ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-86-97
УДК 632.935: 66.088

Оригинальная статья
http://fptt.ru

Биоцидная эффективность нетермальной аргоновой плазмы атмосферного давления

Д. И. Петрухина*, И. В. Полякова, С. А. Горбатов

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

Дата поступления в редакцию: 14.12.2020 *Дата принятия в печать: 28.01.2021*

**e-mail: daria.petrukhina@outlook.com*
© Д. И. Петрухина, И. В. Полякова, С. А. Горбатов, 2021

Аннотация.
Введение. В статье представлены экспериментальные данные, позволяющие дать оценку эффективности влияния воздействия нетермальной аргоновой плазмы на рост молочнокислых бактерий, выделенные с пищевых продуктов (очищенных грецких орехов).
Объекты и методы исследования. Источником нетермальной аргоновой плазмы атмосферного давления служил генератор плазмы с электродным СВЧ-разрядником коаксиальной конфигурации. Чашки Петри с агаром Эндо, засеянные перед экспериментом суточной культурой лактобацилл сплошным газоном, помещали под поток плазмы на расстоянии 45 мм. Биоцидный эффект плазменной обработки оценивали по диаметру зон ингибирования роста лактобацилл на чашках на первые и вторые сутки после воздействия в сравнении с контрольными культурами, где наблюдали сплошной рост.
Результаты и их обсуждение. Установлена прямая зависимость эффективности плазменной обработки от длительности экспозиции. После обработки поверхности засеянных чашек нетермальной плазмой в течение 5 мин диаметр зоны ингибирования роста лактобацилл был равен диаметру стеклянной чашки Петри (80 мм) и превышал диаметр разрядника генератора плазмы (36 мм). Температура на поверхности питательной среды во время плазменной обработки была в пределах оптимальной температуры роста лактобацилл 37,3 ± 0,6 °C, что исключает термическое воздействие.
Выводы. Обработка нетермальной аргоновой плазмой на расстоянии 45 мм ингибирует роста грамположительных бактерий (*Lactobacillus*, выделенных из грецких орехов) на плотных средах (чашках с агаром).

Ключевые слова. *Lactobacillus*, орехи, холодная плазма, обеззараживание, инактивация, СВЧ, плазмотрон

Финансирование. Статья подготовлена в рамках госзадания № FGNE-2019-0002 ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии» (ВНИИРАЭ).

Для цитирования: Петрухина, Д. И. Биоцидная эффективность нетермальной аргоновой плазмы атмосферного давления / Д. И. Петрухина, И. В. Полякова, С. А. Горбатов // Техника и технология пищевых производств. – 2021. – Т. 51, № 1. – С. 86–97. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-86-97.

Original article Available online at http://fptt.ru/eng

Biocide Effect of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma

Daria I. Petrukhina*, Irina V. Polyakova, Sergei A. Gorbatov

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia

Received: December 14, 2020 *Accepted: January 28, 2021*

**e-mail: daria.petrukhina@outlook.com*
© D.I. Petrukhina, I.V. Polyakova, S.A. Gorbatov, 2021

Abstract.
Introduction. New methods of sterilization with non-thermal atmospheric pressure plasma remain an extremely relevant field of food science. The present research estimated the effect of non-thermal argon plasma on lactic acid bacteria obtained from walnuts.
Study objects and method. The non-thermal argon plasma was generated by electrode discharge induced by a coaxial microwave plasmatron at atmospheric pressure. The discharge was generated in a special electrode construction. Its stability was achieved via low gas flow through the discharge gap. Argon consumption was 10 L/min. The study involved *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus mali* in their natural association and vegetative form. Endo's medium (Endo agar) was inoculated with lactobacilli. 100 µl

of the suspension were added into a Petri dish with nutrient medium and carefully rubbed with a spreader. The plates with Endo agar inoculated with lactobacilli were placed under plasma radiation at a distance of 45 mm. The biocidal effect of plasma radiation was estimated by the diameter of the affected areas. After the plasma treatment, the Petri dishes were incubated in an incubator for 24–48 h at 37°C, after which the diameters of the affected areas were measured again.
Results and discussion. The paper introduces experimental data on the effect of argon plasma on lactobacilli isolated from food. After treating the surface of inoculated Petri dishes with non-thermal plasma for five minutes, the diameter of the inhibition zone reached the diameter of a Petri dish (80 mm) and exceeded the diameter of the spark gap of the plasma generator (36 mm). The temperature on the surface of the nutrient medium during plasma treatment was within the optimal temperature for lactobacillus growth, i.e. 37.3 ± 0.6°C, which excluded thermal effects. Only a few colonies survived a five-minute treatment. After one-minute treatment, the number of survived colony-forming units was considerably higher.
Conclusion. Non-thermal argon plasma treatment proved effective in inhibiting the growth of gram-positive bacteria (*Lactobacillus* isolated from walnuts) on solid surfaces (agar plates). After five minutes of plasma treatment, the inactivated area (80 mm) exceeded the anode electrode cross section (36 mm) of the plasma generator.

