

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в лаборатории функциональной микроскопии биоструктур ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

- Научный руководитель:** **Суворов Олег Александрович**,
доктор технических наук, доцент
- Официальные оппоненты:** **Багрянцева Ольга Викторовна**,
доктор биологических наук, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), профессор кафедры гигиены питания и токсикологии Института профессионального образования
Игнатова Динара Фанисовна,
кандидат технических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», доцент Высшей биотехнологической школы
- Ведущая организация:** **ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»**

Защита состоится «26» сентября 2024 г. в 10-00 на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.2.334.03 на базе ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» по адресу: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, д. 11, корп. А.

Отзывы (в двух экземплярах) на автореферат, заверенные гербовой печатью учреждения, просим направлять в адрес диссертационного совета.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» по адресу: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, д. 11, корп. А. Полный текст диссертации размещен в сети Интернет на официальном сайте ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» <http://www.mgupp.ru>.

Автореферат размещен в сети Интернет на официальных сайтах ВАК при Минобрнауки России (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>) и ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» (<http://www.mgupp.ru>).

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат технических наук, доцент



Кусова Ирина Урузмаговна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 рН 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 био пленки, 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 (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

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 Анализ научной литературы и патентной информации о применении ЭХА в пищевых производствах

В обзоре научно-технической литературы рассмотрены методы культивирования биопленок (планшеты, устройства, реакторные системы) и причины их роста на твердой однородной, твердой пористой и плотной подложках, Проанализированы существующие методы дезинтеграции биопленок и возможности применения обеззараживающих средств, в том числе ЭХАР в АПК. Исследованы ключевые биологические эффекты и основные механизмы влияния ЭХА на биообъекты и пищевые системы.

2 Объекты и методы исследования

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. Анолит – высокоактивный окислитель с выраженными биоцидными свойствами: содержание смеси оксидантов в эквиваленте активного хлора 500 ± 50 мг/дм³, pH 5,0-6,5, ОВП +800...+900 мВ. Католит – насыщенный восстановитель с высокой адсорбционно-химической активностью: 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 %. В работе использовали препарат бактерий *E. coli* М-17 и *Bifidobacterium bifidum* 1 («Бификол», НПО АО «Микроген», Россия), препарат штаммов МКБ («Эвиталия», ПРОБИОТИКА НПФ, Россия).

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/дм³ в зависимости от количества в исходной воде ионов хлора, рН 4,0-4,5, ОВП +700...+800 мВ) и католитную (содержание NaOH 0,4 %, рН 10-11, ОВП -700...-800 мВ) фракции ЭХА-воды, полученные электролизом (в установке СТЭЛ-Универсал (ООО «Делфин Аква», Россия) питьевой воды из городского водопровода (рН 7,4, ОВП ~260 мВ). Модельный тест-объект – плотный 10 %-ный агаровый гель на водном растворе с питательным субстратом содержал агар (100 мг/см³), NaCl (0,29 мг/см³), KCl (7,45 мг/см³), экстракт дрожжей (10 мг/см³), пептон (33,3 мг/см³) и электролиты K⁺ (100 мМ/дм³), Na⁺ (5 мМ/дм³).

При изучении возможности безреагентного регулирования свойств пшеничного теста использовали две фракции ЭХА-воды, полученные путем ЭХА бутилированной питьевой воды (ОВП +190...+210 мВ, рН 7,8, общая минерализация не более 0,7 г/дм³). Фракции ЭХА-воды получали в лабораторном электролизере в течение 30 мин, рН определяли на портативном приборе HI98120 (Hanna, Германия), ОВП – на ST20R (Ohaus, Китай). Тесто готовили из пшеничной хлебопекарной муки высшего сорта, хлебопекарных прессованных дрожжей, пищевой соли и питьевой воды, хлеб – традиционным безопасным способом. Образцы хлеба, приготовленные на бутилированной питьевой воде без ЭХА, использовали в качестве контроля. Растяжимость и гидратационную способность клейковины определяли с помощью прибора ИДК-1. Свойства муки оценивали по ГОСТ 27839-2013, ВУС – центрифугированием. Подъемную силу дрожжей определяли по ГОСТ 171-2015. Качество хлеба оценивали органолептически.

В экспериментах с мясными полуфабрикатами использовали воду, прошедшую стадии очистки и ЭХА в установке «ИЗУМРУД» (Россия), со значением ОВП ЭХА-воды +34±5 мВ. Мясные рубленые полуфабрикаты производили из сырья согласно ГОСТ 31778-2012, ГОСТ 34306-2017, ГОСТ Р 51574-2018, ГОСТ 33562-2015. Микробиологические показатели определяли по ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 31747-2012, ГОСТ 31659-2012, ГОСТ 32031-2012.

Объектом исследования для гель-электрофореза белков служили бычий сывороточный альбумин BSA100 (Merck, Sigma-Aldrich) и желатин пищевой П-11 (ООО «Русская бакалейная компания», Россия). UV спектрометрия: неспецифический спектр поглощения супернатанта анализировали на спектрофотометре, для получения специфических спектров поглощения в видимой области растворы крахмала дополнительно окрашивали иодитным методом.

3 Разработка многофункционального реактора для формирования, исследования и дезинтеграции бактериальной пленки (модель трубопровода)

Заращение биоматериалом конструктивных частей водотока может служить источником заражения технической воды, что критично для 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. Присутствие *E. coli* в пробах, взятых с поверхности оборудования, служит критерием неблагоприятного санитарного состояния производства.

Формирование бактериальной пленки из планктонной формы условно-патогенных бактерий проводили в разработанном циркуляционном реакторе. Устройство предназначено для изучения роста в потоке жидкости микробной пленки на различных материалах и в различных средах посредством визуального и микроскопического наблюдения. Конструкцией реактора предусмотрена регулировка температуры, скорости потока жидкой среды, возможность обработки антимикробными средствами. Реактор выполнен в виде станда, конструктив которого показан на схеме (рисунок 2).

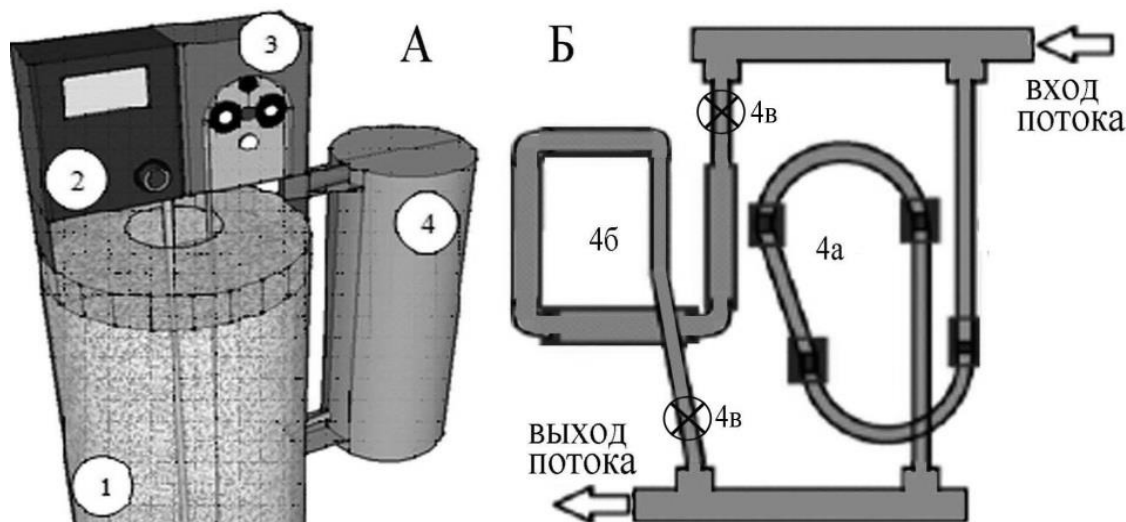


Рисунок 2 – Многофункциональный реактор для формирования в контролируемых условиях микробной пленки: (А) схема реактора, где: 1 – резервуар с исследуемой жидкостью, 2 – компрессор и трубопровод для оксигенации жидкости, 3 – перистальтический насос и набор трубопроводов, 4 – система трубопровода, (Б) система трубопровода реактора (детально), где: 4а – спираль трубок поливинилхлорида (ПВХ), 4б – спираль трубок из ПВХ для моделирования застойной зоны, 4в – кран

