с уменьшением веса исходной пробы, формируется слой вещества.

Как правило, для измерения берут пробу раствора объемом несколько микролитров, а длительность измерения ограничена только временем сушки капли, что можно ускорить, применив вакуумную откачку или нагрев. К сожалению, прибор КИТ, имеющийся в наличие и разработанный для относительно коротких интервалов

напыления пленки металла, не обеспечивает устойчивости частоты генерации в течение времени высыхания капли водного раствора.

По этой причине был разработан и собран действующий стенд. Для возбуждения колебаний в измерительном кварцевом резонаторе использовался генератор Баттлера, собранный на двух транзисторах КТ315 и дополнительном усилительном транзисторе.

Измерительный кварцевый резонатор, который задавал частоту колебаний в контуре, подключался между эмиттерами генератора. Колебания на выходе контура подавались на триггер Шмидта для формирования прямоугольного сигнала. Частота выходного сигнала определялась программно-аппаратным комплексом Teensy 3.5, который передавал измеренные значения на компьютер для анализа. Блок-схема стенда представлена на рисунке 40а.

При нанесении капли раствора на поверхность резонатора частота колебаний в измерительном контуре падала до 0 Гц. После высыхания капли, что сопровождалось образованием плёнки сухого остатка, колебания восстанавливались, но не до начального уровня. При этом разность частот ( $\Delta f$ ) до ( $f_1$ ) и после ( $f_2$ ) нанесения капли пропорциональна весу сухого остатка. Кинетическая кривая, соответствующая изменению частоты генератора в течение высыхания капли раствора, представлена на рисунке 40б.

Концентрацию вещества в анализируемой жидкости можно определить, используя калибровочную кривую, полученную с помощью раствора, который содержит известную весовую концентрацию растворенного вещества. С этой целью использовали водные суспензии крахмала в концентрациях 0.2 мг/см<sup>3</sup> или 2 мг/см<sup>3</sup> (рисунок 40в). В качестве контроля брали дистиллированную воду. Для определения концентрации растворимых веществ, полученных после обработки в разных фракциях ЭХА-воды, нерастворённые зерна крахмала осаждали центрифугированием, а каплю супернатанта (5 мкл) наносили на поверхность калиброванного резонатора. Сравнительные результаты взвешивания сухих остатков приведены на рисунке 40г.



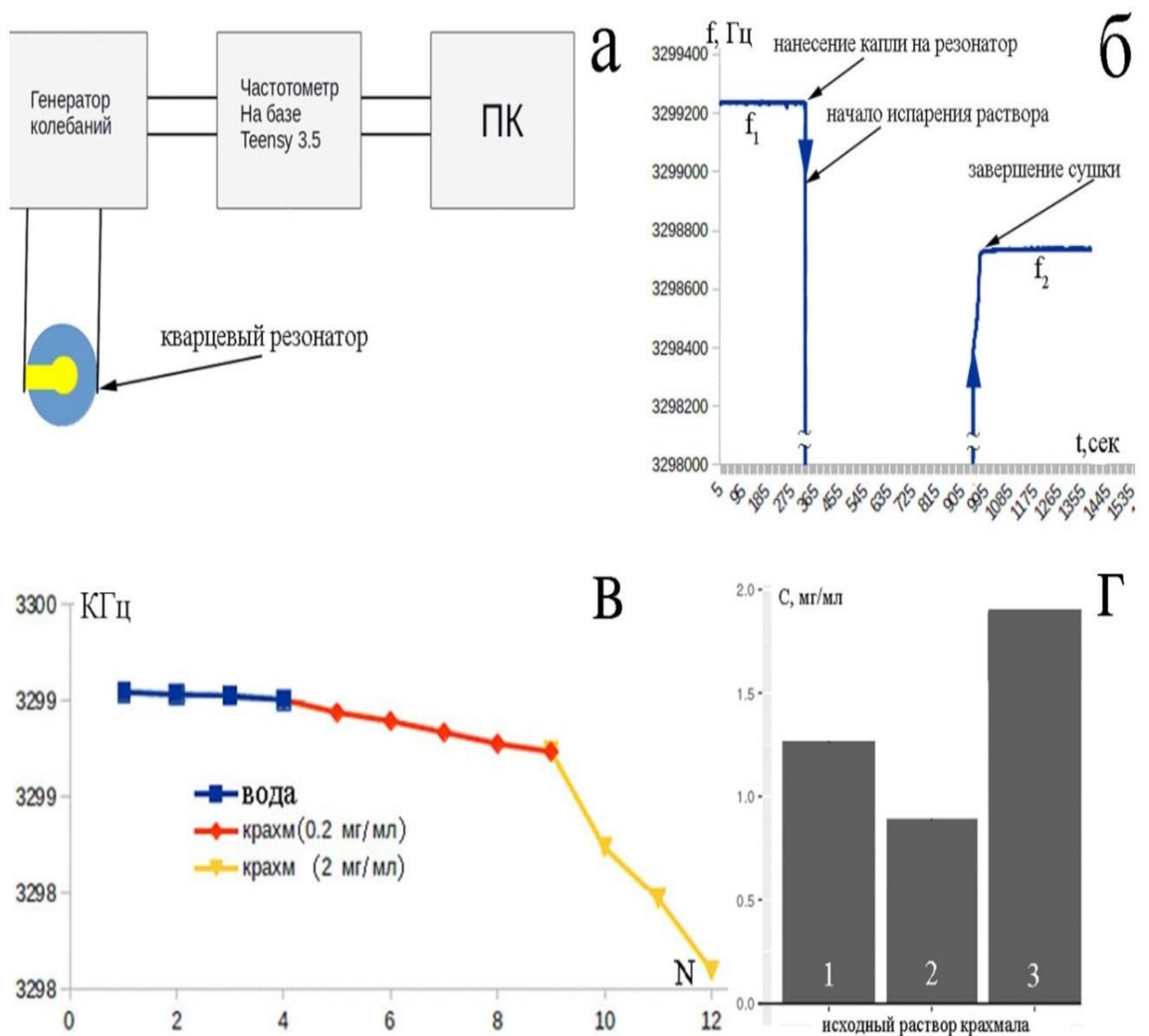


Рисунок 40 – Взвешивание субмикронных слоев сухого остатка, полученного из водного экстракта зерен нерастворимого в воде крахмала, где (а) блок схема действующего стенда для взвешивания, используя кварцевый генератор частот, (б) кинетическая кривая изменения частоты колебаний ( $f$ ) после нанесения на кварцевый генератор капли (5 мкл) водного экстракта крахмала с последующим выпариванием, где стрелками указаны моменты нанесения капли и завершения сушки, (в) калибровочная кривая – зависимость частоты колебаний измерительного кварца от нанесённого веса крахмала, где  $N$ -кратность нанесенных капель, (г) концентрация вещества, экстрагированного из зерен крахмала водой (1), анолитной (2) или католитной (3) фракцией

Таким образом, отработан метод взвешивания сухого остатка вещества в нескольких микролитрах раствора, который может быть успешно применен для

изучения, например, экстрактов, так как не требует больших объемов, как в случае гравиметрии посредством выпаривания, и сокращает время пробоподготовки до нескольких минут. В работе данный метод применен для изучения экстрагирующей способности фракций ЭХА-воды, которыми обрабатывали нерастворимый пищевой крахмал, что было задачей следующего этапа исследования.

#### **3.8.4 Исследование изменений под действием ЭХА-воды свойств водной суспензии нерастворимого в воде полисахарида (крахмал)**

В настоящее время в пищевой промышленности используются крахмалосодержащие вещества, получаемые из нерастворимого крахмала обработкой водой. На данном этапе работы объектом исследования являлись водные суспензии крахмала.

Цель заключалась в исследовании изменений под действием ЭХА-воды свойств водной суспензии нерастворимого полисахарида (крахмала), используя UV-vis спектрометрию, ToF-SIMS, гравиметрию субмикронных слоев и электронную микроскопию.

При подготовке препарата к одинаковым навескам (3 г) пищевого нерастворимого в воде крахмала добавляли равные объемы (27 см<sup>3</sup>) воды (контроль) или фракций ЭХА-воды (анолитная, католитная). Полученную суспензию выдерживали в течение суток при комнатной температуре. Затем частицы крахмала осаждали 15 минут в центрифуге при 600 g.

Надосадочную жидкость (супернатант) изучали перечисленными выше аналитическими методами. Визуализацию структуры рельефа поверхности крахмальных зерен в осадке проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии в режиме вторичных электронов.

На рисунке 41 показаны результаты UV-vis спектрометрии образцов надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования крахмала, который предварительно обрабатывали водой или фракциями ЭХА-воды



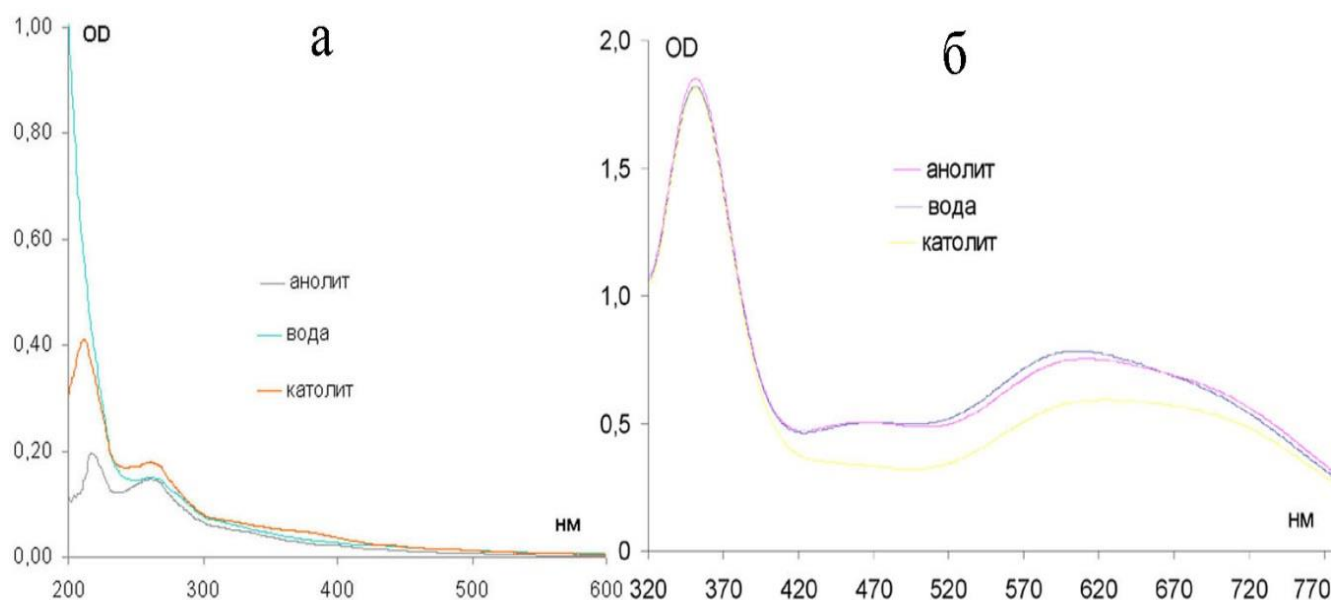


Рисунок 41 – Результаты UV-vis спектрометрии образцов надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования крахмала, который предварительно обрабатывали водой или фракциями ЭХА-воды (анолитная, католитная), где (а) не специфичные UV спектры супернатанта суспензии крахмала, (б) спектры после специфической иодитной окраски олигосахаридов в супернатанте суспензии крахмала

На UV спектрах видно (рисунок 41а), что обе фракции одинаковым способом влияют на вид спектра поглощения с появлением пика в области 230 нм, что похоже на действие анолитной фракции в случае растворимого крахмала (рисунок 36б).

Спектры поглощения, полученные после иодитной окраски (рисунок 41б), соответствуют таким же спектрам препарата растворимого крахмала (рисунок 36в). Другими словами, не обнаруживается различия между vis-спектрами раствора в контроле и в анолитной фракции, что не согласуется с данными UV-спектрометрии (рисунок 41а).

Полученные данные показывают, что анолитная фракция ЭХА-воды не изменяет содержание олигосахаридов в нерастворимом крахмале в сравнении с контролем, но ультрафиолетовый спектр изменяется.

Обработка крахмала католитной фракцией (рисунок 41б) снижает уровень олигосахаридов.

На масс-спектрах (TOF-SIMS) (рисунок 42а) присутствуют отличия между контрольным образцом и парой католит-анолит, например, для пиков с отношением масса/заряд ( $m/z$ ) 63, 552, 580.

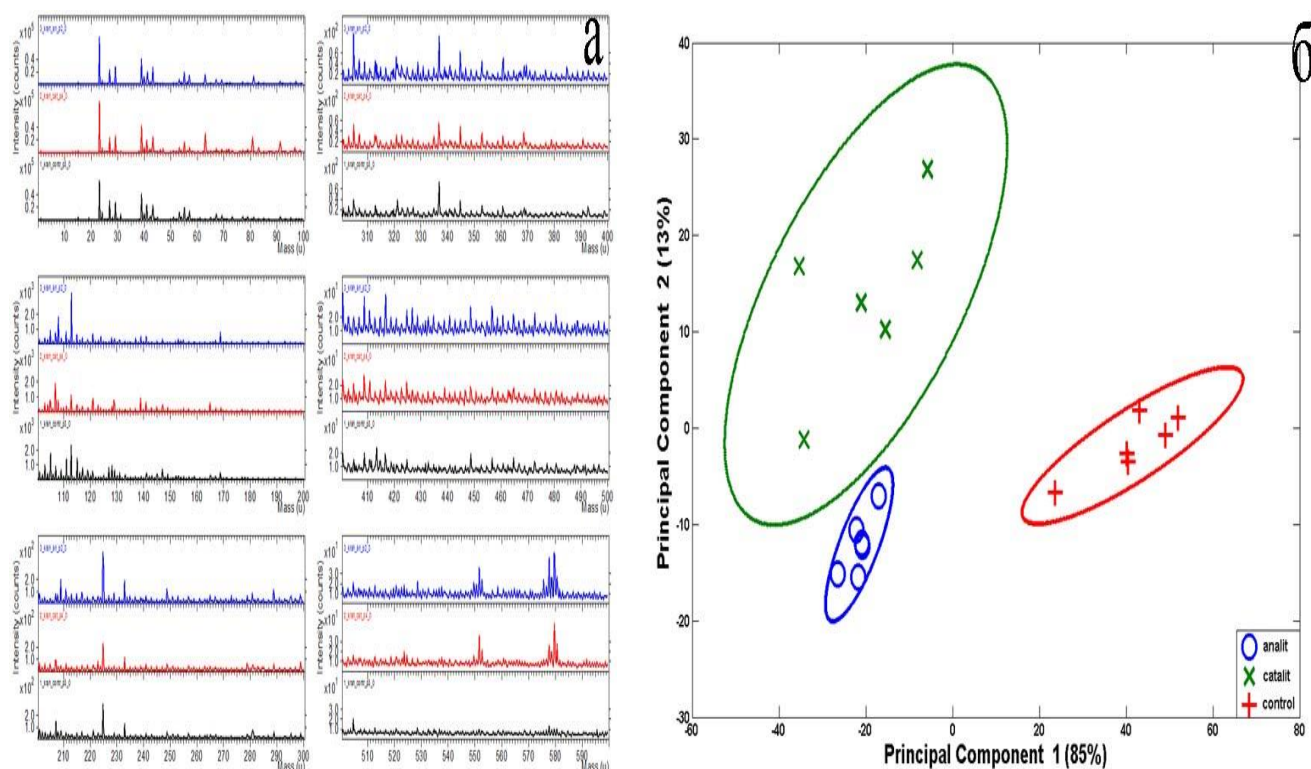


Рисунок 42 – Результаты ToF-SIMS анализа образцов жидкости, полученной после центрифугирования суспензии крахмала, предварительно обработанного водой или фракциями ЭХА-воды, где (а) характерный вид масс-спектра, где контроль показан черным цветом, образец раствора анолитной фракции – синим, католитной – красным; (б) PCA различий между масс-спектрами образцов жидкости

Кроме того, между образцами с католитной и анолитной фракциями регистрируется различие в интенсивности некоторых ионов ( $m/z$  113, 225). Действительно, статистический анализ методом главных компонент (principal component analysis, PCA) подтверждает наличие существенных различий между образцами контрольной группы и парой анолит-католит (рисунок 42б), но отличия между фракциями ЭХА-воды не столь значимы.

На следующем этапе была проведена гравиметрия осадка и электронная микроскопия. После обработки суспензии нерастворимого в воде крахмала водой или фракциями ЭХА-воды, центрифугированием отделяли фракцию частиц от надосадочной жидкости. Последнюю анализировали посредством UV-vis спектрометрии и масс-спектрометрии (ToF-SIMS).