Keywords. *Lactobacillus*, walnuts, cold plasma, decontamination, inactivation, microwave, plasmatron

Funding. The article was prepared as a part of the state assignment no. FGNE-2019-0002 for Russian Institute of Radiology and Agroecology (RIRAE).

For citation: Petrukhina DI, Polyakova IV, Gorbatov SA. Biocide Effect of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):86–97. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-86-97.

Введение

Инактивацию микроорганизмов при помощи газоразрядной нетермальной плазмы можно назвать новым методом достижения стерильности в сравнении с использованием нагревания, химических стерилизующих средств или фильтрования [1]. Бактерицидное действие нетермальной плазмы атмосферного давления на микроорганизмы вызвано радикальными продуктами (активными частицами), которые образуются в процессе плазмохимических реакций при генерации излучения плазмы [2]. Нетермальная плазма является слабоионизованной и сильно неравновесной. Она может создаваться в разных плазмообразующих газах, например, в атмосферном воздухе либо в инертных газах (аргон и гелий). В литературных источниках эта плазма называется «холодной» либо «низкотемпературной». В представленной работе нами применяется термин нетермальная плазма (non-thermal plasma), чтобы подчеркнуть, что речь идет о температурах, близких к комнатным, поскольку низкотемпературная плазма (low temperature plasma) может иметь температуру электронов и ионов $\leq 2\times10^4$ K. Данный момент важен для применения нетермальной плазмы в пищевой промышленности, т. к. термические процессы могут влиять на органолептические свойства и пищевую ценность продуктов. В нетермальной плазме температура «тяжелой компоненты» (ионы, нейтральные частицы) не превышает нескольких сотен градусов Цельсия либо близка к комнатной.

Важным представляется обеспечение микробиологической безопасности многокомпонентных пищевых продуктов, поскольку в их состав входят рецептурные компоненты, на поверхности которых обнаруживаются различные группы микроорганизмов. Такие сырьевые компоненты, как орехи, в период роста, сбора урожая, сушки и хранения поражают многочисленные бактерии, в том числе лактобациллы (*Lactobacillus* spp.), входящие в группу молочнокислых микроорганизмов [3, 4]. Бактерии рода *Lactobacillus* представляют особый интерес, т. к. являются частью нормальной микробиоты человека и животных. Однако они способны вызывать инфекционные заболевания, особенно у людей с пониженным иммунитетом [5]. Также эти бактерии устойчивы к действию ванкомицина и других антибиотиков.

Лактобациллы являются хорошо изученным объектом научных исследований и активно применяются в пищевой промышленности. Они используются для производства кисломолочных продуктов, а также необходимы при создании пробиотиков, которые могут применяться в качестве лекарственных средств и биологически активных добавок. Однако бактерии рода *Lactobacillus* зачастую становятся причиной порчи продуктов питания как на этапе производства, так и на этапе хранения [6].

Показатели безопасности для многокомпонентных пищевых продуктов попадают под действие технических регламентов, действующих на территории ЕАЭС. В соответствии с ТР ТС 021/2011 количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) не должно превышать 1×10^3 КОЕ/г, а присутствие бактерий группы кишечной палочки не допускается, в то время как присутствие бактерий рода *Lactobacillus* может стать причиной ложноположительной пробы на среде Кесслера [3].

Основное количество фруктов и орехов произрастает и производится в развивающихся

странах; иногда с нарушением санитарно-гигиенических норм. Поэтому они подвержены высокому уровню естественного загрязнения патогенными бактериями и грибами, а также микроорганизмами, вызывающими порчу. Некоторые производители сухофруктов и орехов подвергают их сушке на открытом воздухе, что способствует их контаминации почвенными бактериями и плесневыми грибами. В связи с тем, что орехи и сухофрукты могут быть использованы в пищу без предварительной термической обработки, первостепенное значение, особенно для людей с иммунодефицитами, имеет обеспечение микробиологической безопасности данного вида пищевой продукции.