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 температурах 20° С и 50° С.

Результаты данного исследования приведены на рисунке 3 (серии А1, Б1, В1, Г1: увеличение = 500, серии А2, Б2, В2, Г2: 3000, серии А3, Б3, В3, Г3: 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).

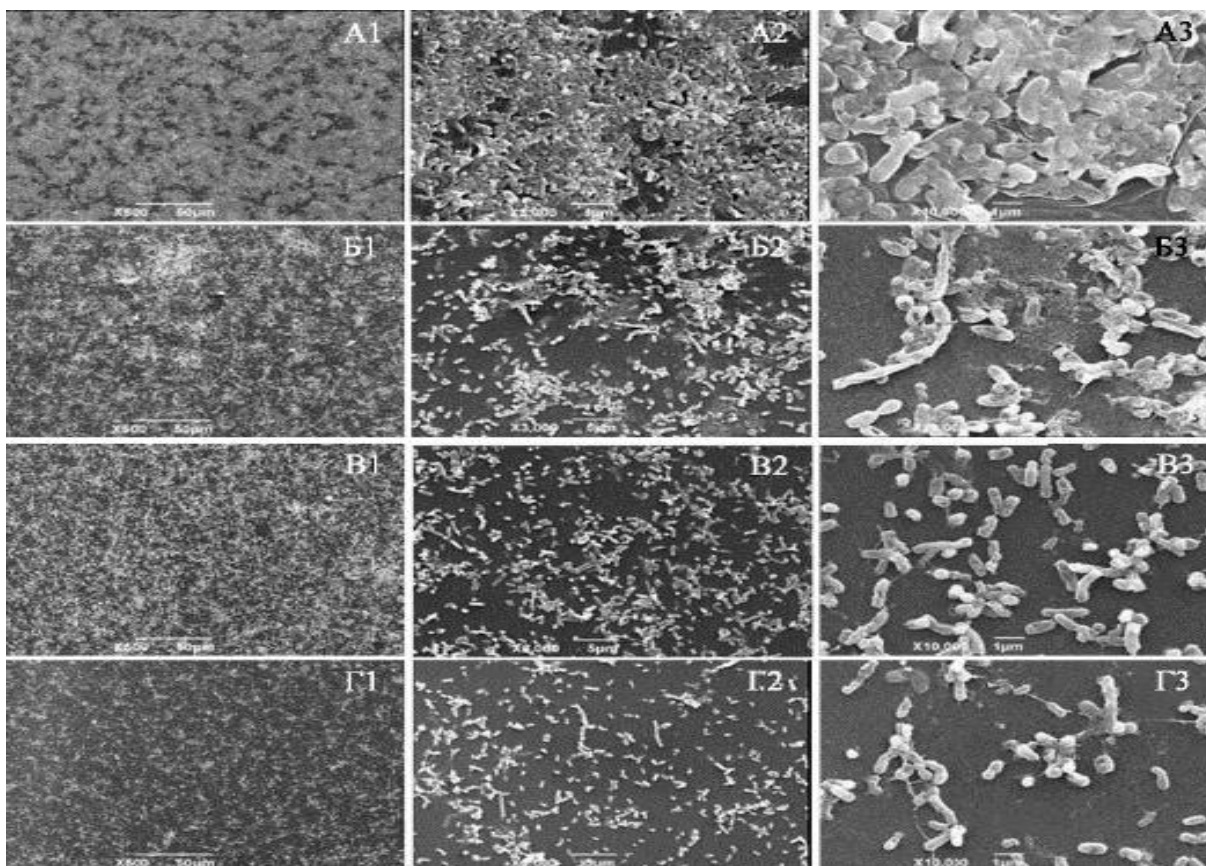


Рисунок 3 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки реактора после инкубации планктонной формы *E. coli* в течение 7 сут с последующей дезинтеграцией пленки в течение 20 мин в потоке: (серия А) воды, (серия Б) водного 3 %-ого раствора NaOH при 20° С, (серия В) католит с содержанием NaOH 3 %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

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.

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 4 (серии А1, Б1, В1: увеличение = 500, серии А2, Б2, В2: 3000, серии А3, Б3, В3: 10000).

На микрофотографиях контрольного варианта (серия А) видна плотная структура пленки. При большем увеличении идентифицировались бактерии *E. coli* с характерным морфологическим признаком в виде нитевидного придатка пилы. После обработки системы 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 анолитной фракции ЭХАР заключалось в том, что от клеток оставались округлые следы (серия В). Этот морфологический признак может свидетельствовать о том, что окисленная фракция способна вызывать дополнительный дезинтегрирующий эффект.

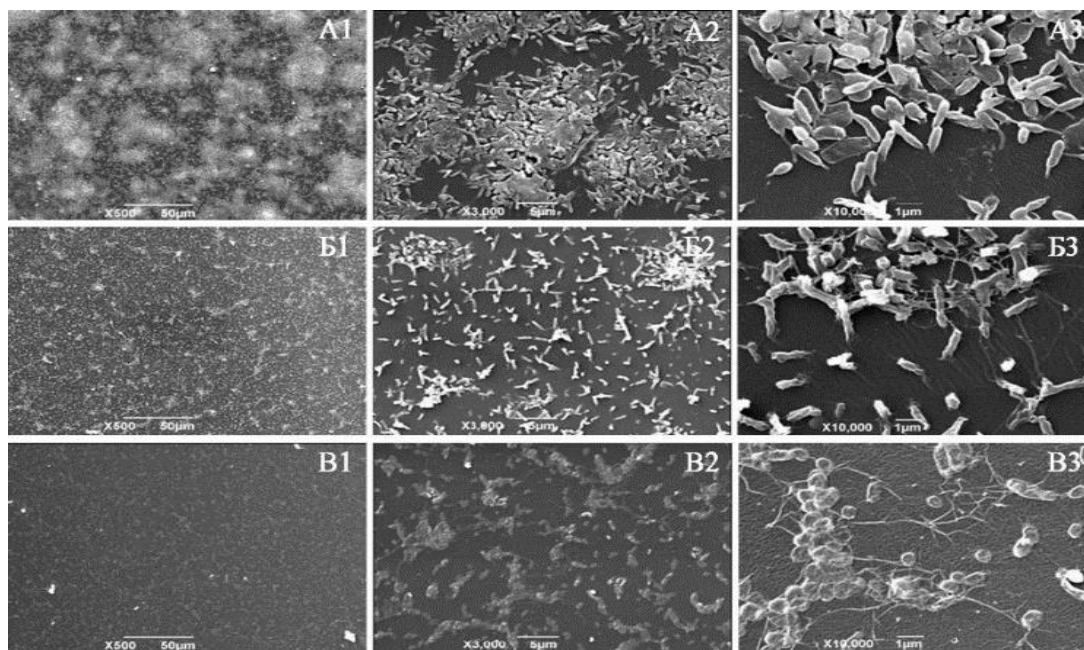


Рисунок 4 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из реактора после инкубации планктонной формы *E. coli* в течение 7 сут с последующей дезинтеграцией пленки в течение 180 мин: (серия А) потоком воды, (серия Б) католит с содержанием NaOH 10 % при 20° С, (серия В) католит с содержанием NaOH 10 % при 20° С с последующей обработкой в течение 20 мин анолитом