Однако при планировании эксперимента прогнозировали относительно низкую чувствительность указанных методов, поэтому перечень аналитических подходов был

дополнен взвешиванием субмикронных слоев, предварительно адаптированным под задачу взвешивания вещества, растворенного в малом объеме жидкости (нескольких микролитрах) с целью сокращения времени пробоподготовки до нескольких минут.

Гравиметрические данные (рисунок 40г) позволили установить, что относительное уменьшение уровня олигосахаридов в растворе (супернатанте) после обработки крахмала католитом (рисунок 41б) не обусловлено снижением количества экстрагированного вещества.

Частицы крахмала, содержащиеся в осадке, изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (режим вторичных электронов). Для этого осажденную фракцию трижды промывали дистиллированной водой, каплю суспензии (2 мкл) наносили на держатель микроскопа и сушили в потоке чистого воздуха. Готовый препарат покрывали пленкой платины, распыляя металл в камере с аргоновой плазмой. Микрофотографии рельефа поверхности зерен крахмала приведены на рисунке 43.

Для поверхности зерен нерастворимого пищевого крахмала, обработанного водой (рисунок 43в1), характерен более грубый рельеф, чем для препарата после фракций ЭХА-воды (рисунок 43в2, 43в3).

Посредством нескольких аналитических методов показано, что нерастворимый в воде крахмал в виде суспензии подвержен действию обеих фракций ЭХА-воды. При этом UV спектр поглощения жидкой составляющей (супернатант) претерпевает качественные изменения. Этот вывод согласуется с данными молекулярного анализа (ToF-SIMS).

Отметим, что только после обработки крахмала католитной фракцией содержание олигосахаридов в супернатанте меняется в сторону уменьшения их концентрации при том, что общее содержание растворимых веществ в супернатанте не снижается, что показано взвешиванием сухого остатка жидкой фракции суспензии. Возможно, можно считать это признаком того, что католитная фракция демонстрирует некоторую гидролитическую активность.

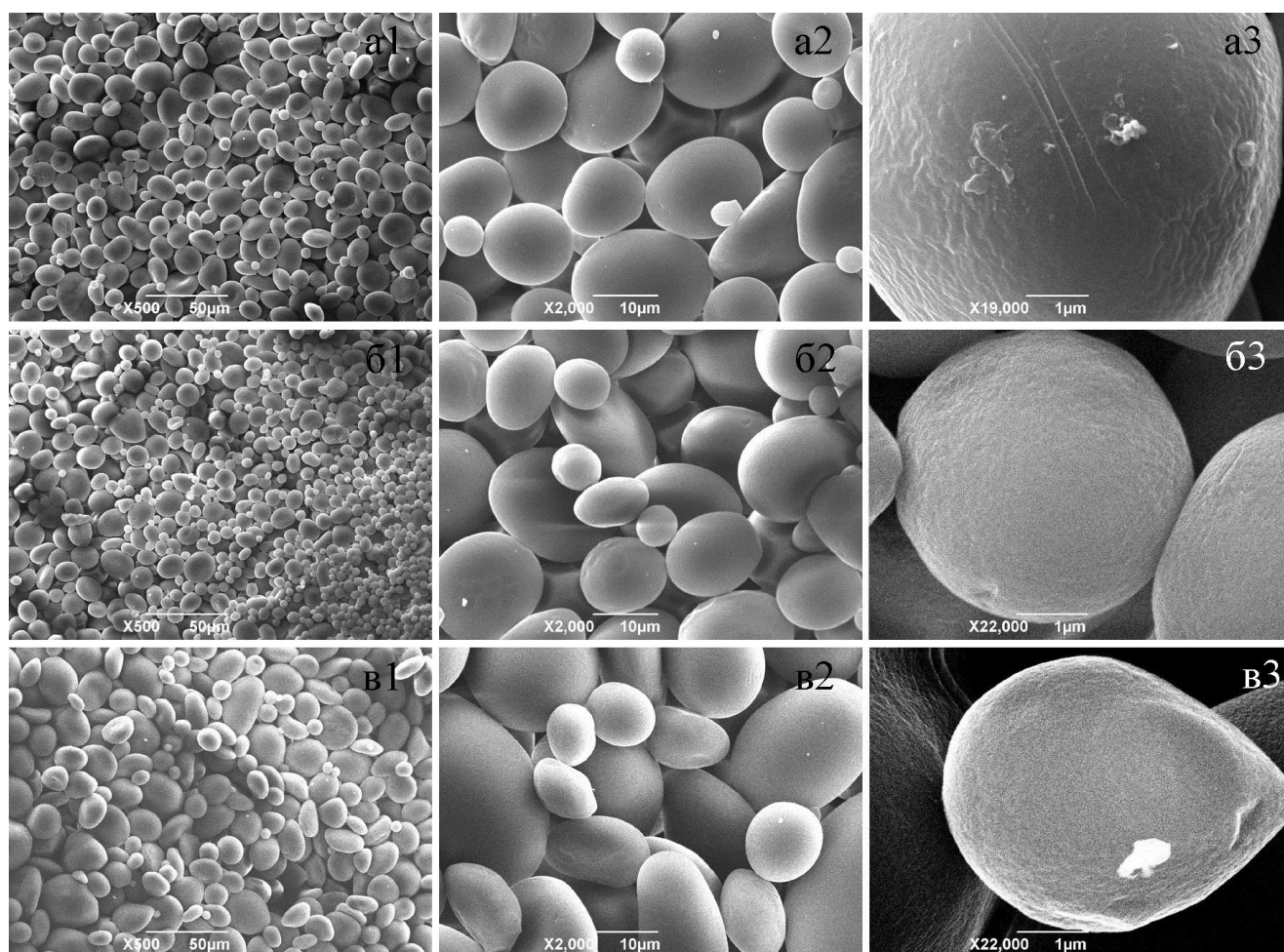


Рисунок 43 – Микрофотографии рельефа поверхности зерен нерастворимого в воде крахмала: (серия а1-а3) зерна крахмала, обработанные водой, (серия б1-б3) зерна крахмала, обработанные католитной фракцией, (серия в1-в3) зерна крахмала, обработанные анолитной фракцией

Результаты аналитических методов согласуются с ультрамикроскопическим анализом, который визуально демонстрирует эффект травления фракциями ЭХА-воды рельефа поверхности зерен крахмала.

### 3.8.5 Исследование изменений фосфолипида (фосфатидилхолина) и пищевых липидов под действием ЭХА-воды

Изменения под действием ЭХА-воды фосфолипидов изучали, применяя UV спектрометрию, ToF-SIMS, хроматографию (HPLC), метод динамического рассеяния света (DLS) и электронную микроскопию. Коммерческие образцы фосфолипидов,

которые доступны в свободной продаже, представляют собой продукт производства растительных масел. Обычно это смесь различных фосфолипидов, имеющих пищевую и технологическую ценность. В номенклатуре ЕЭС их определяют как пищевую добавку Е322. В данном исследовании использовали сухой вододиспергируемый препарат «ADLEC» (Лецитин Lecigran 1000P, производитель Cargill, Германия).

Гранулы препарата помещали в воду или во фракции ЭХА-воды (анолитная, католитная) и настаивали при комнатной температуре в течение суток. Затем эмульсию осаждали в центрифуге при 600 g в течение 15 минут. Полученную надосадочную жидкость исследовали перечисленными выше методами.

На рисунке 44 показаны результаты UV спектрометрии образцов жидкости, полученной после центрифугирования суспензии лецитина, который предварительно обрабатывали водой или фракциями ЭХА-воды.

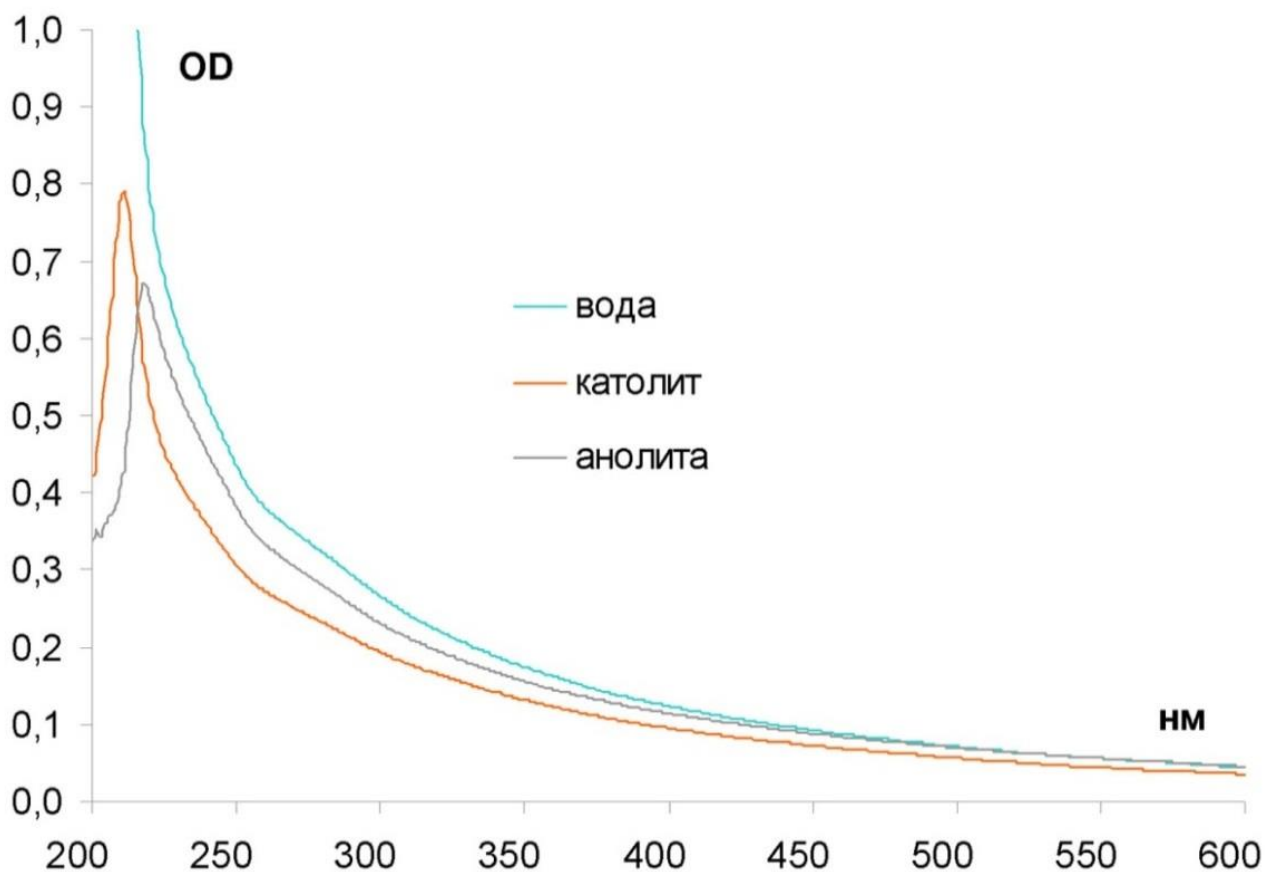


Рисунок 44 – Результаты UV спектрометрии образцов жидкости, полученной после центрифугирования суспензии лецитина, который предварительно обрабатывали водой или фракциями ЭХА-воды (анолитная, католитная)



Видно, что все три спектра отличаются друг от друга. Характерным признаком для ЭХА-воды является появление острого пика поглощения в области 210 нм и 220 нм для католитной и анолитной фракции, соответственно.

Наличие поглощения в диапазоне 540-580 нм указывает на то, что анализируемый объем содержит частицы эмульсии. Этот эффект был предсказуем, учитывая способность фосфолипида образовывать коллоидную жидкость, что обусловлено строением его молекулы, т.е. наличием гидрофильных и гидрофобных участков.

Результаты масс-спектрометрии образцов лецитина показаны на рисунке 45а.

Статистический (РСА) анализ (рисунок 45б) свидетельствуют о значительном отличии масс-спектров лецитина исследуемых вариантов, обработанных водой или фракциями ЭХА-воды. Масс-спектры всех трех препаратов показывают высокую однородность и воспроизводимость результатов.

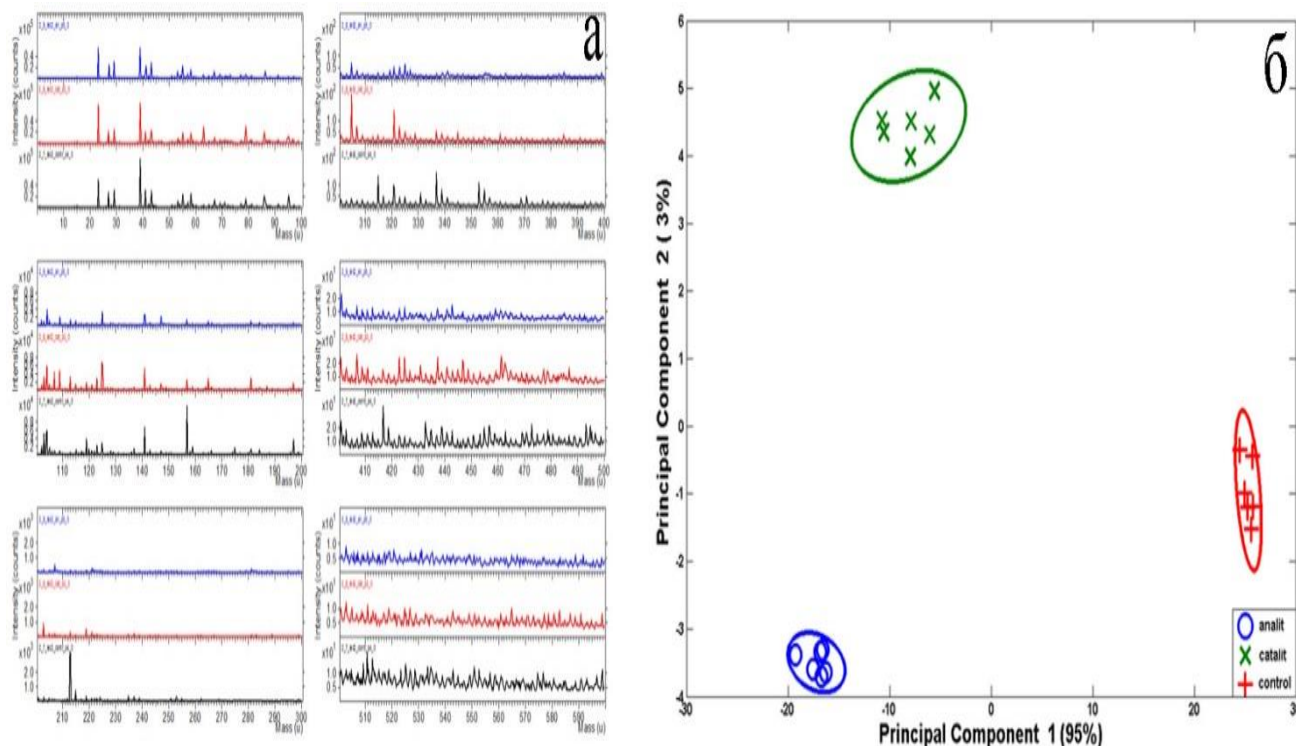


Рисунок 45 – Результаты ToF-SIMS анализа образцов жидкости, полученной после центрифугирования препарата, которую предварительно обрабатывали водой или фракциями ЭХА-воды (анолитная, католитная), где (а) характерный вид масс-спектра, где контроль показан черным цветом, образец раствора анолитной фракции – синим, образец раствора католитной фракции – красным; (б) РСА различий между масс-спектрами образцов жидкости

Практика показывает, что использование высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) применительно к водным препаратам фосфолипидов затруднено, так как молекулы фосфолипида за счет гидрофобных взаимодействий образуют в воде эмульсию (мицеллы, липосомы, везикулы), что может служить причиной нарушения эффективности и даже порчи колонки хроматографа. Опосредованно, о присутствии субмикронных частиц свидетельствует появление у проб, подготовленных из лецитина, поглощения в диапазоне 540-580 нм на UV спектрах (рисунок 44). Поэтому перед HPLC провели анализ на наличие частиц в пробах, полученных после обработки препарата лецитина водой, католитной и анолитной фракций. Посредством метода динамического рассеяния света (DLS) показано (рисунок 46), что три указанных образца представляют собой коллоидный раствор.

