

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», профессора кафедры гигиены питания и токсикологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им.

И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Ольги Викторовны Багрянцевой на диссертацию Артема Игоревича Панаит на тему: «Разработка метода обеспечения микробиологической безопасности производства продуктов питания и их качества с применением электрохимически активированных растворов», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ»

### Актуальность темы диссертации

Известно, что микроорганизмы образуют (при определенных условиях) биопленки, покрывающие поверхность оборудования, используемого в пищевой промышленности, а также, фруктов, овощей, в том числе листовых овощей. Концентрация клеток патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в составе биопленок достигает  $10^6$ - $10^9$  КОЕ/см<sup>2</sup>. Эта форма жизни микроорганизмов способствует их большей устойчивости к различным химическим и физическим факторам окружающей среды.

Отмечено, что патогенные и условно-патогенные микроорганизмы (*Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aureoginosa* и энтеропатогенные *Echerichia coli* O157:H7 и др.), являющиеся загрязнителями пищевой продукции, в составе биопленок обладают более выраженным патогенным потенциалом, устойчивостью к антибиотикам, другим химическим и физическим факторам. Таким образом, биопленки, покрывающие оборудование на пищевых производствах и упаковочные материалы, поверхность фруктов и овощей, представляют несомненный риск здоровью человека [Carrascosa, C. et al. *Microbial Biofilms in the Food Industry—A Comprehensive Review. Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 2014. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042014>; Perchikov, R. et al. *Microbial Biofilms: Features of Formation and Potential for Use in Bioelectrochemical Devices. Biosensors* 2024, 14, 302. <https://doi.org/10.3390/bios14060302>].

Кроме того, рост биопленок на поверхностях, контактирующих с пищевыми продуктами, могут привести к серьезным проблемам для отрасли, таким, как снижение эффективности теплообмена, уменьшение диаметра труб по которым переносятся жидкие продукты, повышенное внутреннее давление в трубах, поверхностная коррозия оборудования и необходимость дополнительных затрат для его обработки [Jimenez-Pichardo et al. *Innovative Control of Biofilms on Stainless Steel Surfaces Using Electrolyzed Water in the Dairy Industry. Foods* 2021, 10, 103. <https://doi.org/10.3390/foods10010103>].

С целью удаления биопленок с поверхностей оборудования на пищевых производствах в настоящее время применяются технологические вспомогательные средства (ТВС) – антимикробные вещества и детергенты. Перечень ТВС разрешенных для применения в пищевой промышленности России и Евразийского экономического союза приведен в Техническом регламенте таможенного союза «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» (ТР ТС 029/2012. В пищевой промышленности очистка трубопроводов и производственного оборудования на пищевых производствах может проводиться путем последовательного

использования гидроксида натрия (NaOH), азотной кислоты (HNO<sub>3</sub>) и дезинфицирующих средств.

Наиболее часто используемыми ТВС в настоящее время являются хлорсодержащие соединения. Вместе с тем, их применение не всегда возможно. Например, избыточное содержание ионов хлора в составе продукции при переработке молока может привести к неблагоприятным последствиям для здоровья человека. Имеется целый ряд сообщений, свидетельствующих о возрастающей устойчивости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов к ТВС, в том числе хлорсодержащим. Кроме того, применение хлорсодержащих ТВС может негативным образом влиять на органолептические свойства пищевой продукции [Wessels, K.; Rip, D.; Gouws, P. *Salmonella in Chicken Meat: Consumption, Outbreaks, Characteristics, Current Control Methods and the Potential of Bacteriophage Use. Foods* 2021, 10, 1742. <https://doi.org/10.3390/foods10081742>]. Важнейшей проблемой производства молочной продукции является деколонизация поверхностей труб (стыковочных узлов, участков в которых могут возникать застойные явления), по которым передается пищевой сырьё [Jimenez-Pichardo et al. *Innovative Control of Biofilms on Stainless Steel Surfaces Using Electrolyzed Water in the Dairy Industry. Foods* 2021, 10, 103. <https://doi.org/10.3390/foods10010103>].

С целью предупреждения микробиологической порчи некоторых видов фруктов и овощей (свежие цитрусовые, дыни, ананасы, персики, груши, яблоки) их поверхность обрабатывают пищевыми добавками – глазирователями. В случае невозможности использования пищевых добавок, плодоовощная продукция упаковывается в вакуумную упаковку или упаковку, содержащую инертные газы. Для обработки непереработанной пищевой продукции и оборудования используется ультрафиолетовое излучение. В некоторых странах допускается обработка оборудования и пищевой продукции ионизирующим облучением. Все эти способы имеют свои преимущества и недостатки.