Таким образом, сравнение данных (рисунки 3 и 4) позволяет заключить, что увеличение длительности промывания ЭХАР с 20 мин до 180 мин приводило к более полному удалению матрикса, а аналогичное увеличение времени обработки католитом с более высокой концентрацией NaOH не вызывало заметных изменений в структуре биопленки.

4 Моделирование, ультрамикроскопическое исследование и дезинтеграция бактериальной пленки, сформированной молочнокислыми бактериями (модель молокопровода)

В исследовании источником исходной планктонной формы служили лиофильно высушенные МКБ, входящие в состав препарата "Эвиталия" (БАД). Технологическое загрязнение моделировали в водной суспензии указанного препарата, которой заполняли систему реактора, где бактериальная пленка формировалась в течение 7 сут. Перед дезинфекцией, для очистки объема трубопровода систему реактора промывали водопроводной водой. В варианте комбинированной обработки систему промывали последовательно католитом и анолитом, по завершении которой образцы с поверхности трубки готовили для SEM. После краткосрочной обработки (20 мин) фракциями ЭХАР загрязненность поверхности ПВХ трубки значительно снижалась, но полной промывки не происходило. Поэтому длительность воздействия ЭХАР на пленку, сформированную МКБ, увеличили до 180 мин. В этом сравнительном эксперименте исследовали эффективность дезинтеграции пленки посредством только католита или дополняя стадией обеззараживания анолитом (рисунок 5).

Полученные данные показали, что увеличение времени обработки потоком воды не влияет на качество очистки поверхности (серия А). Практически полное удаление бактериальной пленки наблюдалось под действием католита (серия Б). Применение комбинированной дезинфекции католитом и анолитом не усиливало дезинтеграцию биопленки (серия В).

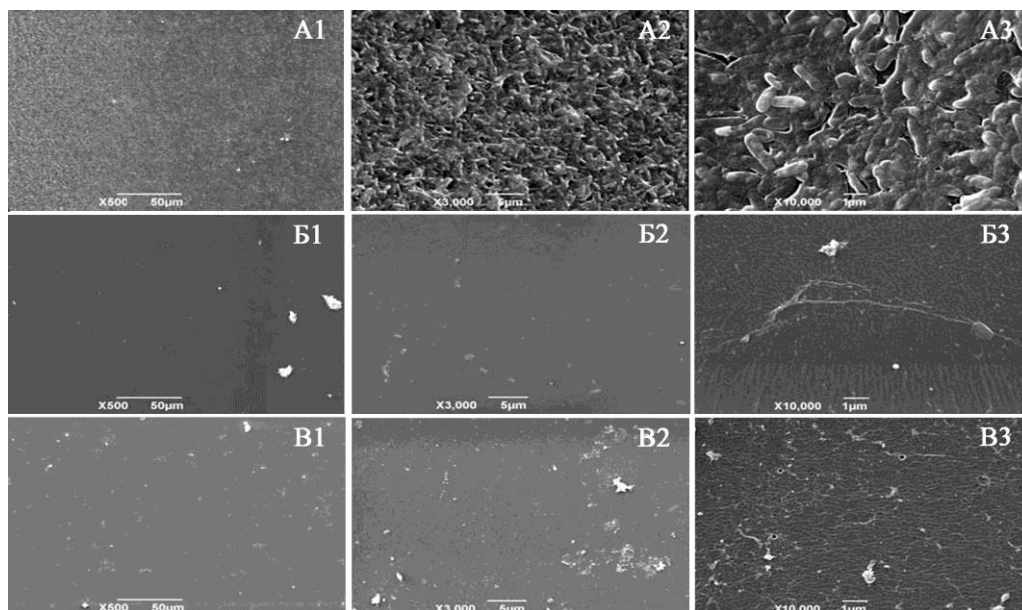


Рисунок 5 – Микрофотографии внутренней поверхности ПВХ трубки из реактора после инкубации планктонной формы МКБ в течение 7 сут с последующей дезинтеграцией пленки при 20° С в течение 180 мин: (серия А) потоком воды, (серия Б) потоком католита, (серия В) потоком католита и анолита последовательно

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. В результате эффекта «травления» анолитом (В3) появилась более выраженная «шероховатость» поверхности трубки, что является дополнительным фактором, облегчающим повторное формирование пленки *de novo* посредством адгезии или механического закрепления. С помощью разработанной системы *in vitro* моделировали вспомогательные работы по очистке трубопровода от клеток МКБ – продуцентов биологически активных веществ, и изучали механизм влияния ЭХАР на морфологические характеристики МКБ посредством структурного анализа методом SEM. Результаты приведены на рисунке 6.

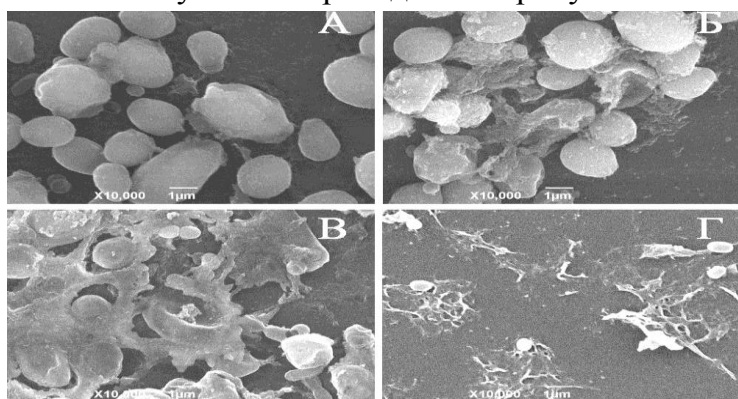


Рисунок 6 – Микрофотографии бактериальной пленки на внутренней поверхности трубки из ПВХ реактора: (А) не подвергнутая обработке, (Б) после обработки 10 %-ным водным раствором NaOH, (В) после обработки католитом с содержанием NaOH 10 %, (Г) после обработки последовательно католитом с содержанием NaOH 10 % и анолитом

Показано, что структура контрольных и опытных образцов значительно различалась. Как видно из рисунка 6, в контроле (А) бактерии не идентифицировались, 10 %-ный водный раствор NaOH (Б) разрушал фрагменты клеток, католит (В) снижал адгезивную способность матрикса. Последовательная

обработка катодом с содержанием NaOH 10 % и анодом (Г) приводила к глубокой дезинтеграции биопленки.