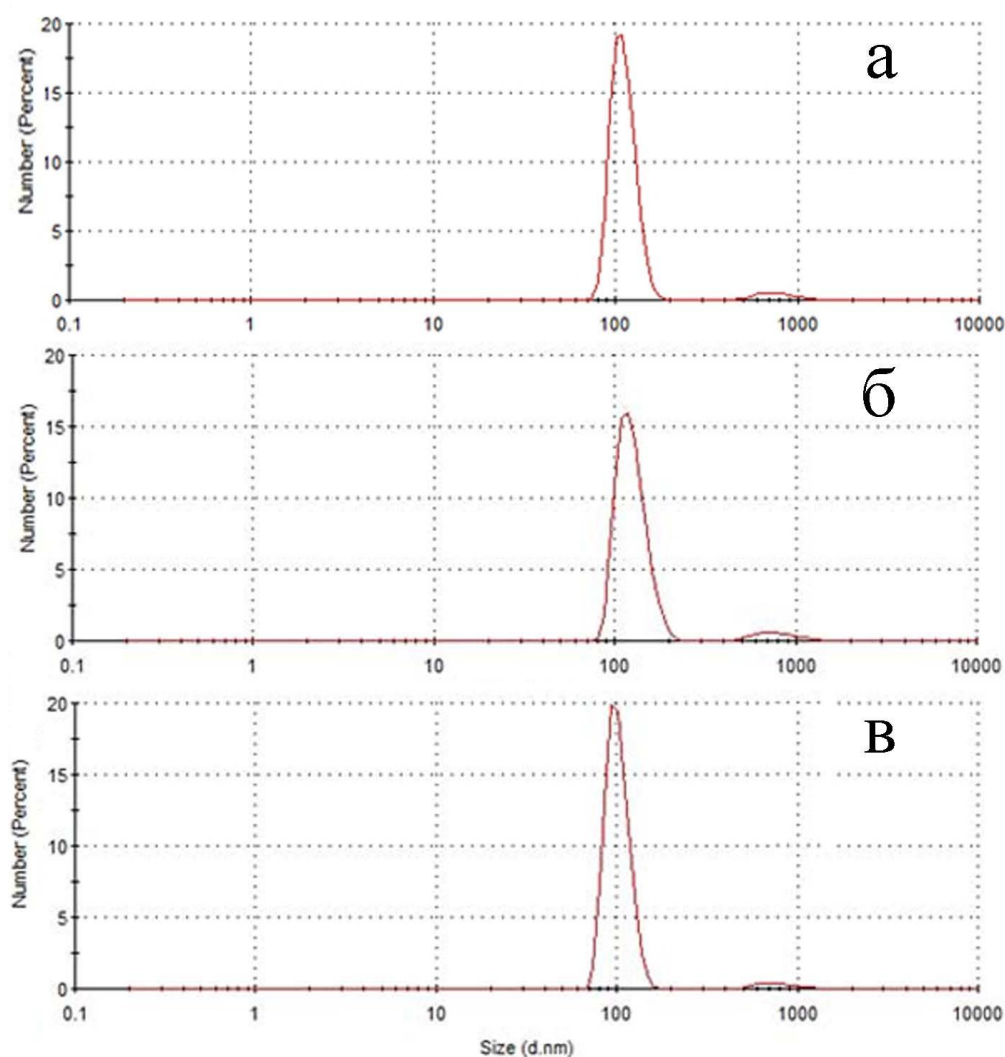


Рисунок 46 – Распределение частиц по размеру в эмульсии фосфолипида, определенное посредством метода динамического рассеяния света (DLS), где (а) эмульсия в воде, (б) эмульсия в католитной фракции, (в) эмульсия в анолитной фракции

Анализируемые эмульсии содержат основную фракцию наночастиц (~100нм), количество (%) которых несколько снижено в коллоидном растворе анолитной фракции. Наличие частиц не позволило применить высокоэффективную жидкостную хроматографию для изучения вытяжки, полученной в результате обработки фосфолипидов водой или фракциями ЭХА-воды.

С целью визуализации действия фракций ЭХА-воды на фосфолипиды, образцы готовили следующим образом. Гранулы препарата растворяли в этиловом спирте, капли (~2мкл) раствора наносили на покровное стекло. После полного высыхания капли спиртового экстракта в вакуумной камере на поверхности стекла формировались участки, покрытые слоем фосфолипидов. На этот слой наносили капли воды (контроль) или фракций ЭХА-воды.

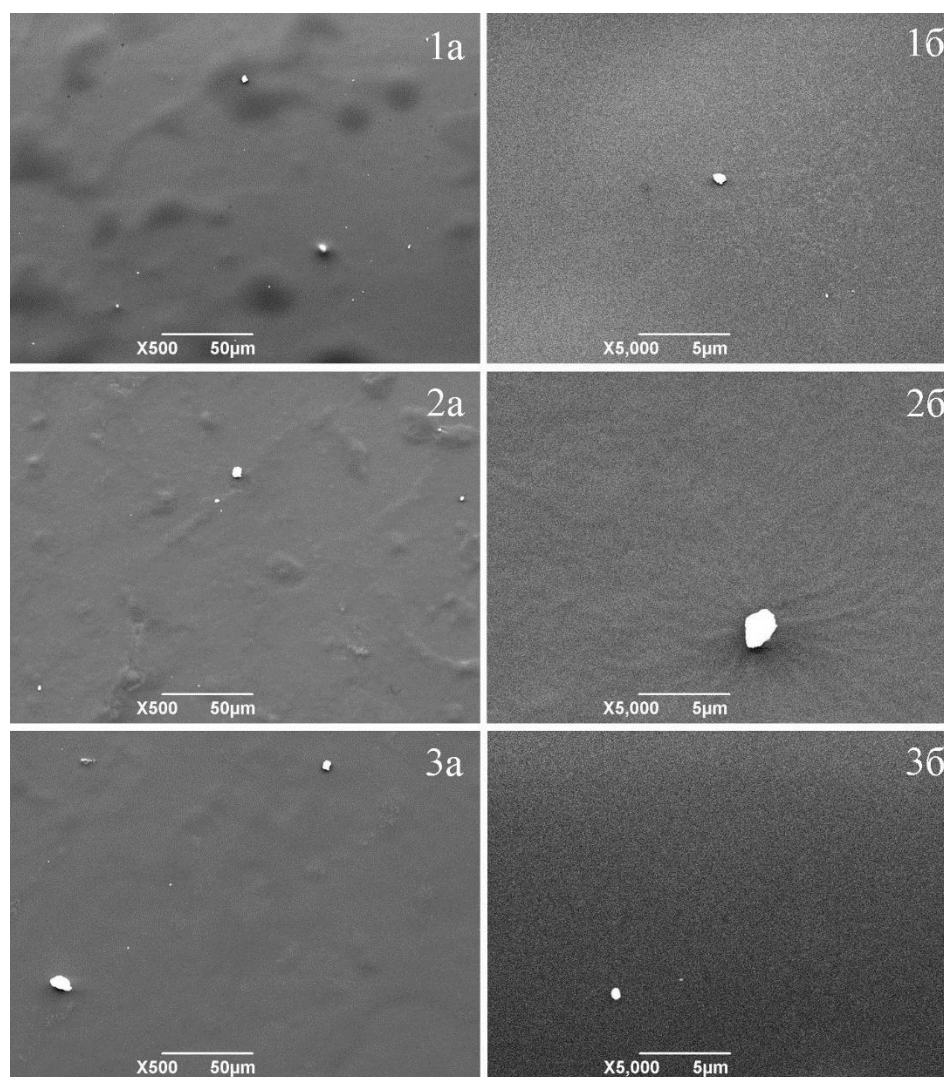


Рисунок 47 – Микрофотографии рельефа поверхности слоя фосфолипидов, где (серия 1а-б) слой обработан водой, (серия 2а-б) слой обработан католитной фракцией, (серия 3а-б) слой обработан анолитной фракцией



Через 30 минут экспозиции на водяной бане жидкость убирали, а поверхность покрывали пленкой платины, распыляя металл в камере с аргоновой плазмой. Микрофотографии рельефа поверхности слоя фосфолипидов приведены на рисунке 47.

Следует отметить нестойкость образца под пучком ускоренных электронов в камере микроскопа, что значительно ограничивает визуализацию поверхности слоя фосфолипидов при высоких увеличениях. Этот фактор, возможно, не позволил обнаружить различие в структуре рельефа.

Таким образом, методами UV спектрометрии и молекулярного анализа (ToF-SIMS) показано, что гранулы пищевой добавки E322 (Cargill, Германия), содержащей фосфолипиды, при обработке водой или фракциями ЭХА-воды образуют эмульсии. Этот результат подтвержден посредством метода динамического рассеяния света (DLS), в результате применения которого обнаружена основная фракция наночастиц (100 нм). После обработки препарата католитной или анолитной фракцией вид UV спектров поглощения полученных эмульсий качественно отличается от спектра, который регистрируется для водного раствора, что согласуется с данными масс-спектрометрии (ToF-SIMS).

Однако молекулярный анализ также показал различие и между эмульсиями, образованными двумя фракциями ЭХА-воды. К сожалению, методические ограничения не позволили идентифицировать особенности тонкой структуры поверхности слоя фосфолипидов, обработанного водой или фракциями ЭХА-воды, с помощью электронной микроскопии.

В эксперименте *in vitro*, используя физико-химические методы, было изучено действие ЭХАР на фосфатидилхолин. Указанный вид фосфолипида выделяли с помощью спиртовой экстракции из гранулированного препарата, который представляет собой смесь полярных и неполярных липидов сои. После очистки от суспензии частиц исходного препарата посредством центрифугирования экстракта получали 2,4 %-ный раствор фосфатидилхолина в этиловом спирте. Раствор разливали по чашкам Петри и выпаривали в струе чистого воздуха при комнатной температуре. В завершение связанную воду удаляли в вакууме, после чего на дне образовывалась плотная однородная пленка. Литературные данные указывают на то, что выделенный в результате алкализации фосфатидилхолин способен модифицироваться в гигроскопичную форму.

Анализ спектров (рисунок 48) показывает, что алкализированный фосфатидилхолин растворяется в воде и в обеих фракциях ЭХА-воды, но есть различие в их эффективности.

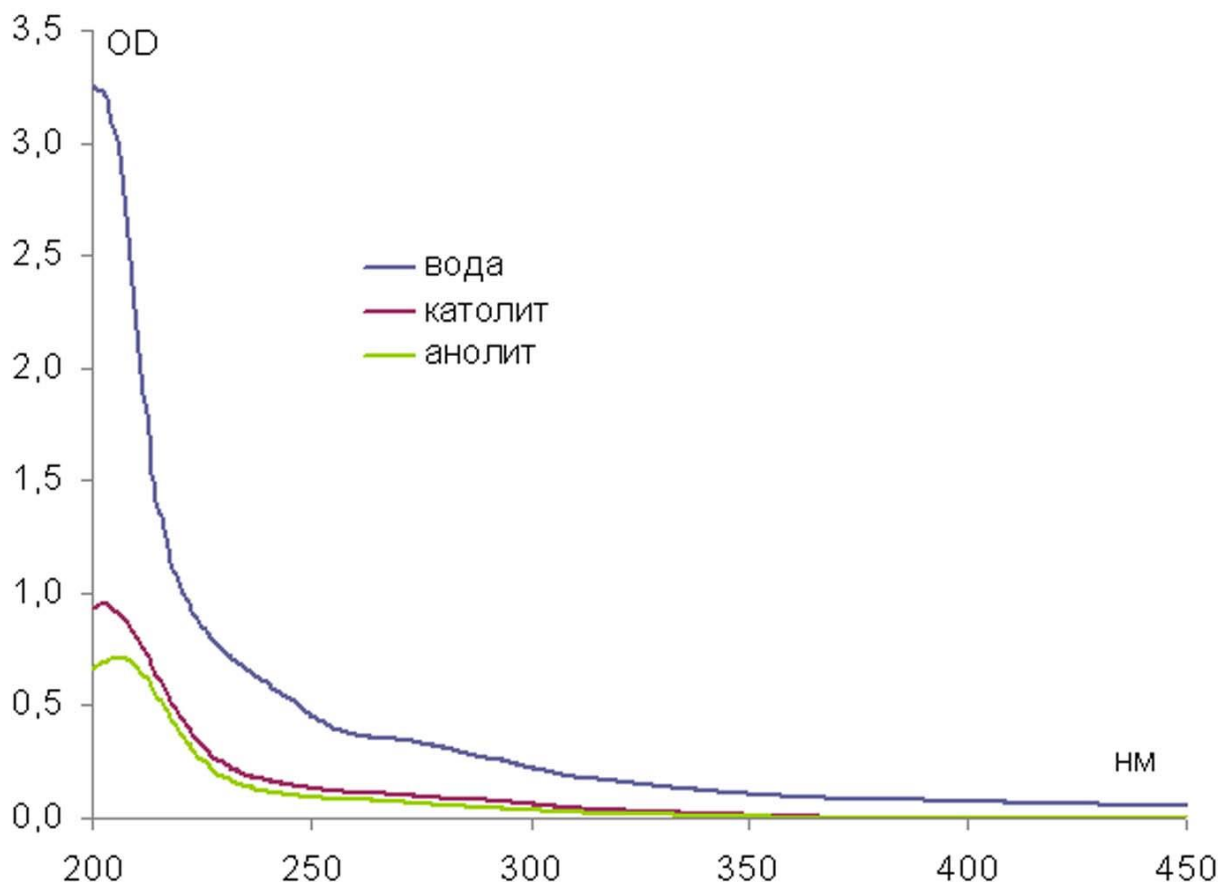


Рисунок 48 – Неспецифичный UV спектр поглощения водного экстракта, полученного посредством выдерживания в течение 5 минут фосфатидилхолиновой пленки в дистиллированной воде (вода), анолитной (анолит) или католитной (католит) фракции

Наиболее высокую экстрагирующую способность показала вода, что соотносится с высоким пиком поглощения в области 210 нм. Относительно низкая экстракция из пленки фосфатидилхолина регистрируется в среде анолитной фракции.

Важно отдельно указать методику получения препарата для сканирующей электронной микроскопии, которая на начальном этапе повторяет процедуру, описанную для UV спектрометрии. После отбора водного супернатанта исследовали рельеф поверхности пленки фосфатидилхолина на дне чашки Петри. Для этого препарат дегидратировали в вакууме.

Образцы с высоким содержанием липидов, как правило, трудно подготовить для сканирующей электронной микроскопии. Проблема состоит в том, что липиды плавятся

в вакууме под пучком ускоренных электронов за счет локального разогрева поверхности, что приводит к механическому разрушению объекта исследования.

В методах электронной микроскопии, как правило, биологические образцы подвергают дополнительной фиксации в водном 2,5 %-ном растворе тетраоксида осмия ( $\text{OsO}_4$ ). Однако в нашем случае вода может изменить тонкий рельеф, сформированный на поверхности фосфолипидной сухой пленки. По этой причине препарат пленки фосфатидилхолина подвергали фиксации в парах кристаллического  $\text{OsO}_4$ .

Микрофотографии тонкой структуры рельефа поверхности пленки фосфатидилхолина, обработанной водой, анолитной или католитной фракциями приведены на рисунке 49.