Целью исследования была оценка потенциальной возможности разработанного генератора нетермальной плазмы атмосферного давления (плазматрона) для дезинфекции поверхностей пищевых продуктов, семенного материала и кормов на примере инактивации палочковидных бактерий из микрофлоры пищевых продуктов (грецких орехов).

Объекты и методы исследования

В данной работе в качестве источника нетермальной плазмы был использован электродный СВЧ-разрядник коаксиальной конфигурации. Основу его составляет отрезок жесткой коаксиальной линии резонансной длины с питанием от прямоугольного волновода, нагруженного на согласованную нагрузку. Центральный проводник коаксиала проходит сквозь волновод посередине его широких стенок перпендикулярно к ним. Один из выступающих концов коаксиала замкнут накоротко цанговым подвижным сочленением. Зона контакта вынесена в область минимума поверхностных токов. На втором конце коаксиала обеспечены условия холостого хода. По оси центрального проводника с разомкнутого конца выполнены радиальные пропилы резонансной длины. Подача рабочего газа (аргона) в зону разряда осуществляется по центральному проводнику, выполненному в виде полой трубки, либо непосредственно в зазор между внутренним и внешним проводником коаксиала. В качестве источника СВЧ-энергии использовался недорогой магнетронный генератор диапазона 2,45 ГГц и мощностью 200 Вт.

В качестве продукции были выбраны широко используемые в РФ очищенные грецкие орехи. Опытные партии продукции были закуплены в торговой сети. Основным критерием выбора орехов было их соответствие нормативным документам, а также место производства, вид упаковки и отсутствие инсектицидной обработки. Орехи грецкие очищенные (ядро грецкого ореха) были закуплены в Краснодарском крае. Проба представляла собой коробку из гофрокортона с дополнительным слоем полиэтилена (LDPE).

Экстракцию флавоноидов осуществляли 70 % спиртом в течение 2 ч в термостате при 60 °С. В качестве комплексообразователя использовали раствор $AlCl_3$. Так как пики плотности поглощения ожидалось получить в области 420–430 нм, то для построения калибровочного графика был использован стандартный раствор кверцетина. Измерения проводились на спектрофотометре «СФ-2000» (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Россия) со спектральным диапазоном от 190 до 1100 мн и пределом допускаемого значения абсолютной погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания 1 %. После экстракции по отработанной ранее методике, представленной в работе А. В. Саруханов и др., концентрацию флавоноидов в образцах определяли по уравнению C = D/0,05, полученному при помощи регрессионного анализа калибровочного графика по кверцетину [7]. Относительное содержание флавоноидов в пробе пересчитывали по массе исследуемого образца.

При оценке антибактериального воздействия плазменного облучения на микроорганизм в качестве объекта исследования выбрали культуру палочковидных бактерий, выделенных с грецких орехов. Определение таксономической принадлежности бактериальной культуры производили по данным MALDI ToF масс-спектрометрического анализа совместно с ИБФМ РАН (г. Пущино).

В качестве основной питательной среды использовали дифференциально-диагностическую среду – агар Эндо. Для экспериментов культуру бактерий отсеивали на чашку Петри и выращивали при 37 °С в течение 18 ч. Затем с клеток культуры на основе стерильного физиологического раствора делали суспензию с титром 10^7–10^8 КОЕ/мл. Из данного разведения наносили по 100 мкл инокулята на поверхность подготовленных чашек с агаризованной средой и тщательно растирали шпателем. После посева сплошным газоном культуру бактерий в открытых чашках Петри размещали на горизонтальной поверхности под плазменную струю, перпендикулярно потоку излучения плазмы на расстоянии 4,5 см от сопла. Инактивация проводилась в воздушной среде при атмосферном давлении и при комнатной температуре (23–25 °С). Время обработки составляло 1, 3 и 5 мин. Посев культуры бактерий обрабатывали аргоновой плазмой атмосферного давления, генерируемой СВЧ-источником. Поток аргона составил 10 л/мин. Температура на поверхности облучаемой питательной среды с посевом непрерывно контролировалась с помощью тепловизора и не превышала 37 °С. После воздействия плазмы чашки с культурой инкубировали в термостате в течение суток при температуре 37 °С. Затем в обработанных