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 формировании биопленки и оценке действия ЭХАР на клетки и матрикс в модельных условиях на ранее не изученных культурах.

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 сравнивали данные ToF-SIMS исходной и обработанной трубок (рисунок 7).

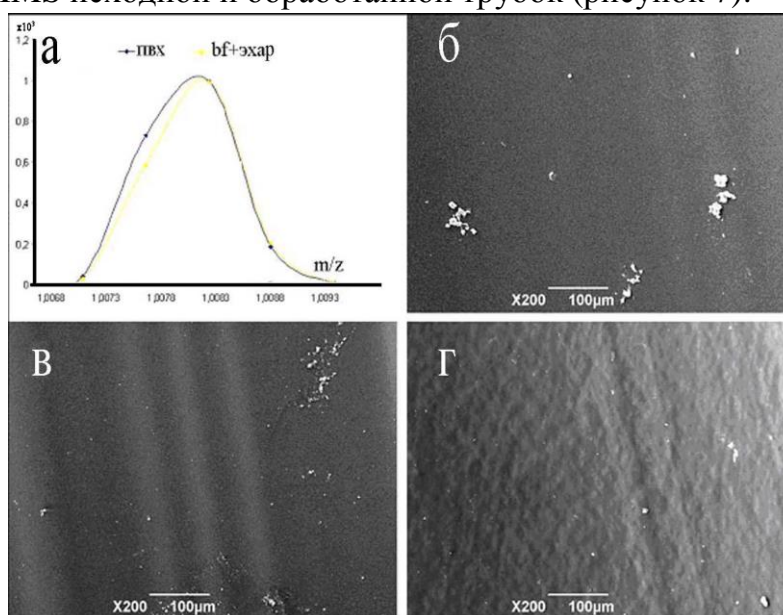


Рисунок 7 – Сравнительные результаты изучения разными методами внутренней поверхности ПВХ трубки реактора: (а) ToF-SIMS, где по оси абсцисс отложен параметр m/z – отношение массы и заряда вторичного молекулярного иона, по оси ординат – количество вторичных ионов. Обозначения: «пвх» – пик молекулярного спектра исходной трубки, «bf+эхар» – трубки после удаления катодом пленки МКБ. SEM микрофотографии внутренней поверхности: (б) исходной трубки, (в) трубки после обработки катодом и (г) трубки после удаления пленки МКБ посредством катода

Анализ результатов (рисунок 7а) показал практически полное совпадение молекулярных спектров поверхности исходной и обработанной ПВХ трубки. Данный факт свидетельствовал о полной дезинфекции системы реактора от биопленки. Результаты SEM (рисунки 7б-7г) свидетельствовали об отсутствии видимых бактериальных загрязнений. На поверхности наблюдались «посторонние» микронные частицы неизвестной природы, возможно, из состава препарата. Таким образом, методы ToF-SIMS и SEM обеспечивали анализ чистоты изучаемой поверхности на молекулярном уровне.

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, чувствительности к агрессивным средам и механической обработке фруктов и ягод для обеззараживания модельной поверхности использовали анолитную и католитную 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 8), для чего использовали методику подготовки препарата, отработанную для неорганических материалов.

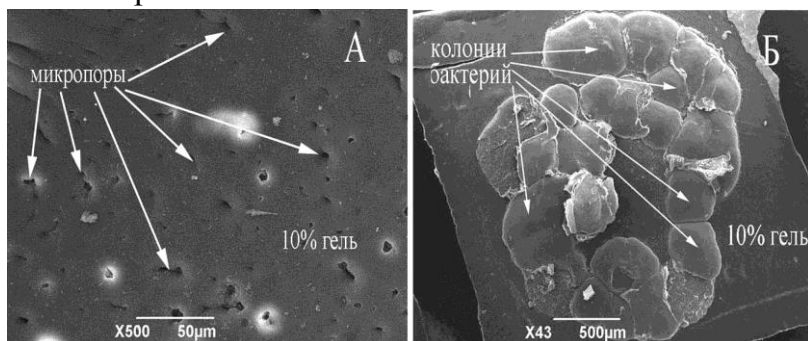


Рисунок 8 – Микрофотографии модели плодоовощной продукции: (А) поверхность разработанного тест-объекта; (Б) биопленка в виде кластера колоний, сформированных из планктонной формы композиции бифидобактерий и *E. coli*

Рисунок 8А демонстрирует наличие на достаточно однородной поверхности геля микропор, свидетельствующих об адекватности предложенной модели поверхности плодоовощной продукции. На рисунке 8Б приведена образованная на поверхности геля биопленка, состоящая из нескольких бактериальных колоний, сформированных из бинарной системы планктонных бифидобактерий и *E. coli*. Дезинтеграцию биопленки проводили в аэрозоле субмикронных частиц ЭХА-воды (мелкодисперсный «Сухой туман»), для производства которого был разработан стенд на основе ультразвукового генератора аэрозоля (рисунок 9).

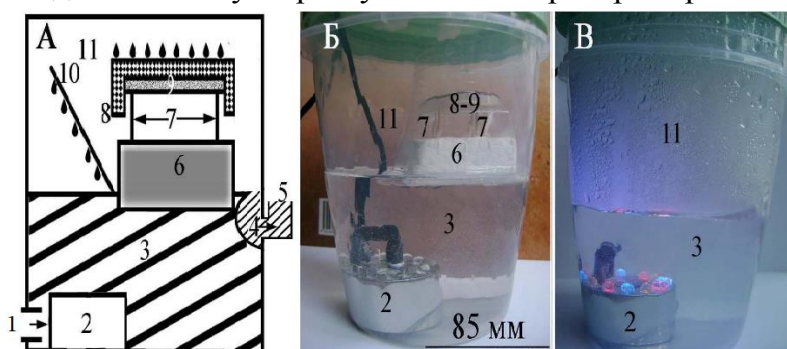


Рисунок 9 – Лабораторный стенд для нанесения на поверхность субмикронных частиц аэрозоля жидкости: (А) схема стенда для получения аэрозоля, (Б) стенд в собранном виде; (В) стенд в рабочем режиме «Сухой туман»: 1 – вход потока жидкости, 2 – ультразвуковой генератор, 3 – объем распыляемой жидкости, 4 – 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»)

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 ± 5 мВ до $+200\pm 5$ мВ. Чтобы избежать выпадения капель влаги на бактериальную пленку, чашку Петри располагали вниз поверхностью тест-объекта. Результаты дезинфекции фракциями ЭХА-воды в среде «Сухой туман» приведены на рисунке 10.