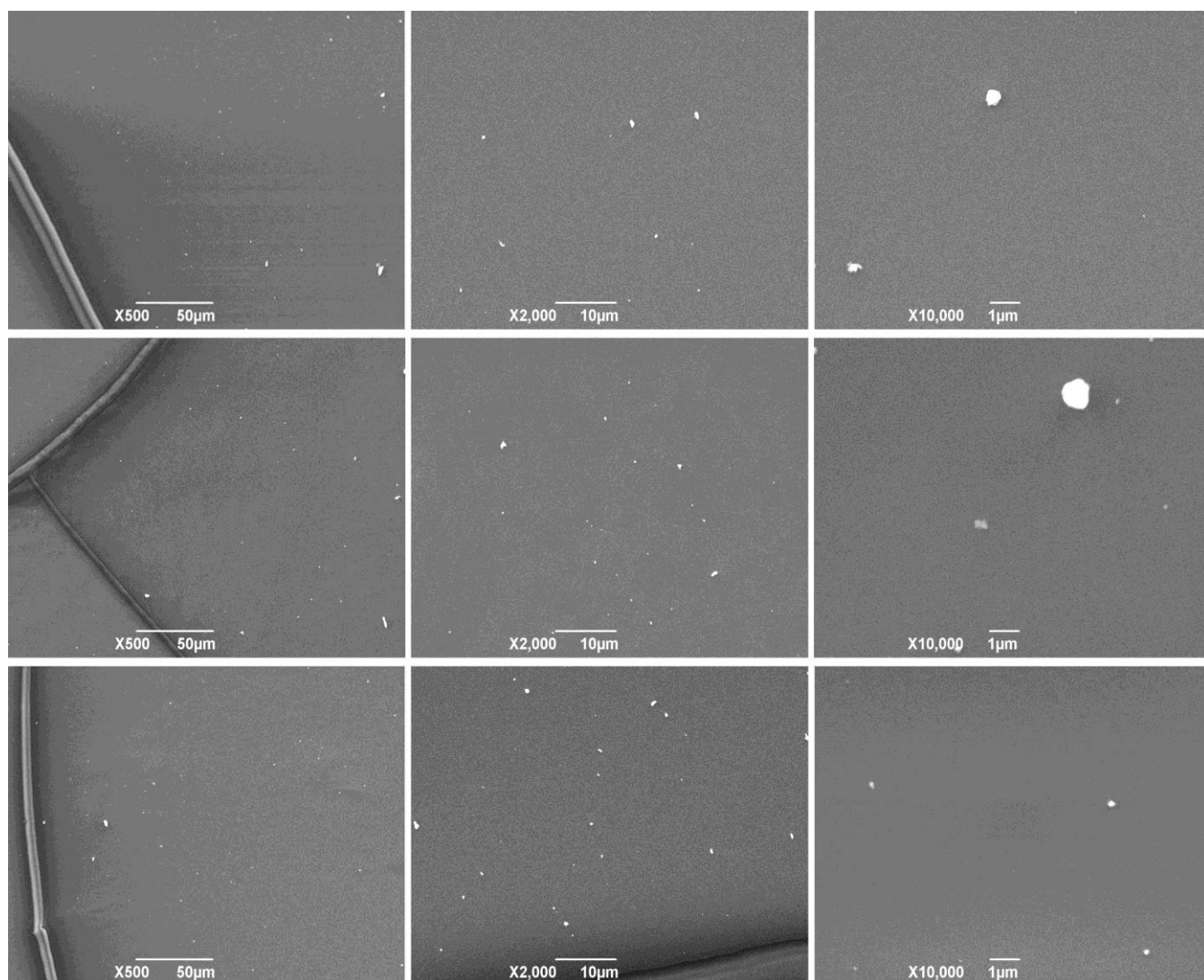


Рисунок 49 – Микрофотографии тонкой структуры рельефа поверхности пленки фосфатидилхолина, обработанной водой (верхний ряд), анолитной (средний ряд) или католитной (нижний ряд) фракциями

На обзорных фотографиях (увеличение в 500 раз) обязательно присутствует в качестве маркера линия трещины, которая возникает на этапе полной дегидратации пленки фосфатидилхолина в вакууме. В отсутствие характерных особенностей на поверхности препарата эта структура демонстрирует наличие пленки на дне чашки Петри. Результаты визуализации тонкого рельефа на поверхности показаны на рисунке 49. Рассмотрение полученных микрофотографий не показало различий структуры поверхности пленки фосфатидилхолина, обработанной водой или фракциями ЭХА-воды. Другими словами, визуально не наблюдается разница между действием воды, анолита или католита на пленку фосфатидилхолина.

Возможно, это обусловлено равномерным травлением поверхности препарата указанными растворителями. В таком случае отличие может состоять в количестве растворенного вещества, что отразится на оптической плотности раствора.

Далее было изучено изменение под действием ЭХА-воды пищевых липидов, используя UV спектрометрию, ToF-SIMS, высокоэффективную жидкостную хроматографию и сканирующую электронную микроскопию. Для исследований методов UV спектрометрии брали два пищевых продукта, которые содержали молочный жир: (1) сливочное масло промышленного производства и (2) сливочное масло, изготовленное в лабораторных условиях в соответствии с домашним рецептом из фермерского молока. В последнем случае получили продукт, который включал только ингредиенты, содержащиеся в цельном молоке. Для подготовки препарата из масла продукт помещали в стеклянный флакон и растапливали при 60° С так, чтобы покрыть дно флакона. Затем сверху наливали одинаковые объемы воды или фракции ЭХА-воды.

После инкубации в течение суток при комнатной температуре коллоидный раствор отбирали и анализировали посредством UV спектрометрии (рисунок 50). Учитывая мягкую консистенцию молочного жира и его низкую температуру плавления, приготовленные препараты быстро разрушались в вакууме под воздействием пучка ускоренных частиц (электроны, первичные ионы) энергией несколько десятков КэВ. Данное обстоятельство не позволило применить масс-спектрометрию (ToF-SIMS) и ультрамикроскопический анализ рельефа поверхности (SEM). Высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC) была исключена по тем же основаниям, что и для фосфолипидов, так как частицы масла образуют эмульсию, которая засоряет колонку хроматографа.

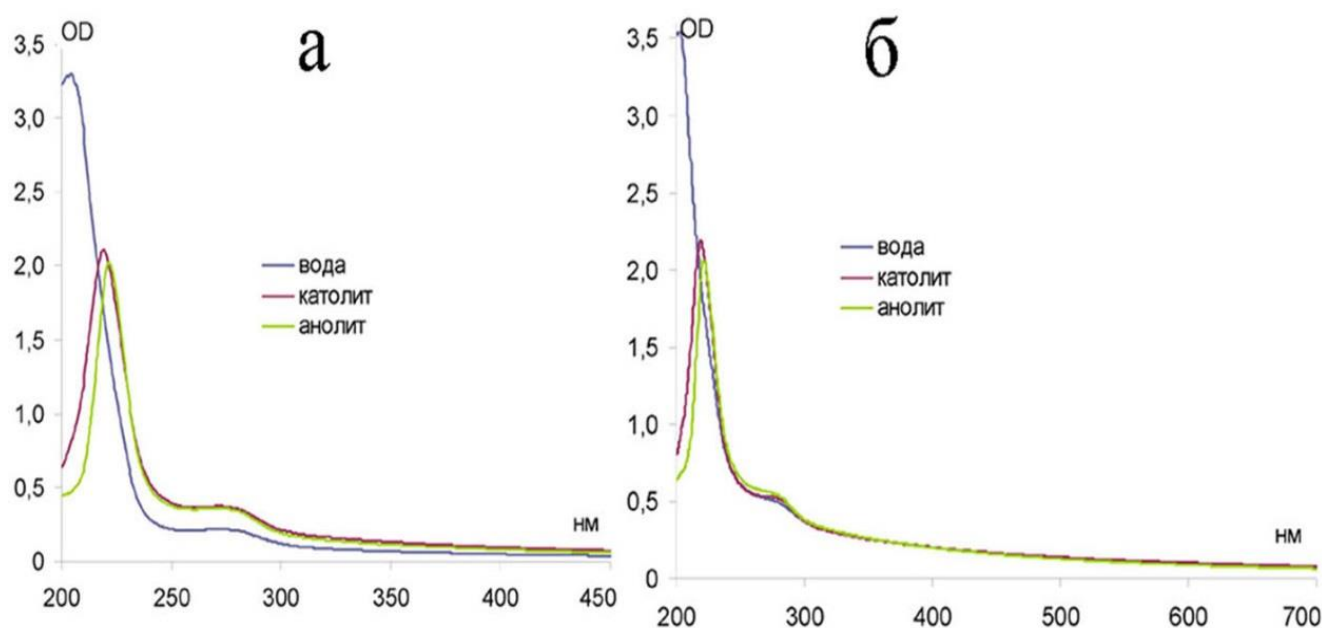


Рисунок 50 – Результаты UV спектрометрии образцов коллоидного раствора после обработки водой или фракциями ЭХА-воды (анолитная, католитная) пищевых продуктов, содержащих молочный жир, где (а) масло, изготовленное в лаборатории по домашнему рецепту из фермерского молока, (б) масло промышленного производства

Таким образом, была отработана методика проведения UV спектрометрии образцов коллоидного раствора, полученного после обработки водой или фракциями ЭХА-воды (анолитная, католитная) для пищевых продуктов, которые содержат молочный жир. Изучение влияния фракций ЭХА-воды на свойства липидов в вододиспергируемой форме (фосфатидилхолин) или жиросодержащих пищевых продуктов имеет ограничения, обусловленные чувствительностью липидов к нагреванию или их способностью образовывать коллоидные системы. Однако комплексный методологический подход с применением выбранного ранее пула методов может быть применен для этой цели при условии модификации этапов пробоподготовки для анализа конкретных объектов.

Резюмируя изложенное выше необходимо отметить, что выявленные закономерности взаимодействия ЭХА-воды и водных растворов с пищевыми ингредиентами и установленные взаимосвязи между окислительно-восстановительным потенциалом воды и свойствами растворов компонентов продуктов питания имеют как фундаментальное, так и прикладное значение в пищевых и биотехнологиях.

Выявленные эффекты воздействия ЭХА-воды и водных растворов на различные «мишени» биологической матрицы актуальны не только с точки зрения безреагентного

регулирования свойств пищевых ингредиентов и сложных пищевых систем, но также потому, что электрохимическая активация отвечает принципам зеленой химии (в данном случае зеленой электрохимии). Технология ЭХА воды и слабоминерализованных растворов ориентирована на получение конечного продукта без ущерба окружающей среде на всех стадиях процесса благодаря исключению стадии образования вредных побочных продуктов, использованных растворителей и других токсичных отходов. Экологичность в настоящее время служит важнейшим критерием современного производства наряду с эффективностью и экономией энергии и ресурсов.

Использование электрохимически активированной воды и водных растворов содействует обеспечению безопасности, повышению эффективности производства продуктов питания и их качества. Метод электрохимической активации является универсальным, высокоэффективным и экологичным инструментом для применения в АПК. Использование анолитной и католитной фракций возможно на различных стадиях жизненного цикла пищевой продукции, включая подготовку и переработку сырья, производство полуфабрикатов и готовой продукции, интенсификацию процесса экстракции более безопасным методом. В технологических процессах роль ЭХА заключается в безреагентном управлении свойствами пищевых сред. В частности, показана возможность использования фракций ЭХА-воды для безреагентной коррекции технологической свойств муки пониженного качества и обеспечения микробиологической безопасности мясных рубленых полуфабрикатов при хранении. Установлено, что анолитная фракция превращает белковый раствор в более однородную по молекулярному составу среду, а католитная фракция оказывает амилолитическое действие, свойственное ферментам.

*Соискатель ученой степени и научный руководитель благодарят  
доктора биологических наук, профессора Александра Григорьевича Погорелова  
за комплексную и всестороннюю поддержку.*

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработаны методы обеспечения микробиологической безопасности производства продуктов питания и их качества с применением электрохимически активированных растворов. По результатам проделанной работы можно сделать следующие выводы:

1. На базе проведенного анализа научно-технической литературы предложены экспериментальные модели рабочих внутренних поверхностей трубопроводов (водопровода, молокопровода). Научно обосновано применение высокоэффективных методов исследования (сканирующая электронная микроскопия в режиме вторичных электронов SEM и времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов ToF-SIMS) пищевых сред, позволяющих контролировать безопасность и эффективность производственных процессов.

2. Создан циркуляционный реактор для моделирования условий при биопленкообразовании *E. coli* и комплекса МКБ (модель водопровода и молокопровода). Изучено влияние ЭХАР на интенсивность роста и морфологические характеристики микроорганизмов в модельных средах на внутренней ПВХ-поверхности циркуляционного реактора. Разработан эффективный метод дезинтеграции биопленки в технологически релевантных условиях: промывание католитом в течение 180 мин с содержанием NaOH 10 % (pH 13,47, ОВП  $-52 \pm 5$  мВ) и последующее 20-минутное обеззараживание анолитом (pH 5,5, ОВП  $+900 \pm 5$  мВ, концентрация оксидантов  $500 \pm 50$  мг/дм<sup>3</sup>).

3. Созданная модель поверхности плодоовощной продукции на основе 10 %-ного агарового геля на водном растворе с питательным субстратом (агар (100 мг/см<sup>3</sup>), NaCl (0,29 мг/см<sup>3</sup>), KCl (7,45 мг/см<sup>3</sup>), экстракт дрожжей (10 мг/см<sup>3</sup>), пептон (33,3 мг/см<sup>3</sup>) и электролиты K<sup>+</sup> (100 мМ/дм<sup>3</sup>), Na<sup>+</sup> (5 мМ/дм<sup>3</sup>)) и бинарная система микроорганизмов (МКБ и *E. coli*) позволили оценить биопленкообразование и степень дезинтеграции образуемой микробиологической пленки после обработки в аэрозоле субмикронных частиц фракций ЭХА-воды («Сухой туман»). Разработано устройство для обработки продукции капельным туманом, произведенным из католитной (pH 10, ОВП  $-760 \pm 5$  мВ) и анолитной (pH 5,5, ОВП  $+800 \pm 5$  мВ) фракций. Определен эффективный режим

подготовки к хранению и переработке безопасной плодоовощной продукции с помощью последовательной обработки аэрозолями католита и анолита в течение 20 мин.

4. Показана возможность использования фракций ЭХА-воды для коррекции технологических свойств муки пониженного качества. Определено, что анолитная фракция, не изменяя качество клейковины уменьшает ее количество на 2,0–3,7 %. Католитная фракция способствует укреплению теста при использовании муки с более слабой клейковиной (показатель ИДК снизился на 11,3 %) и расслаблению – с более крепкой (показатель ИДК повысился на 20 %), повышению ВУС слабой муки на 11,7 %, сильной – на 5,3 %, активации дрожжевых клеток и повышению показателя Н/Д хлеба.

5. Разработан метод повышения микробиологической безопасности продуктов питания из сырья животного происхождения при использовании электрохимической активации применяемой в технологическом процессе воды, подаваемой централизованными системами питьевого водоснабжения, с сохранением их органолептических свойств, влажности и соединений алиментарного значения. На примере мясных рубленых полуфабрикатов после 18-ти суток их хранения показано, что контрольные образцы на питьевой воде имели критический порог контаминации, равный  $4,9 \times 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>, а образец на ЭХА-воде (ОВП +34±5 мВ) –  $2,6 \times 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>, что более чем на порядок ниже допустимых ТР ТС 021/2011 значений КМАФАнМ ( $5,0 \times 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>).

6. Изучено влияние ЭХА-воды на макронутриенты в водном растворе и на деградацию нерастворимых макронутриентов. На примере водных растворов показано, что анолитная фракция превращает белковый раствор в более однородную по молекулярному составу среду. Определено, что в течение всего интервала наблюдения (9 часов) раствор белка в ЭХА-воде в анализируемом диапазоне концентраций (1-10 %) сохранял начальную вязкость в отличие от контрольного образца. Показано, что при обработке нерастворимого в воде крахмала католитная фракция ЭХА-воды демонстрирует некоторую гидролитическую активность.



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК – агропромышленный комплекс

БАВ – биологически активные вещества

БСА – бычий сывороточный альбумин

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

ГМДС – гексаметилдисилазан

КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов

КОЕ – колониеобразующая единица;

МКБ – молочнокислые бактерии

ОВП – окислительно-восстановительный потенциал

ПВХ – поливинилхлорид

ЦКП – центр коллективного пользования

ЭХА-вода – электрохимически активированная вода

ЭХАР – электрохимически активированный раствор

HPLC (high-performance liquid chromatography) – высокоэффективная жидкостная хроматография

m/z – масса/заряд

PCA (principal component analysis) – метод главных компонент

SEM (scanning electron microscopy) – сканирующая электронная микроскопия

ToF-SIMS (time-of-flight secondary ion mass spectroscopy) – времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов

UV (ultraviolet) – ультрафиолетовый свет

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анурьев, В. И. Справочник конструктора-машиностроителя: в 3 т. / В. И. Анурьев; под ред. И. Н. Жестковой. – 8-е изд., перераб. и доп. – М.: Машиностроение, 2001. – 3 т. – 864 с.
2. Басарыгина, Е. М. ЭКО-модуль для фермерских хозяйств / Е. М. Басарыгина, Т. А. Путилова, Р. И. Панова // Агропродовольственная политика России. – 2015. – № 1(37). – С. 40–43.
3. Бахир, В. М. Электрохимическая активация / В. М. Бахир – М. : Вива-Стар, 2014. – 511 с.
4. Белицкая, М. Н. Электроактивированная вода: возможности использования в растениеводстве / М. Н. Белицкая, Е. Э. Нефедьева, И. Г. Шайхиев // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17(24) – С. 124–128.
5. Белобородова, Н. В. Роль микробных сообществ или биопленок в кардиохирургии / Н. В. Белобородова, И. Т. Байрамов // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – Т. 53. – № 11-12. – С. 44–59.
6. Будынков, Н. И. Экоцид С для дезинфекции теплиц / Н. И. Будынков, В. Н. Юваров // Гавриш. – 2008. – № 4 – С. 19–22.
7. Былгаева, А. А. Перспективы использования электрохимически активированных жидких сред в сельском хозяйстве / А. А. Былгаева, Н. А. Обоева, М. П. Неустроев, Н. П. Тарабукина, А. Н. Максимова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 4. – С. 176–181.
8. Ваннер, Н. Э. Технология аэрозольной дезинфекции ветсанобъектов новым препаратом «Анолит АНК супер» в производственных условиях / Н. Э. Ваннер, А. А. Прокопенко, Г. В. Филипенкова, В. М. Бахир // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я. Р. Коваленко. – 2018. – № 1. – С. 126–136.
9. Вытовытов, А. А. Теоретические и практические основы органолептического анализа продуктов питания / А. А. Вытовытов. – СПб. : ГИОРД, 2010. – 232 с.
10. Голуб, А. В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? / А. В. Голуб // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14. – № 1. – С. 23–29.