Поиск альтернативных путей деконтаминации оборудования в молочной промышленности показал эффективность применения ионизированной воды. Такую воду получают в результате электролитического процесса, который генерирует образование таких веществ с высокой антимикробной активностью, как хлорноватистая кислота (HClO), ионы гипохлорита (ClO<sup>-</sup>), диоксид хлора (ClO<sub>2</sub>) и озон (O<sub>3</sub>). В процессе электролиза получали два типа воды: кислотную электролизованную воду (анолит) и щелочную электролизованную воду (католит). [Jimenez-Pichardo et al. *Innovative Control of Biofilms on Stainless Steel Surfaces Using Electrolyzed Water in the Dairy Industry. Foods* 2021, 10, 103. <https://doi.org/10.3390/foods10010103>].

Однако эффективность этого способа технологической обработки оборудования пищевых производств, пищевой продукции изучена не в достаточной мере. Является важным также анализ влияния активных форм электрохимически активированных растворов на органолептические свойства и пищевую ценность отдельных видов пищевой продукции, что обуславливает актуальность поставленной диссертантом цели исследований: «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».

### **Достоверность и новизна полученных результатов**

Для достижения поставленных цели и задач А.И. Панайт провел следующие исследования:

Установлены наиболее оптимальные параметры культивирования штаммов *E.coli* М и *Bifidobacterium bifidum* 1 для получения биопленки толщиной ~40 нм. Разработан многофункциональный циркуляционный реактор для проведения модельных исследований механизмов формирования и дезинтеграции биопленки при воздействии субмикронным аэрозолем электрохимически активированных растворов (ЭХАР) воды. В результате диссертантом были установлены условия деградации биопленок в трубопроводах воды и молока при использовании электрохимически активированных растворов водного хлорида натрия (ЭХАР). При помощи методов ультрамикроскопического исследования (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) диссертантом показано, что промывание католитом в течение 180 мин с содержанием NaOH 10 % (рН 13,47, окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) -  $52 \pm 5$  мВ) и последующее 20-минутное обеззараживание анолитом (рН 5,5, ОВП  $+900 \pm 5$  мВ, концентрация оксидантов  $500 \pm 50$  мг/дм<sup>3</sup>) приводит к дезинтеграции биопленок и значимому снижению концентрации микробных клеток на поверхности трубопровода.

Определены условия образования биопленок на поверхности плодоовощной продукции, выращиваемой в теплицах. Исследованы механизмы дезинтеграции биопленок на поверхности различных видов плодоовощной продукции при обработке их аэрозолем субмикронных частиц фракций ЭХА-воды («Сухой туман») произведенным из католитной (рН 10, ОВП  $-760 \pm 5$  мВ) и анолитной (рН 5,5, ОВП  $+800 \pm 5$  мВ) фракций воды. С целью продления сроков годности и снижения обсемененности плодоовощной продукции микроорганизмами обоснованы режимы ее обработки «Сухим туманом», которые предусматривают ее последовательную обработку аэрозолями католита и анолита в течение 20 мин.

Проведен анализ влияния ЭХА-воды на технологические свойства муки. Показано, что анолитная фракция способствует снижению процентного содержания клейковины в муке на 2,0–3,7 %. Католитная фракция, наоборот, улучшает ее свойства. После обработки католитной фракцией ЭХА-воды у муки со слабой клейковиной показатель растяжимости снижался на 11,3 %, а у муки с более крепкой клейковиной - повышался на 20 %. Кроме того, у муки со слабой и сильной клейковиной после обработки повышалась влагоудерживающая способность (на 11,7 % и 5,3 % соответственно). Эти эффекты, по-видимому, объясняются выявленными диссертантом особенностями влияния ЭХА-воды на белки и крахмал муки.

Обработка ЭХА-воды способствовало снижению уровня загрязненности мясных рубленых полуфабрикатов условно-патогенными микроорганизмами. При этом физико-химические и органолептические свойства мясных продуктов не изменялись.

Полученные результаты хорошо иллюстрированы рисунками и таблицами.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

В результате проведенных исследований А.И. Панайт разработан комплексный подход к проведению анализа степени деструкции биопленок на поверхности

контактирующих с пищевой продукцией материалов и плодоовощной продукции. Автором получен патент РФ №213020 на установку для подготовки водных растворов, а также патент №198829 на устройство для обработки плодоовощной продукции жидкостным капельным туманом (среда «Сухой туман») ЭХА-воды. Разработаны «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» (М., 2019; Утверждены Министерством сельского хозяйства и продовольствия Московской области) и «Технические условия по применению электрически активированных растворов на предприятиях общественного питания, пищевой и биотехнологической промышленности» (ТИ 56.29.19-006-02068634-2020).

Анализ влияния ЭХА-воды на физико-химические, органолептические свойства и состав муки позволил разработать режимы ее обработки, способствующие улучшению потребительских свойств хлебобулочных изделий при использовании муки низких сортов.