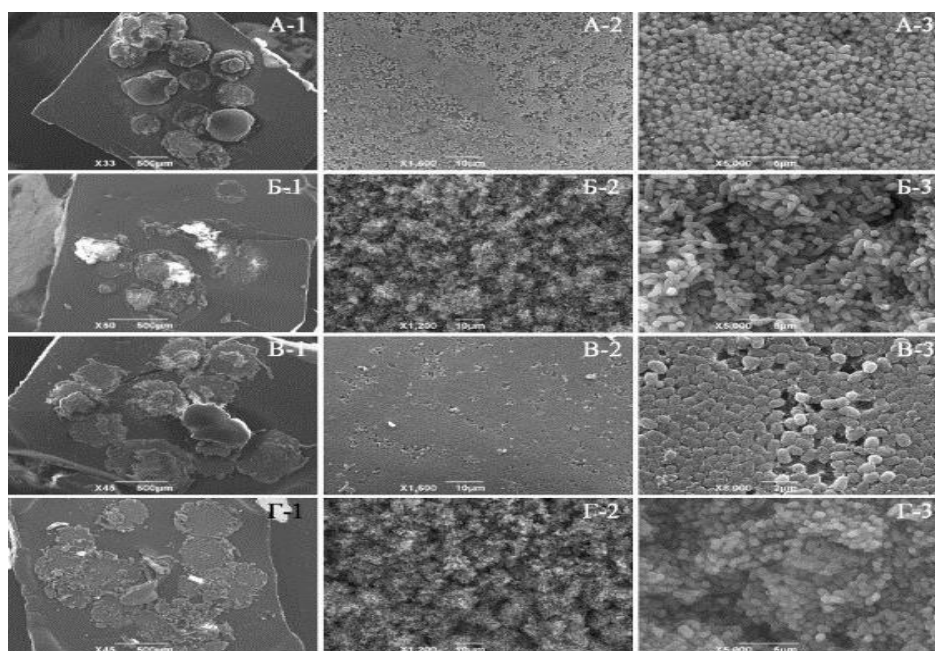


Рисунок 10 – Микрофотографии бактериальной пленки на поверхности геля, подвергнутого обработке аэрозолем «Сухой туман»: (серия А) аэрозоль воды, 40 мин; (серия Б) аэрозоль католитной фракции, 40 мин; (серия В) аэрозоль анолитной фракции, 40 мин; (серия Г) аэрозоль католитной (20 мин) и анолитной (20 мин) фракции, последовательно

Как видно из микрофотографий А-1, Б-1, В-1, Г-1 проводимая обработка удаляла основное количество клеток, но сохраняла их донный слой. Обработка аэрозолем католитной фракции вызывала более выраженное разрыхление клеточной массы, что наглядно при сравнении Б-2 и Г-2 с А-2 и В-2. При большем увеличении (Б-3 и Г-3) видна деградация межклеточного матрикса. Эти данные указывают на эффективность воздействия аэрозоля католитной фракции ЭХА-воды на бактериальную биопленку.

На следующем этапе работы использовали рабочий раствор анолита, разбавленный в 5 раз до концентрации активных веществ 100 мг/дм^3 . Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (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 приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика показателей КМАФАнМ на поверхности исходного растительного сырья и после обработки

Сырье	КМАФАнМ, КОЕ/г			
	Норма (не более)	Фактический результат		
		Исходное сырьё	Обработка водой	Обработка анолитом
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

Полученные результаты позволяют рекомендовать аэрозоль анолитной фракции ЭХА-воды к применению при предобработке сырья и материалов, а анолит – в целях обеспечения безопасности готовых продуктов на этапах их переработки и производства без снижения потребительских свойств.

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

На данном этапе работы изучали влияние анолитной и католитной фракций ЭХА-воды на свойства пшеничной муки, дрожжей и хлеба, а также определяли изменение ОВП и рН фракций во время хранения (закрытая емкость, 72 ч) с целью контроля их физико-химических свойств для последующего использования, например, не на месте получения (рисунки 11 и 12).

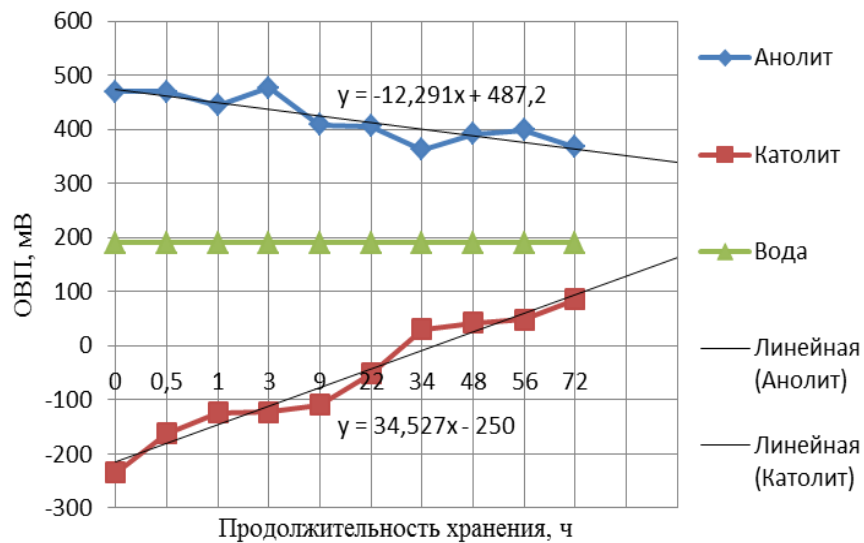


Рисунок 11 – Изменение ОВП фракций ЭХА-воды в период релаксации

Видно, как со временем происходит изменение ОВП обеих фракции (релаксация). Показатели рН фракций ЭХА-воды также изменялись во времени в направлении исходных значений. В исследовании использовали полученные фракции без их хранения.

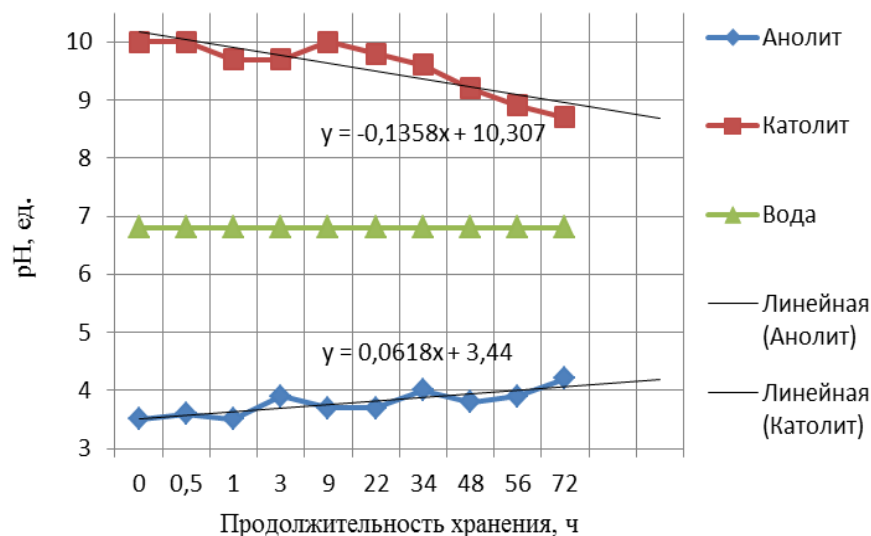


Рисунок 12 – Изменение рН фракций ЭХА-воды в период релаксации

Установлено действие ЭХА-воды на свойства муки, дрожжей и хлеба (таблицы 2-3).

Таблица 2 – Влияние ЭХА-воды на свойства муки

Образцы	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

Несмотря на то, что клейковина обоих образцов относилась к I группе качества (средняя, хорошая) их различия в значениях ИДК превышали 35 %. Видно, что образец муки № 1 содержал большее количество клейковины (более слабая) и характеризовался более высокой гидратационной способностью, чем образец № 2 (более крепкая клейковина).