11. Горюнова, О. Б. Новый биологический препарат трихозан на основе гриба *Trichoderma viride* для защиты зеленных культур на салатных линиях / О. Б. Горюнова, И. Г. Филиппов, Н. А. Корнилова, М. С. Стрельникова, М. Е. Орехов, Н. С. Марквичев, Е. В. Первушина, Р. Е. Полищук // Гавриш. – 2008. – № 4. – С. 23–25.
12. ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно–анаэробных микроорганизмов. – Введ. 1996–01–01. – М.: Стандартиформ, 2010.
13. ГОСТ 171-2015 Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия. – Введ. 2015–12–29. – М.: Стандартиформ, 2015.
14. ГОСТ 23042-2015 Мясо и мясные продукты. Методы определения жира. – Введ. 2017–01–01. – М.: Стандартиформ, 2019.
15. ГОСТ 25011-2017 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка. – Введ. 2018–07–01. – М.: Стандартиформ, 2018.
16. ГОСТ 27839-2013 Мука пшеничная. Методы определения количества и качества клейковины. – Введ. 2014–07–01. – М.: Стандартиформ, 2014.
17. ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Salmonella*. – Введ. 2013–07–01. – М.: Стандартиформ, 2014.
18. ГОСТ 31747-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – Введ. 2013–07–01. – М.: Стандартиформ, 2013.
19. ГОСТ 31778-2012 Мясо. Разделка свинины на отрубы. Технические условия. – Введ. 2013–07–01. – М.: Стандартиформ, 2019.
20. ГОСТ 32031-2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*. – Введ. 2014–07–01. – М.: Стандартиформ, 2014.
21. ГОСТ 32951-2014 Полуфабрикаты мясные и мясосодержащие. Общие технические условия. – Введ. 2016–01–01. – М.: Стандартиформ, 2015.
22. ГОСТ 33319-2015 Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли влаги. – Введ. 2016–07–01. – М.: Стандартиформ, 2019.
23. ГОСТ 33562-2015 Чеснок свежий. Технические условия. – Введ. 2017–01–01. – М.: Стандартиформ, 2019.
24. ГОСТ 34306-2017 Лук репчатый свежий. Технические условия. – Введ. 2018–07–01. – М.: Стандартиформ, 2018.

25. ГОСТ 9959-2015 Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки. – Введ. 2017–01–01. – М.: Стандартиформ, 2016.
26. ГОСТ Р 51232-98 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества. – Введ. 1999–07–01. – М.: Стандартиформ, 2010.
27. ГОСТ Р 51574-2018 Соль пищевая. Общие технические условия. – Введ. 2019–09–01. – М.: Стандартиформ, 2018.
28. Кабалоев, Т. Х. Температурное поле тепличной почвы при термоэлектрическом способе нагрева / Т. Х. Кабалоев, К. К. Гатуева Т. М. Гокоев, Л. С. Никколова // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2018. – Т. 55. – № 4. – С. 148–152.
29. Карпунина, Т. И. Способ оценки характера межмикробных взаимодействий / Т. И. Карпунина, М. В. Кузнецова, Н. В. Николаева, В. А. Дробкова, Ю. В. Ширева // Пат. № 2448161 Российская Федерация МПК С12Q 1/00 (2006.01) С12N 1/20 (2006.01), заявл. 06.07.2010, опубл. 20.04.2012. Бюл. № 11. – 5 с.
30. Колари, М. Способ определения наличия микроорганизмов, образующих биопленку, в бумажной промышленности / М. Колари, М. Салкиноя-Салонен, Т. Хатунен, О. Кемира // Пат. № 2385942 Российская Федерация, МПК С12Q 1/04 (2006.01), С12Q 1/00 (2006.01), С12М 1/34. – 2006118025/13, заявл. 05.11.2004, опубл. 10.04.2010 – Бюл. № 10. – 12 с.
31. Колотило, А. Н. Микробиоценоз воды, используемой для водоснабжения животноводческих предприятий Омского Прииртышья и его коррекция: автореферат дисс. ... канд. ветеринарных наук : 06.02.02 / Колотило Анастасия Николаевна. – Омск, 2013. – 17 с.
32. Коровина, Н. В. Экспериментально – теоретическое исследование процессов распыления и распространения аэрозолей, полученных кавитационным способом / Н. В. Коровина, Е. В. Муравлев, О. Б. Кудряшова // Южно-Сибирский научный вестник. – 2018. – № 4(24). – С. 358-364.
33. Крутов, А. В. Обеззараживание дренажных вод при выращивании овощей способом малообъемной гидропоники / А. В. Крутов, М. А. Бойко, В. В. Боровская // Агропанорама. – 2011. – № 5(87). – С. 13–16.
34. Лебедева, Н. Ш. Состояние бычьего сывороточного альбумина в растворах в зависимости от концентрации диметилформамида / Н. Ш. Лебедева, Е. А. Малькова, Ю.

А. Губарев, А. И. Вьюгин / Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2014. – № 8(145). – С. 12–15.

35. Маянский, А. Н. Стафилококковые биоплёнки: структура, регуляция, отторжение / А. Н. Маянский, И. В. Чеботарь // Журнал микробиологии. – 2011. – № 1. – С. 101–108.

36. Маянский, А. Н. Стратегия управления бактериальным биопленочным процессом / А. Н. Маянский, И. В. Чеботарь // Журнал инфектологии. – 2012. – Т. 4. – № 3. – С. 5–15.

37. Морозов, В. Н. Пат. № 228780 Российская Федерация, МПК А61М 11/00, В82В 1/00 Устройство для генерации биологически активных наноаэрозолей / В. Н. Морозов, И. Л. Канев / заявитель и патентообладатель: Общество с ограниченной ответственностью «БиоНаноАэрозоли»(RU) заявл. 19.05.2016, опубл. 28.08.2017 – Бюл. №25 – 6 с.

38. Морозова, Н. С. Дезинфекционные аспекты борьбы с биопленкой / Н. С. Морозова, В. Ф. Маричевский // Профилактическая медицина – 2009. – № 2(6). – С. 3–7.

39. МУК 4.2.1847-04 Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов. Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 31 с.

40. Нестерова, Н. В. Использование электротехнологии озонирования на предприятиях АПК // В сборнике: Актуальные проблемы энергетики АПК. Материалы IX международной научно-практической конференции. Под общ. ред. Трушкина В.А. – 2018. – С. 159–160.

41. Николаев, Ю. А. Ауторегуляция стрессового ответа микроорганизмов: дис. ... доктора биологических наук : 03.02.03 / Николаев Юрий Александрович. – М., 2011. – 352 с.

42. Осипова, Н. И. Применение объемной дезинфекции на предприятиях молочной промышленности / Н. И. Осипова // Ветеринария. Реферативный журнал. – 2006. – № 4. – С. 941.

43. Патент № 2130472 Российская Федерация. Способ производства красителя из шелухи лука / Квасенков О. И., Ломачинский В. А., Гореньков Э. С. Опубл. 20.05.1999.

44. Патент № 2197840 Российская Федерация. Способ получения альгиновой кислоты и альгината натрия из бурых водорослей / Маслова Г. В., Василевский П. Б., Степанова Н. В. Оpubл. 10.02.2003.

45. Патент № 2372399 Российская Федерация. Способ извлечения виннокислых соединений из виноградных выжимок / Исмаилов Т. А., Исламов М. Н., Темербулатов М. Т. Оpubл. 10.11.2009.

46. Першакова, Т. В. Современные методы предотвращения микробиологической порчи и увеличения сроков хранения продукции растениеводства / Т. В. Першакова, Г. А. Купин, В. Н. Алешин, С. М. Горлов, Е. Ю. Панасенко // International Journal of Humanities and Natural Sciences. – 2018. – № 9. – С.115–121.

47. Плешакова, В. И. Факторы патогенности микроорганизмов, выделенных из питьевой воды и биопленки технологических элементов систем водоснабжения сельскохозяйственных предприятий / В. И. Плешакова, А. Н. Колотило, Н. А. Лещева // Научное обозрение. Реферативный журнал. – 2014. – № 1. – С. 32–32.

48. Погорелов, А. Г. Биологические мишени зелёной электрохимии в технологиях пищевых производств: концепция, методы, приложения / А. Г. Погорелов, В. М. Бахир, Л. Г. Ипатова, И. В. Козлов, А. Л. Кузнецов, А. И. Панаит, М. А. Погорелова, О. А. Суворов [Монография]. – М.: Издательство ООО «Франтера», 2022. – 208 с.

49. Погорелова, М. А. Актуальные проблемы безопасного обеззараживания гидропонных субстратов агропромышленных комплексов / М. А. Погорелова, О. А. Суворов, А. Л. Кузнецов, А. И. Панаит, А. Г. Погорелов // Вестник Южно-Уральского Государственного Университета. Серия: Пищевые и Биотехнологии. – 2020. – Т. 8(1). – С. 12–21.

50. Поляничко, А. М. Межмолекулярные взаимодействия сывороточного альбумина в растворе / А. М. Поляничко, Н. В. Михайлов, Н. М. Романов, Ю. Г. Баранова, Е. В. Чихиржина // Цитология. – 2016. – Т. 58(9). – С. 707-713.

51. Потороко, И. Ю. Научные подходы в обеспечении качества и безопасности плодов и овощей в процессе хранения. Мировой опыт. Часть 1 / И. Ю. Потороко, И. В. Калинина, А. А. Руськина // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2017. – Т. 5. – № 1. – С. 14–18.

52. Прокопенко, А. А. Технология дезинфекции ветсанобъектов направленными аэрозолями Анолита Перокс / А. А. Прокопенко, Н. Э. Ваннер, И. В. Куш, Г. В.

Филипенкова, С. И. Новикова, В. М. Бахир // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 3(35). – С. 322–327.

53. Родина, Т. Г. Сенсорный анализ продовольственных товаров / Т. Г. Родина. – М. : Академия, 2004. – 208 с.

54. Сироткин, И. В. Совершенствование санитарно-микробиологического контроля качества профилактической дезинфекции в цехах по переработке мяса: диссертация ... кандидата ветеринарных наук : 06.02.05 / Сироткин Игорь Владимирович. – М., 2015. – 144 с.

55. Суворов, О. А. Научные и практические основы обеспечения безопасности пищевого сырья и продуктов общественного питания с использованием физико-химических методов обработки : диссертация ... доктора технических наук : 05.18.15 / Суворов Олег Александрович. – М., 2021. – 395 с.

56. Сэндл, Т. Механизмы бактериальной адгезии / Т. Сэндл // Чистые помещения и технологические среды. – 2014. – № 1 (49). – С. 54–58.

57. Танака, Х. Пат. №2338966 Российская Федерация. Вентиляторный воздушнонагреватель / Х. Танака, Ф. Михара, Т. Исигава, Я. Мацуи. МПК F24H 3/04 заявитель и патентообладатель: Мацусита электрик воркс, ЛТД. (JP) заявл. 18.01.2007, опубл. 20.11.2008 – Бюл. № 10. – 11 с.

58. Тапальский, Д. В. Биосовместимые композиционные антибактериальные покрытия для защиты имплантантов от микробных пленок / Д. В. Тапальский, В. А. Осипов, Г. Н. Сухая, М. А. Ярмоленко, А. А. Рогачев, А. В. Рогачев // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – № 2 (36). – С. 130–134.

59. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Принят решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880 (с изменениями на 14 июля 2021 года).

60. Тец, Г. В. Состояние бактериальных биопленок при длительном культивировании / Г. В. Тец, Н. К. Артеменко, Н. В. Заславская, В. В. Тец // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155. – № 4. – С. 460–463.

61. Тутельян, А. В. Образование биологических пленок микроорганизмов на пищевых производствах / А. В. Тутельян, Ю. К. Юшина, О. В. Соколова, Д. С. Батаева, А. Д. Фесюн, А. В. Датий // Вопросы питания. – 2019. – № 3. – С. 32–43.

62. Хмель, И. А. Биопленки бактерий и связанные с ними трудности медицинской практики [Электронный ресурс]. – Институт медицинской генетики. – 2014. – Режим доступа: [img.ras.ru/files/center/biofilms.doc#](http://img.ras.ru/files/center/biofilms.doc#) (дата обращения: 04.12.2023).

63. Цатурян, М. А. Обеззараживание питательных растворов и уничтожения патогенной грибковой микрофлоры в гидропонных системах выращивания овощных культур / М. А. Цатурян, М. В. Шарафан // Инновационные биотехнологии в развитии АПК. Материалы научно-образовательной конференции «Молодой учёный». – 2015. – № 9.2 (89.2). – С. 144–145.

64. Цикоридзе, Н. Г., Бахир В. М., Задорожний Ю. Г., Яковлев Ю. Н., Малеев Б. В., Паничева С. А., Вторенко В. И. Способ дезинфекции помещений. Пат. № 2148414С1 Российская Федерация. Оpubл. 10.05.1998.

65. Чеботарь, И. В. Современные технологии исследования бактериальных биопленок / И. В. Чеботарь, А. Г. Погорелов, В. А. Яшин, Е. Л. Гурьев, Г. Г. Ломинадзе // Современные технологии в медицине. – 2013. – Т. 5 (1). – С. 14–20.

66. Чекман, И. С. Аэрозоли – дисперсные системы / И. С. Чекман, А. О. Сыровая, С. В. Андреева, В. А. Макаров. – Харьков, «Цифрова друкарня №1», 2013. – 100 с.

67. Чернявский, В. И. Бактериальные биопленки и инфекции (лекция) / В. И. Чернявский // Annals of Mechnikov Institute. – 2013. – № 1. – С. 86–90.

68. Шилов, Г. Ю. Современные методы дезинфекции салатных культур, овощей, фруктов / Г. Ю. Шилов // Пищевая промышленность. – 2013. – № 8. – С. 13–17.

69. Шилова, Е. Н. Дезинфицирующая активность препарата "анолит" при аэрозольной дезинфекции животноводческих помещений / Е. Н. Шилова, М. А. Исаев // Ветеринария Кубани. – 2009. – № 4. – С. 6–7.

70. Abadias, M. Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables / M. Abadias, J. Usall, M. Oliveira, I. Alegre, I. Viñas // International Journal of Food Microbiology. – 2008. – Vol. 123(1-2). – P. 151–158. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.008–2008

71. Aday, M. S. Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom / M. S. Aday // LWT – Food Science and Technology. – Vol. 68. – P. 44–51. DOI:10.1016/j.lwt.2015.12.014



72. Akabanda, F. Food safety knowledge, attitudes and practices of institutional food-handlers in Ghana / F. Akabanda, E. H. Hlortsi, J. Owusu-Kwarteng // BMC Public Health. – 2017. – Vol. 17(1). – P. 1–9. DOI:10.1186/s12889-016-3986-9.
73. Al-Holy, M. A. The bactericidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on raw fish, chicken and beef surfaces / M. A. Al-Holy, B. A. Rasco // Food Control. – 2015. – Vol. 54. – P. 317–321. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.02.017
74. Bakhir, V. M. Universal electrochemical technology for environmental protection / V. M. Bakhir, A. G. Pogorelov // International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences. – 2018. – Vol. 7. – P. 41–57.
75. Bhilwadikar, T. Decontamination of microorganisms and pesticides from fresh fruits and vegetables: a comprehensive review from common household processes to modern techniques / T. Bhilwadikar, S. Pounraj, S. Manivannan, N. K. Rastogi, P. S. Negi // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2019. – Vol.18. – P. 1003–1038.
76. Canan, V. The application of various disinfectants by fogging for decreasing postharvest diseases of strawberry / V. Canan, I. Kadir, A. K. Ozgur // Postharvest Biology and Technology. – 2012. – Vol. 66. – P. 30–34.
77. Carrel, M. Biofilms in 3D porous media: Delineating the influence of the pore network geometry, flow and mass transfer on biofilm development / M. Carrel, V. L. Morales, M. A. Beltran, N. Derlon, R. Kaufmann, E. Morgenroth, M. Holzner // Water Research – 2018. – Vol. 134. – P. 280-291.
78. Ceri, H. The Calgary biofilm device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms / H. Ceri, M. E. Olson, C. Stremick, R. R. Read, D. Morck, A. Buret // Journal of Clinical Microbiology. – 1999. – Vol. 37(6). – P. 1771–1776. DOI:10.1128/jcm.37.6.1771-1776.1999
79. Chen, J. Effect of combined pretreatment with slightly acidic electrolyzed water and botanic biopreservative on quality and shelf life of bombay duck (*Harpadon nehereus*) / J. Chen, B. Xu, S. Deng, Y. Huang // Journal of Food Quality. – 2016. – Vol. 39(2). – P. 116–125.
80. Chen, X. Red cabbage washing with acidic electrolysed water: effects on microbial quality and physicochemical properties / X. Chen, S.J. Xue, J. Shi, M. Kostrzynska, J. Tang, E.