На базе АО «Черкизовский мясоперерабатывающий завод» проведены лабораторно-производственные испытания метода обработки мясных полуфабрикатов ЭХА-воды для снижения уровня их контаминации патогенными и условно-патогенными микроорганизмами.

На предприятиях общественного питания ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (НИУ)», ООО «Оазис МСК» апробированы режимы обработки напитков и готовых к употреблению пищевых продуктов с использованием ЭХА-воды, позволяющие снизить риски здоровью потребителей, связанные с загрязнением пищевой продукции патогенными и условно-патогенными микроорганизмами без снижения их качества.

Результаты работы внедрены в учебный процесс Института пищевых систем и здоровьесберегающих технологий и используются в образовательном процессе подготовки 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»).

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация А.И. Панаит построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, раздела собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы включающего 159 источников, 4 приложений. Схема диссертации построена логично и обеспечивает решение всех поставленных перед автором задач. Объем проведенных исследований достаточен для диссертаций, представляемых на соискание ученой степени кандидата наук.

Для выполнения поставленных задач автором использован ряд современных технологических, спектрометрических, микробиологических методов исследования, полностью соответствующих поставленным целям и задачам.

Основные положения диссертационной работы опубликованы в 28 работах, в том числе 8 статей в журналах, индексируемых в базах Web of Science Core Collection, Scopus; 4 статьи в рецензируемых журналах входящих в перечень научных изданий,

рекомендуемых ВАК; 2 монографии; 2 патента; 12 публикаций в сборниках научных трудов.

Материалы диссертации обсуждены на 9 всероссийских и международных научно-практических конференциях

### **Замечания**

В результате рассмотрения диссертации возникли следующие замечания и предложения:

1. На наш взгляд, название работы носит выраженный прикладной характер. Хотелось бы, чтобы автор отразил в нем результаты, полученные в ходе выполнения теоретических задач.

2. В разделе «Степень достоверности и апробация результатов» введения указано, что «Результаты работы получены с использованием современного поверенного оборудования с последующей компьютерной статистической обработкой данных». Вместе с тем в разделе «Материалы и методы», в тексте и таблицах диссертации, в автореферате не приведены сведения об объеме проводимых исследования (количестве исследованных образцов и повторностей экспериментов). Отсутствует описание методов и критериев в соответствии с которыми проводилась статистическая обработка результатов.

3. Положения раздела «научная новизна» носят декларативный характер и не вполне отражают новизну полученных диссертантом результатов. Кроме того, разработка установки для моделирования условий очистки трубопроводов от биопленок не относится к научной новизне.

4. Требуется разъяснение использование в качестве тест-моделей для образования биопленок штаммов *E.coli* М и *Bifidobacterium bifidum* 1, входящих в состав лекарственного препарата «Бификол».

Штамм *E.coli* М в этом препарате является представителем симбионтной микрофлоры кишечника и его свойства отличаются от свойств, характеризующих энтеропатогенные штаммы эшерихий. Кроме того, в молоке регламентируются безопасные здоровью человека уровни содержания сальмонелл и золотистого стафилококка.

Чаще всего выделяемыми из молока штаммами и используемыми в качестве заквасочных культур микроорганизмами являются бактерии рода *Lactobacillus* и молочнокислых стрептококков, а не *Bifidobacterium bifidum*.

5. Насколько достоверным являются результаты, приведенные в таблице «Сравнительная характеристика показателей КМАФАнМ на поверхности исходного растительного сырья и после обработки» (графа «обработка анолитом» - «не обнаружено»)?

6. Список цитируемой литературы содержит, в основном, ссылки на источники, опубликованные до 2019 года.

### **Заключение**

Диссертационная работа Артема Ивановича Панаит на тему: «Разработка метода обеспечения микробиологической безопасности производства продуктов питания и их качества с применением электрохимически активированных растворов», является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение важнейших

задач технологии обеспечения безопасности пищевой продукции в условиях массового производства. По научной новизне, объему проведенных исследований, практической значимости диссертационная работа А.И.Панаит соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г №842 (в действующей редакции) ВАК РФ о порядке присуждения ученых степеней и научных званий, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»;

профессор кафедры гигиены питания и токсикологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (д.б.н., профессор Республики Казахстан);

специальность - 03.00.07- микробиология.

Ольга Викторовна Багрянцева

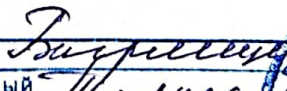
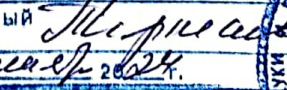
Адрес: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 109240, Устьинский проезд, д. 2/14, Москва, Российская Федерация

Телефоны: +7 (495) 698-54-05; +7(916)721-76-19;

e-mail: bagryantseva@ion.ru

Согласна на обработку персональных данных

Дата: 9 сентября 2024 г

Подпись руки   
ЗАВЕРЯЮ: ученый секретарь   
" 09 сентября 2024 г.