Показано, что анолитная фракция ЭХА-воды снижала содержание клейковины на 2,0-3,7 %, но не влияла на ее качество. Католитная фракция ЭХА-воды усиливала связи между белками клейковины в слабой муке и ослабляла их в крепкой муке (показатель ИДК уменьшался на 11,3 % и увеличивался на 20 %, соответственно). Наблюдаемые эффекты, по-видимому, были обусловлены изменением концентрации протонов в среде; вследствие снижения зарядов радикалов происходило уменьшение числа образуемых водородных связей.

Характер изменения механических свойств (растяжимость, деформационная способность) дает основания предположить, что в основном указанные эффекты обусловлены изменением глиадиновой фракции белка. Католитная фракция повышала ВУС слабой муки на 11,7 %, сильной – на 5,3 %, активировала дрожжевые клетки (таблица 3).

Таблица 3 – Действие ЭХА-воды на подъемную силу дрожжей и физико-химические показатели качества хлеба

Образцы муки и фракции ЭХА- воды	Стандарт- ный ме- тод, мин	Ускорен- ный ме- тод, мин	Пори- стость хлеба, %	Удельный объем хлеба, см ³ /г	Н/D	Кислот- ность, град
№ 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. Анализ формы подового хлеба показал, что католитная фракция ЭХА-воды способствует укреплению теста из муки с более слабой клейковиной и расслаблению – с более крепкой.

Выявленное влияние ЭХА-воды на свойства теста, хлеба и определение различий в этом отношении между ее фракциями свидетельствует о возможности безреагентному улучшению технологических свойств муки пониженного качества.

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) были проведены очистка и обеззараживание используемой в технологическом процессе воды, подаваемой централизованными системами питьевого водоснабжения (ГОСТ Р 51232-98). С этой целью использовали многоступенчатую водоподготовку и ЭХА с помощью установки «Изумруд» (Россия). Обработка воды в катодной камере способствует осаждению ионов тяжелых металлов и приданию воде антиоксидантных свойств. Помимо высокого качества очистки, особенностью воды, подготовленной таким образом, является насыщение водородом и пониженное значение ОВП.

При лабораторно-производственных испытаниях были изучены мясные рубленые полуфабрикаты с использованием ЭХА-воды в рецептуре. Показано соответствие органолептических и физико-химических показателей качества контрольного и опытных образцов требованиям ГОСТ 25011-2017 п.6, ГОСТ 23042-2015, ГОСТ 33319-2015. Представленные на рисунке 13 данные о содержании белков, жиров и влаги свидетельствуют о незначительных различиях значений, которые находятся в пределах погрешности примененных методов определения. Таким образом, выявлено, что ЭХА-вода не влияла на сохранность макронутриентов.

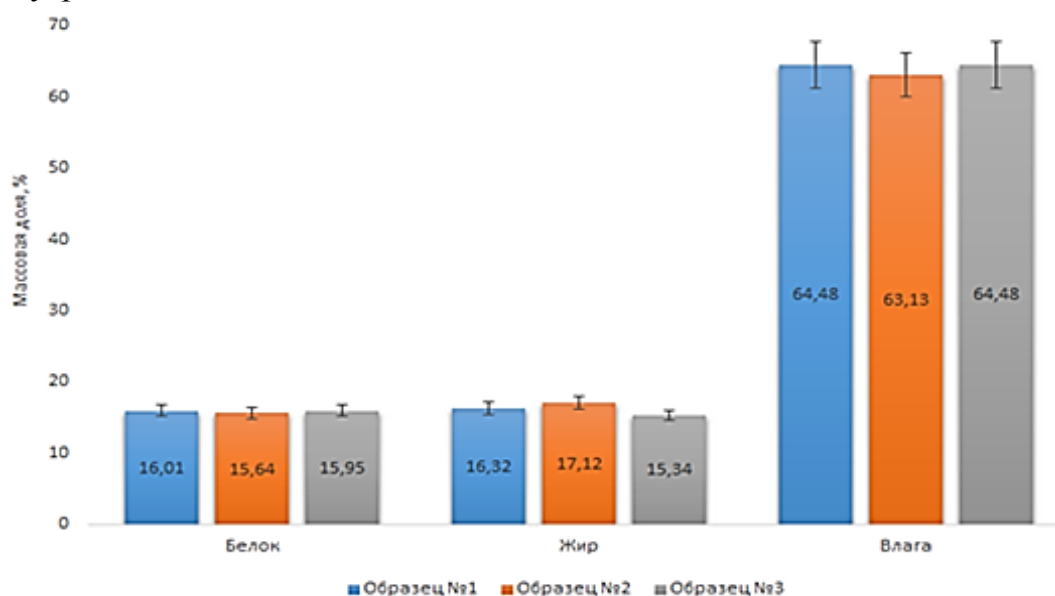


Рисунок 13 – Влияние способа обработки воды на содержание белков, жиров и влаги образцах мясных рубленых полуфабрикатов: № 1 – контрольный по традиционной рецептуре на питьевой воде с ОВП $+205 \pm 5$ мВ; № 2 – опытный на смеси 50/50 питьевой и ЭХА-воды с ОВП $+114 \pm 5$ мВ; № 3 – опытный на ЭХА-воде с ОВП $+34 \pm 5$ мВ

Проведенное микробиологическое исследование не выявило наличия БКГП (колиформы), *Listeria monocytogenes* и *Salmonella*. Результаты действия ЭХА-воды на КМАФАнМ в исследуемых мясных рубленых полуфабрикатах при хранении приведены в таблице 4. К 18-м суткам хранения контрольный образец № 1 на питьевой воде имел критическое значение контаминации ($4,9 \times 10^6$ КОЕ/см³), а образец № 3 на ЭХА-воде – только $2,6 \times 10^5$ КОЕ/см³.

Таблица 4 – Действие ЭХА-воды на КМАФАНМ (КОЕ/см³) мясных рубленых полуфабрикатов при хранении

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

Проведенные многоступенчатая очистка и электрохимическая активация воды, подаваемой централизованной системой питьевого водоснабжения, обеспечили при хранении повышение микробиологической безопасности мясных рубленых полуфабрикатов и потенциальную пролонгацию срока годности с учетом коэффициента резерва 1,3 согласно МУК 4.2.1847-04.

8 Исследование влияния ЭХА-воды на макроэлементы в водном растворе (белки, растворимые полисахариды) и на деградацию нерастворимых в воде макроэлементов (липиды, полисахариды)

Показано, что исследуемый образец монопродукта белковой природы (альбумин) и композиция протеинов в пищевых образцах (желатин, казеин) подвержены модификации в растворе фракций ЭХА-воды. Анолитная фракция оказывает фокусирующее действие, превращая белковый раствор в более однородную по молекулярному составу среду. В течение всего интервала наблюдения (9 часов) раствор белка (содержащего альбумин) в ЭХА-воде в анализируемом диапазоне концентраций (1-10 %) сохранял начальную вязкость в отличие от контрольного образца, в котором она повышалась.