Guévremont, S. Villeneuve, M. Mondor // Food Quality and Safety. – 2018. – Vol. 2(4). – P. 229–237. DOI:10.1093/fqsafe/fyy023

81. Cheng, K. C. Electrolyzed oxidizing water for microbial decontamination of food / K. C. Cheng, S. R. S. Dev, K. L. Bialka, A. Demirci // Microbial Decontamination in the Food Industry. – Woodhead Publishing, 2012. – P. 563-591.

82. Cloete, T. E. The antimicrobial mechanism of electrochemically activated water against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* as determined by SDS-PAGE analysis / T. E. Cloete, M. S. Thantsha, M. R. Maluleke, R. Kirkpatrick // Journal of Applied Microbiology. – 2009. – Vol. 107. – P. 379–384.

83. Coenye, T. In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation / T. Coenye, H. J. Nelis // Journal of Microbiological Methods. – 2010. – Vol. 83(2). – P. 89–105. DOI:10.1016/j.mimet.2010.08.018

84. Coenye, T. Use of the modified Robbins device to study their vitrobiofilm removal efficacy of NitrAdine™, a novel disinfecting formula for the maintenance of oral medical devices / T. Coenye, K. De Prijck, B. De Wever, H. J. Nelis // Journal of Applied Microbiology. – 2008. – Vol. 105(3) – P. 733–740. DOI:10.1111/j.13652672.2008.03784.x.

85. Corcoran, B. G. Pharmaceutical water systems and the 6D [Electronic resource]. – 2003. – URL: [https://doras.dcu.ie/17235/1/b.g.\\_corcoran\\_20120703115418.pdf](https://doras.dcu.ie/17235/1/b.g._corcoran_20120703115418.pdf) (дата обращения: 04.12.2023).

86. Costerton, J. W. Introduction to biofilm / J. W. Costerton // International Journal of Antimicrobial Agents. – 1999. – Vol. 11(3-4). – P. 217–221.

87. Curtin, J. Linezolid compared with eperezolid, vancomycin, and gentamicin in an in vitro model of antimicrobial lock therapy for *Staphylococcus epidermidis* central venous catheter-related biofilm infections / J. Curtin, M. Cormican, G. Fleming, J. Keelehan, E. Colleran // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2003 – Vol. 47(10). – P. 3145–3148. DOI:10.1128/aac.47.10.3145-3148.2003

88. Danylkovych, A. G. Use of electrochemically activated aqueous solutions in the manufacture of fur materials / A. G. Danylkovych, V. I. Lishchuk, O. O. Romaniuk // SpringerPlus. – 2016. – Vol. 5(1). – P. 1–11. DOI:10.1186/s40064-016-1784-6

89. Davey, M. E. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics / M. E. Davey, G. A. O'toole // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2000. – Vol. 64. – P. 847–867.

90. De Corato, U. Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements / U. De Corato // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2019. – Vol. 60(6). – P. 940–975. DOI:10.1080/10408398.2018.1553025
91. Deng, X-P. Improving agricultural water use efficiency in arid and semiarid areas of China. / X-P. Deng, L. Shan, H. Zhang, N. Turner // *Agricultural Water Management*. – 2006. – Vol. 80. – №. 1-3. – P. 23–40.
92. Ding, T. Decontamination efficacy and principles of electrolyzed water / T. Ding, X. Liao // *Electrolyzed water in food: fundamentals and applications*. – Singapore : Springer Singapore, 2019. – P. 17-38.
93. Djordjevic, D. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation / D. Djordjevic, M. Wiedmann, L. A. McLandsborough // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2002. – Vol. 68. – № 6. – P. 2950–2958.
94. Doyle, R. J. Contribution of the hydrophobic effect to microbial infection / R. J. Doyle // *Microbes and Infection*. – 2000. – Vol. 2 – P. 391–400.
95. Dube, K. Electrolyzed saline... An alternative to sodium hypochlorite for root canal irrigation / K. Dube, P. Jain // *Medicine and Pharmacy Reports*. – 2018. – Vol. 91(3). – P. 322–327. doi:10.15386/cjmed-863
96. Ehret, D. L. Disinfestation of recirculating nutrient solutions in greenhouse horticulture / D. L. Ehret, B. Alsanius, W. Wohanka, J. G. Menzies, R. Utkhede // *Agronomie*. – 2001. – Vol. 21(4). – P. 323–339. DOI:10.1051/agro:2001127.
97. Feliziani, E. Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest / E. Feliziani, A. Lichter, J. L. Smilanick, A. Ippolito // *Postharvest Biology and Technology*. – 2016. – Vol. 122. – P. 53–69. DOI:10.1016/j.postharvbio.2016.04.016Aday
98. Ferro, S. Role of food sanitising treatments in inducing the “viable but nonculturable” state of microorganisms / S. Ferro, T. Amorico, P. Deo // *Food Control*. – 2018. – Vol. 91. – P. 321–329. DOI:10.1016/j.foodcont.2018.04.016
99. Fleetwood, J. As clean as they look? Food hygiene inspection scores, microbiological contamination, and foodborne illness / J. Fleetwood, S. Rahman, D. Holland, D. Millson, L. Thomson, G. Poppy // *Food Control*. – 2019. – Vol. 96. – P. 76–86. DOI:10.1016/j.foodcont.2018.08.034

100. Flemming, H.-C. Biofilms: an emergent form of bacterial life / H.-C. Flemming, J. Wingender, U. Szewzyk, P. Steinberg, S. A. Rice, S. Kjelleberg // *Nature Reviews Microbiology*. – 2016. – Vol. 14(9). – P. 563–575. DOI:10.1038/nrmicro.2016.94.
101. Flemming, H.-C. The biofilm matrix / H.-C. Flemming, J. Wingender // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – Vol. 8(9). – P. 623–633.
102. Florjanič, M. The control of biofilm formation by hydrodynamics of purified water in industrial distribution system / M. Florjanič, J. Kristl // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2011. – Vol. 405(1-2). – P. 16–22. DOI:10.1016/j.ijpharm.2010.11.038.
103. Ganesh, V. Electrostatic spraying of food-grade organic and inorganic acids and plant extracts to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on spinach and iceberg lettuce / V. Ganesh, N. S. Hettiarachchy, C. L. Griffis, E. M. Martin, S. C. Ricke // *Journal of Food Science*. – 2012. – Vol. 77(7). – P. M391–M396.
104. Garrett, T. R. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces / T. R. Garrett, M. Bhakoo, Z. Zhang // *Progress in Natural Science*. – 2008. – Vol. 18. – P. 1049–1056.
105. Ghorban, S. S. Efficacy of electrolyzed oxidizing water as a pretreatment method for reducing *Listeria monocytogenes* contamination in cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) / S. S. Ghorban, M. Ovissipour, C. F. Ross, B. A. Rasco // *Food Control*. – 2016 – Vol. 60. – P. 401–407. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.08.020
106. Gil, M. I. Potential of electrolyzed water as an alternative disinfectant agent in the fresh-cut industry / M. I. Gil, V. M. Gómez-López, Y.-C. Hung, A. Allende // *Food and Bioprocess Technology*. – 2015. – Vol. 8(6). – P. 1336–1348. DOI:10.1007/s11947-014-1444-1
107. Gorbacheva, M. V. Electrochemical activation as a fat rendering technology / M. V. Gorbacheva, V. E. Tarasov, S. A. Kalmanovich, A. I. Sapozhnikova // *Foods and Raw Materials*. – 2021. – Vol. 9(1). – P. 32–42. DOI:10.21603/2308-4057-2021-1-32-42
108. Jiménez-Pichardo, R. Evaluation of electrolyzed water as cleaning and disinfection agent on stainless steel as a model surface in the dairy industry / R. Jiménez-Pichardo, C. Regalado, E. Castaño-Tostado, Y. Meas-Vong, J. Santos-Cruz & B. E. García-Almendárez // *Food Control*. – 2016. – Vol. 60. – P. 320–328. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.08.011
109. Kim, C. Inactivation of *E. coli* O157:H7 on blueberries by electrolyzed water, ultraviolet light, and ozone / C. Kim, Y.-C. Hung // *Journal of Food Science*. – 2012. – Vol. 77(4). – P. M206–M211. DOI:10.1111/j.1750-3841.2011.02595.x

110. Lado, B. H. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms / B. H. Lado, A. E. Yousef // *Microbes and Infection*. – 2002. – Vol. 4(4). – P. 433–440. DOI:10.1016/s1286-4579(02)01557-5
111. Levievel, H. L. M. Handbook of hygiene control in the food industry / Edited by H. L. M. Levievel, M. A. Mostert, J. Holah. – New York: CRC Press, 2016. – 745 p.
112. Liao, X. Plasma-activated water (PAW) and slightly acidic electrolyzed water (SAEW) as beef thawing media for enhancing microbiological safety / X. Liao, Q. Xiang, P.J. Cullen, Y. Su, S. Chen, X. Ye, D. Liu, T. Ding // *LWT – Food Science and Technology*. – 2020. – Vol. 117:108649. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108649
113. Liu, Q. Treatment with low-concentration acidic electrolysed water combined with mild heat to sanitise fresh organic broccoli (*Brassica oleracea*) / Q. Liu, C.S.C. Tan, H. Yang, S. Wang // *LWT – Food Science and Technology*. – 2017. – Vol. 79. – P. 594–600. DOI:10.1016/j.lwt.2016.11.012
114. Luhovskyi, O. F. Enhancing the efficiency of ultrasonic wastewater disinfection technology / O. F. Luhovskyi, I. A. Gryshko, I. M. Bernyk // *Journal of Water Chemistry and Technology*. – 2018. – Vol. 40(2). – P. 95–101. DOI:10.3103/s1063455x18020078
115. Lührig, K. Bacterial community analysis of drinking water biofilms in southern Sweden / K. Lührig, B. Canbäck, C. J. Paul, T. Johansson, K. Persson, P. Rådström // *Microbes Environments*. – 2015. – Vol. 30. – №. 1. – P.99–107.
116. Mansur, A. R. Combined effects of slightly acidic electrolyzed water and fumaric acid on the reduction of foodborne pathogens and shelf-life extension of fresh pork / A. R. Mansur, C. N. Tango, G.-H. Kim, D.-H. Oh // *Food Control*. – 2015. – Vol. 47. – P. 277–284. DOI:10.1016/j.foodcont.2014.07.019
117. Massey, L. M. Electrostatic spray of food-grade organic acids and plant extract to reduce *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut cantaloupe cubes / L. M. Massey, N. S. Hettiarachchy, E. M. Martin, S. C. Ricke // *Journal of Food Safety*. – 2012. – Vol. 33(1). – P. 71–78. DOI:10.1111/jfs.12024.
118. Meireles, A. Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry / A. Meireles, E. Giaouris, M. Simões // *Food Research International*. – 2016. – Vol. 82. – P. 71–85. DOI:10.1016/j.foodres.2016.01.021
119. Meireles, A. Comparative stability and efficacy of selected chlorine-based biocides against *Escherichia coli* in planktonic and biofilm states / A. Meireles, C. Ferreira, L. Melo,

M. Simões // Food Research International. – 2017 – Vol. 102. – P. 511–518.  
DOI:10.1016/j.foodres.2017.09.033

120. Misra, R. Temperature- and component-dependent degradation of perovskite photovoltaic materials under concentrated sunlight / R. Misra, S. Aharon, B. Li, D. Mogilyanski, I. Visoly-Fisher, L. Etgar, E. A. Katz // The Journal of Physical Chemistry Letters. – 2015. – Vol. 6(3). – P. 326–330.

121. Monroe, D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms / D. Monroe // PloS Biology. – 2007. – Vol. 5(11): e307.

122. Morris, C. Non-thermal food processing/preservation technologies: a review with packaging implications / C. Morris, A. L. Brody L. Wicker // Packaging Technology Science. – 2007. – Vol. 20. – P. 275–286.

123. Neu, T. R. Innovative techniques, sensors, and approaches for imaging biofilms at different scales / T. R. Neu, J. R. Lawrence // Trends in Microbiology. – 2015. – Vol. 23. – № 4. – P. 233–242.

124. Ni, L. Application of slightly acidic electrolyzed water for decontamination of stainless steel surfaces in animal transport vehicles / L. Ni, W. Zheng, Q. Zhang, W. Cao, B. Li // Preventive Veterinary Medicine. – 2016. – Vol. 133. – P. 42–51.  
DOI:10.1016/j.prevetmed.2016.09.010

125. Ogunniyi, A. D. A pH-neutral electrolyzed oxidizing water significantly reduces microbial contamination of fresh spinach leaves / A. D. Ogunniyi, S. Tenzin, S. Ferro, H. Venter, H. Pi, T. Amorico, P. Deo, D. J. Trott // Food Microbiology. – 2021. – Vol. 93:103614. DOI:10.1016/j.fm.2020.103614

126. Onwulata, C. I. Properties of whey protein isolates extruded under acidic and alkaline conditions / C. I. Onwulata, S. Isobe, P. M. Tomasula, P. H. Cooke // Journal of dairy science . – 2006. – Vol. 89(1). – P. 71–81.

127. Percival, S. L. Antiseptics for treating infected wounds: Efficacy on biofilms and effect of pH / S. L. Percival, S. Finnegan, G. Donelli, C. Vuotto, S. Rimmer, B. A. Lipsky // Critical Reviews in Microbiology. – 2016. – Vol. 42(2) – P. 293–309.  
DOI:10.3109/1040841x.2014.940495

128. Pereira, R. N. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing / R. N. Pereira, A. A. Vicente // Food Research International. – 2010. – Vol. 43(7) – P. 1936–1943.

129. Pintaric, R. Suitability of electrolyzed oxidizing water for the disinfection of hard surfaces and equipment in radiology / R. Pintaric, J. Matela, S. Pintaric // *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. – 2015. – Vol. 13(1). – P. 1–6. DOI:10.1186/s40201-015-0160-8

130. Pinto, L. Recent advances to control spoilage microorganisms in washing water of fruits and vegetables: the use of electrolyzed water / L. Pinto, F. Baruzzi, A. Ippolito // *Acta Horticulturae*. – 2016. – Vol. 1144. – P. 379–384. DOI:10.17660/actahortic.2016.1144.72

131. Pogorelov, A. G. Bacterial film disintegration with electrochemically reduced water / A. G. Pogorelov, A. L. Kuznetsov, A. I. Panait, M. A. Pogorelova, O. A. Suvorov, G. R. Ivanitskii // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2019. – Vol. 486(1). – P. 206-208. DOI: 10.1134/S1607672919030098

132. Pogorelov, A. G. Scanning electron microscopy of biofilms adherent to the inner catheter surface / A. G. Pogorelov, I. V. Chebotar, V. N. Pogorelova // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2014. – Vol. 157 (5). – P. 711–714.

133. Pogorelov, A. G. Scanning electron microscopy of biosynthetic wound dressings biocol / A. G. Pogorelov, V. B. Gavriluk, V. N. Pogorelova, B. K. Gavriluk // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2012. – Vol. 154. – P. 167–170.

134. Pyrgiotakis, G. A chemical free, nanotechnology-based method for airborne bacterial inactivation using engineered water nanostructures / G. Pyrgiotakis, J. McDevitt, A. Bordini, E. Diaz, R. Molina, C. Watson, P. Demokritou // *Environmental Science: Nano*. – 2014. – Vol. 1(1). – P. 15–26. DOI:10.1039/c3en00007a

135. Radzig, M. A. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gramnegative bacteria: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action / M. A. Radzig, V. A. Nadtochenko, O. A. Koksharova, J. Kiwi, V. A. Lipasova, I. A. Khmel // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2013. – Vol. 102. – P. 300-306.

136. Raes, J. Molecular eco-systems biology: towards an understanding of community function / J. Raes, P. Bork // *Nature reviews. – Microbiology*. – 2008. – Vol. 6. – № 9. – P. 693-699.

137. Rahman, S. Electrolyzed water as a novel sanitizer in the food industry: current trends and future perspectives / S. Rahman, I. Khan, D.-H. Oh // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2016. – Vol. 15(3). – P. 471–490. DOI:10.1111/1541-4337.12200

138. Ramirez Orejel, J. C. Applications of electrolyzed water as a sanitizer in the food and animal by-products industry / J. C. Ramirez Orejel, J. A Cano-Buendia // *Processes*. – 2020. – Vol. 8(5). – P. 1–19. DOI:10.3390/pr8050534
139. Raudales, R. E. Control of waterborne microbes in irrigation: A review / R. E. Raudales, J. L. Parke, C. L. Guy, P. R. Fisher // *Agricultural Water Management*. – 2014. – Vol. 143. – P. 9–28. DOI:10.1016/j.agwat.2014.06.007
140. Redman, J. A. Bacterial adhesion and transport in porous media: role of the secondary energy minimum / J. A. Redman, S. L. Walker, M. Elimelech // *Environmental Science Technology*. – 2004. – Vol. 38(6). – P. 1777–1785.
141. Rodríguez-Garcia, O. Reduction of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* with electrolyzed oxidizing water on inoculated Hass avocados (*Persea americana* var. Hass) / O. Rodríguez-Garcia, V. M. González-Romero, E. Fernández-Escartín // *Journal of Food Protection*. – 2011. – Vol. 74(9). – P. 1552–1557. DOI:10.4315/0362-028x.jfp-11-047
142. Saparovich, R. S. Influence of the use of activated water during hydrothermal treatment on the quality of bread / R. S. Saparovich, R. K. Sanokulovich, P. Z. Temirovich // *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. – 2021. – Vol. 25(2) – P.4091–4102.
143. Sawant, S. N. Antibiofilm properties of silver and gold incorporated PU, PCLm, PC and PMMA nanocomposites under two shear conditions / S. N. Sawant, V. Selvaraj, V. Prabhawathi, M. Doble // *PLOS ONE*. – 2013. – Vol. 8(5). – P. 1–9. DOI:10.1371/journal.pone.0063311.
144. Sheng, X. Effects of slightly acidic electrolyzed water on the microbial quality and shelf life extension of beef during refrigeration / X. Sheng, D. Shu, X. Tang, Y. Zang // *Food Science & Nutrition*. – 2018. – Vol. 6(7). – P. 1975–1981. DOI:10.1002/fsn3.779
145. Shirtliff, M. E. Molecular interactions in biofilms / M. E. Shirtliff, J. T. Mader, A. K. Camper // *Chemistry & Biology*. – 2002. – Vol. 9(8). – P. 859–871. DOI:10.1016/s1074-5521(02)00198-9.
146. Simões, M. The effect of hydrodynamic conditions on the phenotype of *Pseudomonas fluorescens* biofilms / M. Simões, M. O. Pereira, S. Sillankorva, J. Azeredo, M. J. Vieira // *Biofouling*. – 2007. – V. 23(4). – P. 249–258. DOI:10.1080/08927010701368476
147. Skowron, K. The antimicrobial effect of radiant catalytic ionization on the bacterial attachment and biofilm formation by selected foodborne pathogens under refrigeration



conditions / K. Skowron, K. J. Skowron, J. Bauza-Kaszewska, E. Walecka-Zacharska, J. Kwiecińska-Piróg, K. Grudlewska-Buda, N. Wiktorczyk, E. Gospodarek-Komkowska // *Applied Sciences*. – Vol. 10(4). – 1364. DOI:10.3390/app10041364

148. Spadaro, D. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens / D. Spadaro, M. L. Gullino // *Crop Protection*. – 2005. – Vol. 24(7). – P. 601–613. DOI:10.1016/j.cropro.2004.11.003.

149. Stewart-Wade, S. M. Plant pathogens in recycled irrigation water in commercial plant nurseries and greenhouses: their detection and management / S. M. Stewart-Wade // *Irrigation Science*. – 2011. – Vol. 29(4). – P. 267–297. DOI:10.1007/s00271-0110285-1

150. Takenouchi, T. Rinsing effect of alkaline electrolyzed water on nickel surfaces / T. Takenouchi, S. I. Wakabayashi // *Journal of Applied Electrochemistry*. – 2006. – Vol. 36. – № 10. – P. 1127–1132.

151. Tenzin, S. Decontamination of aerosolised bacteria from a pig farm environment using a pH neutral electrochemically activated solution (Ecas4 anolyte) / S. Tenzin, A. D. Ogunniyi, M. Khazandi, S. Ferro, J. Bartsch, S. Crabb, S. Abraham, P. Deo, D. J. Trott // *PLOS ONE*. – 2019. – Vol. 14(9). – e0222765. DOI:10.1371/journal.pone.0222765

152. Teodósio, J. S. The influence of nonconjugative *Escherichia coli* plasmids on biofilm formation and resistance / J. S. Teodósio, M. Simões, F. J. Mergulhão // *Journal of Applied Microbiology*. – 2012. – Vol. 113(2). – P. 373–382. DOI:10.1111/j.13652672.2012.05332.x

153. Thorn, R. M. S. Assessing the antimicrobial potential of aerosolised electrochemically activated solutions (ECAS) for reducing the microbial bio-burden on fresh food produce held under cooled or cold storage conditions / R. M. S. Thorn, J. Pendred, D. M. Reynolds // *Food Microbiology*. – 2017. – Vol. 68. – P. 41–50. DOI:10.1016/j.fm.2017.06.018

154. Tiwari, B. K. Effect of non-thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices / B. K. Tiwari, C. P. O'donnell, P. J. Cullen // *Trends in Food Science and Technology*. – 2009. – Vol. 20(3). – P. 137–145.

155. Vergara-Irigaray, M. Wall teichoic acids are dispensable for anchoring the PNAG exopolysaccharide to *Staphylococcus aureus* cell surface / M. Vergara-Irigaray, T. Maira-Litrán, N. Merino, G. B. Pier, J. R. Penadés, I. Lasa // *Microbiology*. – 2008. – Vol. 154. – P. 865–877.

156. Wilsmann, D. E. Electrochemically-activated water presents bactericidal effect against *Salmonella heidelberg* isolated from poultry origin / D. E. Wilsmann, D. Carvalho, G. Zottis Chitolina, K. Apellanis Borges, T. Quedi Furian, A. Carvalho Martins, B. Webber // Foodborne Pathogens and Dises. – 2020. – Vol. 17(3). – P. 228-233.

157. Xuan, X.-T. Preservation of squid by slightly acidic electrolyzed water ice / X.-T. Xuan, Y.-F. Fan, J.-G. Ling, Y.-Q. Hu, D.-H. Liu, S.-G. Chen, X.-Q. Ye, T. Ding // Food Control. – 2017. – Vol. 73. – P. 1483–1489. DOI:10.1016/j.foodcont.2016.11.013

158. Zang, Y. T. Efficacy of slightly acidic electrolyzed water on the microbial safety and shelf life of shelled eggs / Y. T. Zang, S. Bing, Y. J. Li, D. Q. Shu, A. M. Huang, H. X. Wu, L. T. Lan, H. D. Wu // Poultry Science. – 2019. – Vol. 98(11). – P. 5932–5939. DOI:10.3382/ps/pez373

159. Zhang, R. Application of heteroatom doping strategy in electrolyzed water catalytic materials / R. Zhang, X. Du, S. Li, J. Guan, Y. Fang, X. Li, Y. Dai, M. Zhang // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2019. – Vol. 921. – P. 116679. DOI:10.1016/j.jelechem.2022.116679

**Приложение А – Патент на полезную модель № 198829 «Устройство для  
обработки плодоовощной продукции жидкостным капельным туманом,  
произведенным из дезинфицирующих средств»**

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

**№ 198829**

**УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОБРАБОТКИ ПЛОДООВОЩНОЙ  
ПРОДУКЦИИ ЖИДКОСТНЫМ КАПЕЛЬНЫМ  
ТУМАНОМ, ПРОИЗВЕДЕННЫМ ИЗ  
ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное  
науки Институт теоретической и экспериментальной  
биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН) (RU)*

Авторы: *Погорелова Мария Александровна (RU), Кузнецов  
Александр Львович (RU), Панаит Артем Игоревич (RU),  
Суворов Олег Александрович (RU), Козлов Игорь  
Владимирович (RU), Погорелов Александр Григорьевич (RU)*

Заявка № 2020103420

Приоритет полезной модели 28 января 2020 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре полезных  
моделей Российской Федерации 29 июля 2020 г.

Срок действия исключительного права  
на полезную модель истекает 28 января 2030 г.



*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Ивлиев*



**Приложение Б – Патент на полезную модель № 213020 «Установка для  
подготовки водных растворов»**



**Приложение В – Методические рекомендации и технологическая инструкция  
по применению электрохимически активированного раствора**

**СОГЛАСОВАНО**

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО «Московский  
государственный университет  
пищевых производств»

  
М.П. Шетинин  
«16» декабря 2019 г.

**УТВЕРЖДАЮ**

Начальник управления развития  
отраслей сельского хозяйства  
Министерства сельского хозяйства  
и продовольствия Московской области

  
Д.В. Коробов  
«16» декабря 2019 г.

**СОГЛАСОВАНО**

Генеральный директор  
ООО «Делфин Аква»

  
М.А. Левачева  
«16» декабря 2019 г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

по применению электрохимически активированного водного раствора  
хлоркислородных и гидропероксидных метастабильных оксидантов для обработки  
растительного сырья и продукции, помещений, оборудования на объектах пищевой  
промышленности, общественного питания, продовольственной торговли

Москва 2019



**Методические рекомендации по применению электрохимически активированного водного раствора метастабильных хлоркислородных и гидропероксидных оксидантов для обработки растительного сырья и продукции, помещений, оборудования на объектах пищевой промышленности, общественного питания, продовольственной торговли.**

Авторы: доцент кафедры индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств», к.т.н. Суворов О.А., младший научный сотрудник лаборатории функциональной микроскопии биоструктур федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук Панаит А.И., заведующий лабораторией функциональной микроскопии биоструктур федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, д.б.н. Погорелов А.Г., руководитель отдела научных исследований и разработок ООО «Делфин Аква», д.т.н. Ипатова Л.Г., ведущий аналитик отдела развития растениеводства и внедрения передовых технологий управления развития отраслей сельского хозяйства Министерства сельского хозяйства и продовольствия Московской области Полякова Д.И.

Рекомендации предназначены для персонала предприятий по переработке растительной продукции, предприятий общественного питания и объектов продовольственной торговли системы сельского хозяйства и продовольствия Московской области.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	4
1 Нормативные требования к микробиологическим показателям качества овощей и овощной продукции.....	4
2 Опыт применения электрохимически активированных растворов для обеззараживания пищевой продукции.....	20
2.1 Антимикробные электрохимически активированные растворы. Общие сведения.....	20
2.2 Применение электрохимически активированного анолита для дезинфекции различных объектов на предприятиях пищевой промышленности и общественного питания.....	21
3 Дезинфицирующее и технологическое вспомогательное средство, полученное путем электрохимической активации водного раствора хлорида натрия: синтез, свойства, применение.....	23
3.1 Общие положения.....	23
3.2 Назначение и области применения.....	24
3.3 Приготовление рабочих растворов средства.....	26
3.4 Технология применения средства в целях дезинфекции овощей и фруктов, свежих резаных и смесей из свежих резаных овощей и фруктов.....	26
4 Контроль качества, методы анализа.....	27
5 Требования техники безопасности .....	29
6 Меры первой помощи.....	30
Заключение.....	31
Список литературы.....	32
Приложение - Практические рекомендации по обеспечению безопасности пищевых продуктов и организации общественного питания на предприятии и вне предприятия.....	35

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
 ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
 УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
 УНИВЕРСИТЕТ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ» (ФГБОУ ВО «МГУПП»)  
 ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ДЕЛФИН АКВА»

**СОГЛАСОВАНО**

Генеральный директор  
 ООО «Делфин Аква», к.т.н.  
 \_\_\_\_\_ М.А. Левачева  
 «01» сентября 2020 г.



**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор по научной работе  
 ФГБОУ ВО «МГУПП», д.т.н.  
 \_\_\_\_\_ М.П. Щетинин  
 «01» сентября 2020 г.



**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**  
 по применению электрохимически активированных растворов  
 на предприятиях общественного питания,  
 пищевой и биотехнологической промышленности  
 ТИ 56.29.19-006-02068634-2020  
 (впервые)

Дата введения в действие - «01» сентября 2020 г.

**РАЗРАБОТАНО:**

к.т.н. Суворов О.А., д.т.н. Лабутина Н.В. (ФГБОУ ВО «МГУПП»);  
 Панаит А.И., д.б.н. Погорелов А.Г. (ИТЭБ РАН);  
 д.т.н. Ипатова Л.Г. (ООО «Делфин Аква»).

Москва  
 2020



**Приложение Г – Акты проведения лабораторно-производственных испытаний, опытно-промышленной апробации, внедрения результатов научной работы в производственный и учебный процессы**

**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО**

**«Черкизовский мясоперерабатывающий завод»**

**ИСПЫТАТЕЛЬНАЯ ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ЛАБОРАТОРИЯ**

Юридический адрес:  
107143, г. Москва, Пермская ул., владение 5  
Фактический адрес лаборатории:  
107143, г. Москва, Пермская ул., владение 5,  
строение 2  
Тел./факс: 8(495) 788-32-32  
ОКПО 11510767  
ОГРН 1027700126849  
ИНН/КПП  
7718013714/774850001

Лицензия № 77.01.13.001.Л.000275.06.07



**Акт проведения лабораторно-производственных испытаний  
ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ, ФИЗИКО-  
ХИМИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
от 13 сентября 2020 года**

1	Заказчик: Попова А.И., Суворов О.А. (ФГБОУ ВО «МГУПП»)
2	Место проведение эксперимента: производственная лаборатория АО «ЧМПЗ»
4	Наименование пробы (образца): охлажденные мясные рубленые полуфабрикаты (колбаски для жарки)
5	Дата и время отбора пробы (образца): 26.08.2020 г. 14:00
6	Дата и время доставки пробы в лабораторию: 26.08.2020 г. 17:00
7	Испытания проведены: с 26.08.2020 г. по 13.09.2020 г.
8	Регистрационный номер пробы (образца): - образец №1: контрольный образец, приготовленный по традиционной рецептуре с использованием питьевой воды, ГОСТ Р 51232-98; - образец №2: опытный образец, приготовленный с использованием электрохимически активированной питьевой воды, ОВП +34 мВ (установка «Изумруд»); - образец №3: опытный образец, приготовленный с использованием питьевой воды (ГОСТ Р 51232-98) и электрохимически активированной питьевой воды, ОВП +34 мВ (установка «Изумруд»), в соотношении 50/50;
9	НД на методику отбора: ГОСТ 9959-2015, ГОСТ 25011-2017 п.6, ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 31747-2012, ГОСТ 32031-2012, ГОСТ 31659-2012
10	Цель: обеспечение биологической безопасности и пролонгации срока годности охлажденных мясных рубленых полуфабрикатов

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ  
ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ**

Дата испытания	Наименование показателя / единица измерения	Результат испытаний	Значение по НД	Погрешность измерений ±	ГОСТ, НД на методы исследований
<b>Образец №1</b>					
26.08.2020	Внешний вид	Измельченное мясо свинины, сформованное в свиной череве в виде колбасок длиной 110 мм	Измельченное мясо свинины, сформованное в свиной череве в виде колбасок длиной от 100 до 120 мм	-	ГОСТ 9959-2015
	Консистенция	Упругая	Упругая	-	ГОСТ 9959-2015
	Цвет и вид на разрезе	Рубленая мясная масса с включениями измельченной соединительной и жировой ткани. Цвет прожаренного мяса (серый)	Рубленая мясная масса с включениями измельченной соединительной и жировой ткани. Цвет от серого до серого-зеленого	-	ГОСТ 9959-2015
	Запах, вкус	Свойственный данному наименованию полуфабриката, с учетом используемых рецептурных компонентов, без посторонних привкуса и запаха	Свойственный данному наименованию полуфабриката, с учетом используемых рецептурных компонентов, без посторонних привкуса и запаха	-	ГОСТ 9959-2015
	Массовая доля белка, %	16,01	Не менее 15,0	0,5	ГОСТ 25011-2017 п.6
	Массовая доля жира, %	16,32	Не более 26,0	0,5	ГОСТ 23042-2015
	Массовая доля влаги, %	64,48	Не более 75,0	0,5	ГОСТ 33319-2015
<b>Образец №2</b>					
26.08.2020	Внешний вид	Измельченное мясо свинины, сформованное в свиной череве в виде колбасок длиной 110 мм	Измельченное мясо свинины, сформованное в свиной череве в виде колбасок длиной от 100 до 120 мм	-	ГОСТ 9959-2015
	Консистенция	Упругая	Упругая	-	ГОСТ 9959-2015
	Цвет и вид на разрезе	Рубленая мясная масса с включениями измельченной соединительной и жировой ткани. Цвет прожаренного мяса (серый)	Рубленая мясная масса с включениями измельченной соединительной и жировой ткани. Цвет от серого до серого-зеленого	-	ГОСТ 9959-2015
	Запах, вкус	Свойственный данному наименованию полуфабриката, с учетом используемых рецептурных компонентов,	Свойственный данному наименованию полуфабриката, с учетом используемых рецептурных компонентов,	-	ГОСТ 9959-2015