Изучено изменение под действием ЭХА-воды свойств водных растворов полисахаридов растительного происхождения (растворимый крахмал, агар-агар). Показано, что католитная фракция оказывает действие (уменьшение концентрации олигосахаров), свойственное амилолитическим ферментам. На примере раствора агар-агара установлено, что ЭХА-вода позволяет снизить вязкость водного раствора полисахарида со сложной структурой без уменьшения концентрации основного вещества и/или введения добавок. Результаты обработки данных молекулярного анализа для агар-агара приведены на рисунке 14. Выявлено значительное отличие масс-спектров агар-агара, обработанного фракциями ЭХА-воды, от масс-спектра контрольного образца в воде.

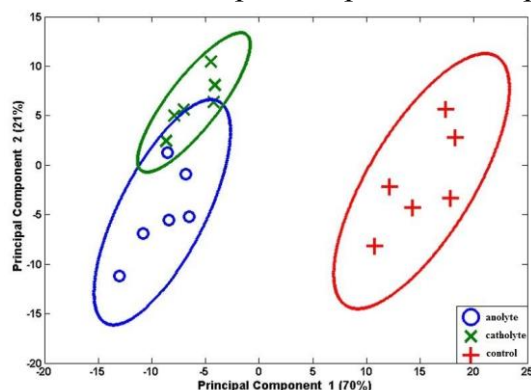


Рисунок 14 – Результаты статистического анализа (РСА) различий между масс-спектрами (ToF-SIMS) образцов, приготовленных из раствора агар-агара в воде (контроль) или фракциях ЭХА-воды, где эллипсами обозначены 95 %-ные доверительные интервалы для групп из 6 измерений в каждой, где контроль показан красным цветом, образец из раствора анолита – синим, из раствора католита – зеленым

Результаты UV-vis спектрометрии образцов надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования обработанного фракциями ЭХА-воды нерастворимого в воде крахмала, показали, что применение анолитной фракции не вызывает изменения содержания олигосахаридов. На масс-спектрах (TOF-SIMS) присутствуют отличия между контрольным образцом и парой католит-анолит, например, для пиков с отношением масса/заряд (m/z) 63, 552, 580. Между образцами с католитной и анолитной фракциями регистрируется различие в интенсивности некоторых ионов (m/z 113, 225). 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.

Кроме того, была отработана методика проведения UV спектрометрии образцов коллоидного раствора для пищевых продуктов, содержащих молочный жир (на примере масла лабораторного и промышленного производства).

Полученные данные могут служить основой для применения метода ЭХА воды как безреагентного технико-технологического приема для регулирования свойств растворов белков и гидроколлоидов полисахаридной природы с целью повышения эффективности их использования в качестве обогащающих пищевых ингредиентов. Важно отдельно отметить потенциал ЭХА водных растворов как средства интенсификации процесса экстракции и повышения качества самих экстрактов за счет отказа от «агрессивных» растворителей.

Таким образом, 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.

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 % (рН 13,47, ОВП -52 ± 5 мВ) и последующее 20-минутное обеззараживание

анолитом (рН 5,5, ОВП +900±5 мВ, концентрация оксидантов 500±50 мг/дм³).

3. Созданная модель поверхности плодоовощной продукции на основе 10 %-ного агарового геля на водном растворе с питательным субстратом (агар (100 мг/см³), NaCl (0,29 мг/см³), KCl (7,45 мг/см³), экстракт дрожжей (10 мг/см³), пептон (33,3 мг/см³) и электролиты K⁺ (100 мМ/дм³), Na⁺ (5 мМ/дм³)) и бинарная система микроорганизмов (МКБ и *E. coli*) позволили оценить био пленкообразование 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 (рН 10, ОВП -760±5 мВ) и анолитной (рН 5,5, ОВП +800±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/см³, а образец на ЭХА-воде (ОВП +34±5 мВ) – $2,6 \times 10^5$ КОЕ/см³, что более чем на порядок ниже допустимых ТР ТС 021/2011 значений КМАФАнМ ($5,0 \times 10^6$ КОЕ/см³).

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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, индексируемые в базах цитирования Web of Science или Scopus

1. Pogorelov, A. G. The effect of an electrochemically activated water solution on plant polysaccharides: phenomenology and spectrometry / A. G. Pogorelov, L. G. Ipatova, **A. I. Panait**, M. A. Pogorelova, A. A. Gulin, V. N. Pogorelova // Biophysics. – 2023. – V.68(5). – P. 705-711. DOI: 10.1134/S0006350923050226
2. Pogorelov, A. G. Impact of a redox balance on polysaccharides in an aqueous solution / A. G. Pogorelov, A. A. Gulin, V. N. Pogorelova, **A. I. Panait**, A.A. Stankevich,

M. A. Pogorelova // Physics of wave phenomena. – 2022. – V.30(3). – P. 209-216. DOI: 10.3103/S1541308X22030086

3. 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. – V.486(1). – P. 206-208. DOI: 10.1134/S1607672919030098

4. Pogorelov, A. G. Destruction of a bacterial biofilm with an electrochemically activated solution / A. G. Pogorelov, A. L. Kuznetsov, V. N. Pogorelova, O. A. Suvorov, **A. I. Panait**, M. A. Pogorelova // Biophysics. – 2019. – V.64(4). – P. 583-587. DOI: 10.1134/S000635091904016X

5. Pogorelova, M. A. Inhibiting effect of electrochemically activated aqueous solutions on growth biofilms / M. A. Pogorelova, O. A. Suvorov, S. Y. Volozhaninova, I. V. Kozlov, **A. I. Panait**, A. G. Pogorelov // International journal of pharmaceutical research and allied sciences. – 2019. – V.8(2). – P.150–156. WOS: 000476734400004.

6. Pogorelov, A. G. The use of ToF-SIMS for analysis of bioorganic samples / A. G. Pogorelov, A. A. Gulin, V. N. Pogorelova, **A. I. Panait**, M. A. Pogorelova, V. A. Nadochenko // Biophysics. – 2018. – V.63(2). – P. 215-221. DOI: 10.1134/S0006350918020197

7. **Panait, A. I.** The role of OsO₄ fixation in the contrast formation of cellular membrane structure / A. I. Panait, A. G. Pogorelov // Journal of bioenergetics and biomembranes. – 2018. – P. 568–569. DOI: 10.1007/s10863-018-9775-7

8. Pogorelov, A. G. Disintegration of bacterial film by electrochemically activated water solution / A. G. Pogorelov, O. A. Suvorov, A. L. Kuznetsov, **A. I. Panait**, M. A. Pogorelova, L. G. Ipatova // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2018. – V.165(4). – P.493–496. DOI: 10.1007/s10517-018-4202-y

Статьи в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов ВАК при Минобрнауки России

9. Погорелов, А. Г. Влияние электрохимически активированной воды на показатели качества теста и изделий из пшеничной муки / А. Г. Погорелов, **А. И. Панаит**, А. Л. Кузнецов, Е. Н. Молчанова, О. А. Суворов, Л. Г. Ипатова // Техника и технология пищевых производств. – 2022. – Т.52(1). – С. 156–167.

10. Попова, А. И. Использование электрохимически активированной воды для повышения биологической безопасности в прикладной биотехнологии / А. И. Попова, **А. И. Панаит**, О. А. Суворов, А. Л. Кузнецов, Л. Г. Ипатова, А. Г. Погорелов // Вестник Южно-Уральского Государственного Университета. Серия «Пищевые и Биотехнологии». – 2021. – Т.9(3). – С. 5–13.