		без посторонних привкуса и запаха	без посторонних привкуса и запаха		
	Массовая доля белка, %	15,95	Не менее 15,0	0,5	ГОСТ 25011-2017 п.6
	Массовая доля жира, %	15,34	Не более 26,0	0,5	ГОСТ 23042-2015
	Массовая доля влаги, %	65,42	Не более 75,0	0,5	ГОСТ 33319-2015
<b>Образец №3</b>					
26.08.2020	Внешний вид	Измельченное мясо свинины, сформованное в свиной череве в виде колбасок длиной 110 мм	Измельченное мясо свинины, сформованное в свиной череве в виде колбасок длиной от 100 до 120 мм	-	ГОСТ 9959-2015
	Консистенция	Мягкая	Упругая	-	ГОСТ 9959-2015
	Цвет и вид на разрезе	Рубленая мясная масса с включениями измельченной соединительной и жировой ткани. Цвет не до прожаренного мяса (светло-розовые включения)	Рубленая мясная масса с включениями измельченной соединительной и жировой ткани. Цвет от серого до серого-зеленого	-	ГОСТ 9959-2015
	Запах, вкус	Свойственный данному наименованию полуфабриката, с учетом используемых рецептурных компонентов, без посторонних привкуса и запаха	Свойственный данному наименованию полуфабриката, с учетом используемых рецептурных компонентов, без посторонних привкуса и запаха	-	ГОСТ 9959-2015
	Массовая доля белка, %	15,64	Не менее 15,0	0,5	ГОСТ 25011-2017 п.6
	Массовая доля жира, %	17,12	Не более 26,0	0,5	ГОСТ 23042-2015
	Массовая доля влаги, %	64,13	Не более 75,0	0,5	ГОСТ 33319-2015

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ**  
**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ**

Дата испытания	Наименование образца	Наименование определяемых показателей	Фактический результат	Значение по НД	НД на методы исследований
26.08.2020	Образец №1	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>3</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не выявлены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
26.08.2020	Образец №2	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	3,0 x 10 <sup>3</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не выявлены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012

		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
26.08.2020	Образец №3	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>3</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
04.09.2020	Образец №1	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,3 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
04.09.2020	Образец №2	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,3 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
04.09.2020	Образец №3	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,3 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
06.09.2020	Образец №1	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>4</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
06.09.2020	Образец №2	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
06.09.2020	Образец №3	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	8,2 x 10 <sup>3</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
08.09.2020	Образец №1	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	3,1 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012



		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
08.09.2020	Образец №2	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,2 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
08.09.2020	Образец №3	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,7 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
10.09.2020	Образец №1	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	1,8 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
10.09.2020	Образец №2	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	7,0 x 10 <sup>4</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
10.09.2020	Образец №3	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	1,4 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
13.09.2020	Образец №1	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	4,9 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
13.09.2020	Образец №2	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,6 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)
13.09.2020	Образец №3	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>	ГОСТ 10444.15-94
		БГКП	Не обнаружены	Не допускаются в 0,0001 г	ГОСТ 31747-2012
		Listeria monocytogene	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 32031-2012
		Salmonella	Не обнаружены	Не допускаются в 25,0 г	ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)

## Используемое оборудование:

№ п/п	Наименование оборудования
1	Анализатор пищевых продуктов FoodScan 2 Lab (Дания)
2	Спектрофотометр UNICO 1201 (Россия)
3	Весы неавтоматического действия Mettler Toledo PB-602 S (Швейцария)
4	Дозирующее устройство Dosimat 775 (Швейцария)
5	Весы неавтоматического действия A&D HR -250AZG (Япония)
6	Весы лабораторные электронные Adventurer AR 5120 OHAUS (Швейцария)

## Заключение

Лабораторно-производственные испытания проведены в период с 26.09.2020 г. по 13.09.2020 г. Исследованы органолептические (внешний вид, консистенция, цвет и вид на разрезе, запах и вкус), физико-химические (массовая доля белка, жира, влаги), микробиологические (КМАФАнМ, БГКП, *Listeria monocytogene*, *Salmonella*) показатели следующих образцов:

- образец №1: контрольный образец, приготовленный по традиционной рецептуре с использованием питьевой воды, ГОСТ Р 51232-98;
  - образец №2: опытный образец, приготовленный с использованием электрохимически активированной питьевой воды ОВП, +34 мВ (установка «Изумруд»);
  - образец №3: опытный образец, приготовленный с использованием питьевой воды (ГОСТ Р 51232-98) и электрохимически активированной питьевой воды, ОВП +34 мВ (установка «Изумруд»), в соотношении 50/50.
- Показано, что органолептические, физико-химические и микробиологические показатели исследуемых образцов соответствуют требованиям нормативной документации.
- Достигается обеспечение биологической безопасности и пролонгация сроков годности охлажденных мясных рубленых полуфабрикатов.
- Определено, что срок годности образцов, приготовленных с использованием электрохимически активированной питьевой воды, может достигать 18 суток, по сравнению с традиционной технологией (15 суток), с учетом коэффициента резерва – 1,3 согласно МУК 4.2.1847-04 при обеспечении биологической безопасности образцов. Пролонгация срока годности составила 1,2 раза (с 15 суток до 18 суток).

Руководитель проекта по реорганизации локальных лабораторий АО «ЧМПЗ»

Инженер-химик АО «ЧМПЗ»

Руководитель технологического отдела АО «ЧМПЗ»

Инженер-технолог АО «ЧМПЗ», студент кафедры индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса ФГБОУ ВО «МГУПП»  
(19.04.04 Технология продукции и организация общественного питания)

Доцент кафедры индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса ФГБОУ ВО «МГУПП»

Младший научный сотрудник лаборатории функциональной микроскопии биоструктур ИТЭБ РАН

Гришанова Е.Р.

Магон Т.И.

Ходаков А.В.

Попова А.И.

Суворов О.А.

Панаит А.И.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МОСКОВСКИЙ АВИАЦИОННЫЙ ИНСТИТУТ  
(национальный исследовательский университет)»  
**СТОЛОВАЯ МАИ**



Утверждаю:

Директор Столовой МАИ

Бурмистрова И.Х., к.т.н.

«17» ноября 2020 г.

**АКТ  
ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННОЙ АПРОБАЦИИ**

Комиссия в составе представителей столовой ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)» директора Бурмистровой И.Х., зав. производством Трикулич С.М., инженера Мурашова В.М. провели опытно-промышленную апробацию результатов научной разработки технологии снижения микробной контаминации технологических линий и пищевой продукции с применением электрохимической обработки. Авторы разработки: к.т.н., доцент Суворов О.А. (кафедра индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»), м.н.с. Панаит А.И. (лаборатория функциональной микроскопии биоструктур ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», г. Пушкино).

Цель апробации заключалась в отработке режимов обеззараживания различных объектов в производственных условиях предприятия индустрии питания на 2000 мест при высшем учебном заведении. В период с 12.08.2020г. по 17.11.2020г. в столовой регулярно проводилась специальная обработка электрохимически активированными растворами (дезинфицирующим и технологическим вспомогательным средством «Анолит АНК СУПЕР», в том числе методом объемной дезинфекции, и католитом – электрохимически концентрированным (9-10%) раствором гидроксида натрия). Анолитом обрабатывали овощи (баклажаны, кабачки, капуста б/к, китайская капуста и др.) и фрукты (апельсины, мандарины, лимоны, бананы, яблоки зеленые и красные и др.); анолитом и/или католитом - технологические линии, оборудование, столовую посуду, поверхности помещений и других объектов в установленных режимах.

Полученные практические результаты (протокол № 177 от 17.11.2020г.) доказывают эффективность предложенных способов в подавлении микробной контаминации пищевых продуктов и различных участков технологической цепи. Регулярное обеззараживание обеими фракциями электрохимически активированного раствора (анолитом и католитом) обеспечивало достоверное удаление биопленки микроорганизмов на всех выбранных объектах.

**Заключение:**

Комиссия рекомендует внедрение разработанных способов обеззараживания продуктов питания и производственных объектов при использовании электрохимически активированных растворов в столовой ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)», что позволит обеспечить должный санитарно-эпидемиологический уровень производства биологически безопасных пищевых продуктов с заданными качественными характеристиками.

Трикулич С.М. 14.11.2020  
(подпись/дата)  
Трикулич С.М. 14.11.2020  
(подпись/дата)  
Мурашов В.М. 17.11.2020  
(подпись/дата)  
Суворов О.А. 17.11.2020  
(подпись/дата)  
Панаит А.И. 17.11.2020  
(подпись/дата)

Бурмистрова И.Х.  
(ф.и.о.)  
Трикулич С.М.  
(ф.и.о.)  
Мурашов В.М.  
(ф.и.о.)  
Суворов О.А.  
(ф.и.о.)  
Панаит А.И.  
(ф.и.о.)




ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "РЕАЛГРУПП"  
 ОГРН 1177746832493. ИНН 7743220538. КПП 774301001  
 125252, город Москва, улица Зорге, дом 28, корпус 1



**АКТ**  
**о внедрении результатов научной работы**  
**в производственный процесс**

1. **Наименование предложения для внедрения:** научная разработка новых методов исследования и повышения биологической безопасности сырья, пищевых систем и готовых пищевых продуктов посредством электрохимически активированных растворов.
2. **Кем предложена разработка:** доцент кафедры индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса ФГБОУ ВО «МГУПП», к.т.н. Суворов О.А.; младший научный сотрудник лаборатории функциональной микроскопии биоструктур ИТЭБ РАН Панаит А.И.
3. **Краткая аннотация разработки.** В производстве пищевой продукции широко применяются антимикробные средства с целью предотвращения заражения на различных этапах трофологической цепи. Современные подходы в области санитарии при использовании электрохимически активированных водных растворов предусматривают применение нетепловых методов обеззараживания при переработке пищевого сырья, позволяющих избежать нежелательного эффекта термообработки, при дезинфекции оборудования и материалов. Результаты научной работы способствуют обеспечению биологической безопасности производства продуктов питания при использовании безвредных для человека, экологически чистых и высокоэффективных электрохимически активированных растворов.
4. **Где и когда внедрено:** результаты исследования представляют практический интерес и внедрены в производственный процесс ООО "РеалГрупп" при следующих видах деятельности:
  - организация питания;
  - производство соковой продукции из фруктов и овощей;
  - производство готовых пищевых продуктов и блюд;
  - производство хлеба и мучных кондитерских изделий, тортов и пирожных недлительного хранения;
  - производство мучных кондитерских изделий, тортов, пирожных, пирогов и бисквитов, предназначенных для длительного хранения;
  - производство детского питания и диетических пищевых продуктов;
  - деятельность предприятий общественного питания по обслуживанию торжественных мероприятий;
  - производство продукции из мяса убойных животных и мяса птицы;
  - деятельность ресторанов и услуги по доставке продуктов питания.
5. **Эффективность от внедрения:** повышение биологической безопасности производства пищевых продуктов с заданными качественными характеристиками и эффективности производственной деятельности ООО "РеалГрупп".

Заведующий производством ООО "РеалГрупп"  
 Доцент ФГБОУ ВО «МГУПП», к.т.н.  
 Младший научный сотрудник ИТЭБ РАН

 /Скляров Д.И./  
 /Суворов О.А./  
 /Панаит А.И./



ООО «Оазис МСК»  
ИНН 7714951967, КПП 771401001

Утверждаю:  
Директор ООО «Оазис МСК»  
Белашев В.В.

« 06 » сентября 2023 г.

### АКТ ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННОЙ АПРОБАЦИИ

<b>Состав комиссии</b>	Директор кафе «Оазис МСК» Белашев В.В., бариста Колодько Н.И.
<b>Авторы разработки</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• д.т.н., проф. Суворов О.А. (кафедра индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет «РОСБИОТЕХ»);</li> <li>• м.н.с. Панаит А.И. (лаборатория функциональной микроскопии биоструктур ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН);</li> <li>• студент магистратуры Кулиш А.С. (кафедра индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет «РОСБИОТЕХ»).</li> </ul>
<b>Ход апробации</b>	Комиссия провела опытно-промышленную апробацию результатов научной разработки технологии производства напитков на растительной основе и обеспечения микробиологической безопасности на предприятии. Были отработаны методы обеспечения микробиологической безопасности производства напитков на растительной основе, проведена оценка органолептических показателей образцов, приготовленных в условиях предварительно проведенной процедуры дезинфекции помещения с использованием аэрозольного распыления электрохимически активированных растворов в кафе «Оазис МСК» на 35 мест.
<b>Практические результаты</b>	Полученные данные свидетельствуют о микробиологической безопасности производства напитков на растительной основе с использованием разработанных технико-технологических решений на основе электрохимически активированных растворов.
<b>Заключение</b>	Комиссия рекомендует внедрение разработанных решений на основе аэрозольной дезинфекции электрохимически активированными растворами на предприятии общественного питания. Напитки на растительной основе соответствуют требованиям по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям качества.



Белашев В.В.  
Колодько Н.И.  
Суворов О.А.  
Панаит А.И.  
Кулиш А.С.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«РОССИЙСКИЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ (РОСБИОТЕХ)»



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по образовательной деятельности

Жукова Н.В.

2024 г.

## АКТ О ВНЕДРЕНИИ

научных исследований в учебный процесс подготовки бакалавров по направлениям 19.03.04 «Технология продукции и организация общественного питания», 43.03.01 «Сервис», магистров по направлению 19.04.04 «Технология продукции и организация общественного питания» и аспирантов по направлению 19.06.01 «Промышленная экология и биотехнологии» Института пищевых систем и здоровьесберегающих технологий РОСБИОТЕХ м.н.с. ИТЭБ РАН Панаита А.И., профессора РОСБИОТЕХ, д.т.н. Суворова О.А.

Мы, нижеподписавшиеся, директор института пищевых систем и здоровьесберегающих технологий РОСБИОТЕХ, к.т.н. Логунова Н.Ю., заведующий кафедрой индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса РОСБИОТЕХ, к.т.н. Кусова И.У., профессор кафедры индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса РОСБИОТЕХ, д.т.н. Суворов О.А. и младший научный сотрудник лаборатории функциональной микроскопии биоструктур ИТЭБ РАН Панаит А.И. составили настоящий акт о том, что материалы научных исследований Панаита А.И., Суворова О.А., посвященные разработке метода обеспечения микробиологической безопасности производства продуктов питания с применением электрохимически активированных растворов, используются в учебном процессе, а именно: в лекционных курсах, при проведении лабораторных, курсовых, выпускных квалификационных работ и практической подготовке по дисциплинам «Проектирование предприятий индустрии питания с основами промышленного строительства», «Управление качеством продукции и услуг», «Организация производства и обслуживание на предприятиях питания», «Методология, организация и представление научного исследования», «Профессиональная деятельность в сегменте HoReCa», «Производственная технологическая практика», «Преддипломная практика», «Техника и технологии индустрии питания» в рамках подготовки бакалавров по направлениям 19.03.04 «Технология продукции и организация общественного питания», 43.03.01 «Сервис», магистров по направлению 19.04.04 «Технология продукции и организация общественного питания» и аспирантов по направлению 19.06.01 «Промышленная экология и биотехнологии».

Директор института пищевых систем  
и здоровьесберегающих технологий РОСБИОТЕХ, к.т.н.

Логунова Н.Ю.

Заведующий кафедрой индустрии питания,  
гостиничного бизнеса и сервиса РОСБИОТЕХ, к.т.н.

Кусова И.У.

Профессор кафедры индустрии питания,  
гостиничного бизнеса и сервиса РОСБИОТЕХ, д.т.н.

Суворов О.А.

Младший научный сотрудник лаборатории  
функциональной микроскопии биоструктур ИТЭБ РАН

Панаит А.И.