11. Суворов, О. А. Биологические эффекты и основные механизмы влияния электролизованной восстановленной воды на человека / О. А. Суворов, **А. И. Панаит**, С. Ю. Воложанинова, А. Л. Кузнецов, Л. Г. Ипатова, А. Г. Погорелов // Вестник Южно-Уральского Государственного Университета. Серия «Пищевые и Биотехнологии». – 2020. – Т.8(4). – С. 104–110.

12. 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.

Монографии

13. 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. – М.: Франтера, 2022. – 208 с.

14. Погорелов, А. Г. Прогрессивная электрохимия и функциональная микроскопия биоструктур в агропищевых и биотехнологиях: монография / А. Г. Погорелов, В. М. Бахир, Л. Г. Ипатова, М. А. Погорелова, М. А. Левачева, О. А. Суворов, А. Л. Кузнецов, И. В. Козлов, **А. И. Панаит**. – М.: Франтера, 2018. – 270 с.

Патенты

15. Пат. №213020 Российская Федерация. Установка для подготовки водных растворов / А. Г. Погорелов, **А. И. Панаит**, А. Л. Кузнецов, О. А. Суворов, Л. Г. Ипатова; ИТЭБ РАН. – №2021133497; заявл. 18.11.2021; опубл. 18.08.2022.

16. Пат. №198829 Российская Федерация. Устройство для обработки плодоовощной продукции жидкостным капельным туманом, произведенным из дезинфицирующих средств / М. А. Погорелова, А. Л. Кузнецов, **А. И. Панаит**, О. А. Суворов, И. В. Козлов, А. Г. Погорелов; ИТЭБ РАН. – №2020103420; заявл. 28.01.2020; опубл. 29.07.2020.

Статьи в сборниках научных трудов и материалах конференций

17. Погорелов, А. Г. Устойчивость коллоидов на основе электрохимически активированного водного раствора / А. Г. Погорелов, Л. Г. Ипатова, **А. И. Панаит**, А. А. Станкевич, А. А. Погорелова, О. А. Суворов // Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2023. – 2023. – С. 26.

18. Погорелов, А. Г. Неферментативный гидролиз полисахаридов при измененном окислительно-восстановительном балансе цитоплазмы / А. Г. Погорелов, **А. И. Панаит**, А. А. Станкевич, В. Н. Погорелова // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация. – 2023. – С. 725-731.

19. Погорелов, А. Г. Спектрометрия раствора сывороточного альбумина в электрохимически активированной воде / А. Г. Погорелов, Л. Г. Ипатова, А. Л. Кузнецов, В. Н. Погорелова, **А. И. Панаит**, О. А. Суворов // Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2022. – 2022. – С. 158.

20. **Панаит, А. И.** Экспериментальная модель формирования и дезинтеграции бактериальной пленки / А. И. Панаит // В книге: Теоретическая и экспериментальная биофизика. – 2022. – С. 73-75.

21. Панова, Т. Физико-химические свойства и биологическая безопасность кулинарной продукции из муки и мяса: систематический обзор / Т. Панова, **А. Панаит**, Н. Суханова, М. Попова, О. Суворов, А. Погорелов // Цифровое общество: образование, наука, карьера. – 2021. – С. 542-553.

22. Погорелов, А. Г. Спектрометрия растительных полисахаридов в растворе электрохимически активированной воды / А. Г. Погорелов, Л. Г. Ипатова, **А. И. Панаит**, М. А. Погорелова, А. А. Гулин, В. Н. Погорелова // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2021. – Т.6(3). – С. 511-515.

23. Погорелов, А. Г. Разрушение бактериальной пленки посредством католита. / А. Г. Погорелов, А. Л. Кузнецов, О. А. Суворов, Л. Г. Ипатова, М. А. Погорелова, **А. И. Панаит** // Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность. – 2019. – С. 1289–1292.

24. Погорелова, М. А. Разрушение биопленки посредством электрохимически активированной воды / М. А. Погорелова, **А. И. Панаит**, О. А. Суворов, А. Л. Кузнецов // Биология – наука XXI века. – 2018. – С. 398–399.

25. Кузнецов, А. Л. Экспериментальное моделирование биопленок для морфологического анализа / А. Л. Кузнецов, М. А. Левачева, **А. И. Панаит**, О. А. Суворов // Биология – наука XXI века. – 2017. – С. 287.

26. Погорелова, М. А. Исследование и анализ методов культивирования биопленок: планшеты и устройства формирования биопленки / М. А. Погорелова, А.

Л. Кузнецов, О. А. Суворов, С. Ю. Воложанинова, **А. И. Панаит** // Современные исследования – 2017. – 2017. – С. 226–236.

27. Погорелова, М. А. Исследование и анализ методов культивирования биопленок: реакторные системы / М. А. Погорелова, А. Л. Кузнецов, О. А. Суворов, С. Ю. Воложанинова, **А. И. Панаит** // Инновационное развитие современной науки: проблемы и перспективы. – 2017. – С. 56–63.

28. Погорелов, А. Г. Влияние электрохимически активируемого раствора на регенерацию тонкой кишки: прогноз и эксперимент / А. Г. Погорелов, В. М. Бахир, Л. Г. Ипатова, О. А. Суворов, **А. И. Панаит**, М. А. Погорелова // Вопросы питания. – 2016. – Т.85(2), Прил. – С. 29.

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АПК – агропромышленный комплекс; **ОВП** – окислительно-восстановительный потенциал; **ПВХ** – поливинилхлорид; **ЭХА-вода** – электрохимически активированная вода; **ЭХАР** – электрохимически активированный раствор, **РСА** (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).

РЕЗЮМЕ

На основе анализа литературы предложены экспериментальные модели и методы исследования пищевых сред, позволяющие обеспечивать микробиологическую безопасность производства продуктов питания и их качество с применением электрохимически активированных растворов. Для оценки степени эффективности разработанных решений использовали специальные методы (сканирующая электронная микроскопия и времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов). Разработан циркуляционный реактор для моделирования условий образования биопленки и эффективный метод ее дезинтеграции. Разработано устройство для обработки плодоовощной продукции в аэрозоле субмикронных частиц фракций ЭХА-воды («Сухой туман»). Показана возможность использования фракций ЭХА-воды для безреагентной коррекции технологической свойств муки пониженного качества и обеспечения безопасности мясных рубленых полуфабрикатов. Установлено, что анолитная фракция превращает белковый раствор в более однородную по молекулярному составу среду, а католитная фракция оказывает амилолитическое действие, свойственное ферментам.

SUMMARY

Based on the literature review, experimental models and methods of food media research were proposed to ensure microbiological safety of food production and its quality with the use of electrochemically activated solutions. Special methods (scanning electron microscopy and time-of-flight secondary ion mass spectrometry) were used to evaluate the efficiency of the developed solutions. A circulating reactor for modeling conditions of biofilm formation has been designed together with an effective method of biofilm disintegration. A device for processing fruit and vegetable products in the aerosol of submicron particles of ECA-water fractions ("Dry Fog") has been developed. Demonstrated the capabilities of ECA-water fractions implementation for reagent-free correction technological conditions of poor-quality flour and ensuring the safety of meat semi-finished product. The anolytic fraction was found to transform the protein solution into a more homogeneous medium in terms of molecular composition, while the catholytic fraction exerts an amylolytic action characteristic of enzymes.

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