Таблица 1. Видовая принадлежность микроорганизмов, выделенных из грецкого ореха

Table 1. Species of microorganisms isolated from walnuts

Плесени	Спорообразующие микроорганизмы	Бактерии	Дрожжи
Aspergillus *Rhizopus*	*Bacillus endophyticus*	*Agromyces rhizospherae* *Acinetobacter baumannii* *Lactobacillus plantarum* *Lactobacillus mali* *Pseudomonas putida* *Pantoea agglomerans*	*Pichia norvegensis*

плазмой чашках измеряли диаметр зон поражения засеянного газона. Для контроля были подготовлены чашки с культурой бактерий, которые после посева не подвергались воздействию плазмы. Кроме того, не засеянные культурой чашки с питательной средой также облучали плазмой с целью контроля стерильности среды. Во всех экспериментах выполнены три повторности.

Результаты и их обсуждение

Орехи содержат ненасыщенные жирные кислоты, в том числе мононенасыщенные жирные кислоты и аминокислоты. Многие орехи представляют собой источник витаминов Е и B_2. Они богаты белками, пищевыми волокнами, фолатами и минералами, такими как магний, фосфор, кальций, медь и селен. Питательная ценность орехов на 100 г: белки – 16,2 г, жиры – 60,7 г, углеводы – 11,1 г. Кроме того, в них содержатся пищевые волокна (6,1 г) и жирорастворимые витамины (Е, А, B_9, B_3, К, С) [8].

Отечественный рынок орехов включает большой ассортимент продукции: грецкий орех, миндаль, кешью, фисташки, фундук и др. Но основную роль здесь играют импортные поставки. Доля иностранной продукции на нашем рынке орехов близка к 90 %. Наибольшую долю в производстве и обороте орехов в ЕАЭС составляют грецкий орех и фундук.

Антиоксиданты – вещества, ингибирующие окислительное действие свободных радикалов и других веществ, рассматриваются в контексте окисления органических соединений. Антиоксиданты в больших количествах содержатся в продуктах растительного происхождения. В орехах и сухофруктах содержится большое количество полифенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью и оказывающих благоприятное действие на организм. В процессе сушки, термической обработки и фумигации часть их теряется.

Нами проведено количественное определение флавоноидов в пересчете на кверцетин, при котором получили содержание суммы флавоноидов в контрольных образцах грецкого ореха в пересчете на сухое вещество – 128,805 ± 8,219 мкг/г.

Было установлено, что в контрольных образцах орехов преобладают плесневые грибы рода *Rhizopus*. Скорость их роста превышает обычную: на следующие сутки после посева чашка Петри со средой Сабуро полностью покрывается этой плесенью. Микроорганизмы представлены почвенными бактериями (табл. 1).

Видовую принадлежность плесневых грибов, идентифицированных по морфологии колоний и спорангий, таких как *Rhizopus* и *Aspergillus*, не удалось определить с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Это объясняется наличием спор и сложностью извлечения из них белков.

Ускоренный микробиологический метод импедансного анализа на анализаторе «БакТрак 4300» позволил оценить степень микробного загрязнения грецких орехов. Графические результаты опыта представлены на рисунке 1. Ход кривых импедансного сигнала соответствует и отражает кривую роста микроорганизмов в исследуемой пробе. По величине лаг-периода возможно определить задержку роста микроорганизмов. Ввиду различного состава микроорганизмов их суммарная способность метаболизировать субстрат с образованием полярных молекул сильно отличается от типа продукции. Ввиду отсутствия калибровочных графиков для каждого вида продукции, в которых отражаются особенности микрофлоры и физико-химических свойства самого сырья, для определения количества микроорганизмов в абсолютных единицах используется встроенная в программное обеспечение универсальная калибровка. Однако по ней можно определить только приблизительные значения, в которых не учитываются разные скорости роста отдельных видов и их способности к потреблению субстрата.

Установлено, что показатель КМАФАнМ в двух исследуемых пробах грецких орехов соответствовал требованиям ТР ТС 021/2011 (табл. 2).

Был получен сомнительный результат: отмечали помутнение среды Кесслера. Дальнейшее исследование показало, что микроорганизмы являются грамм-положительными палочками и на среде Эндо растут с образованием красных колоний с металлическим блеском. Выделенные для исследования микроорганизмы принадлежат к роду *Lactobacillus*. Результаты идентификации методом MALDI-ToF MS показали виды идентифицированных

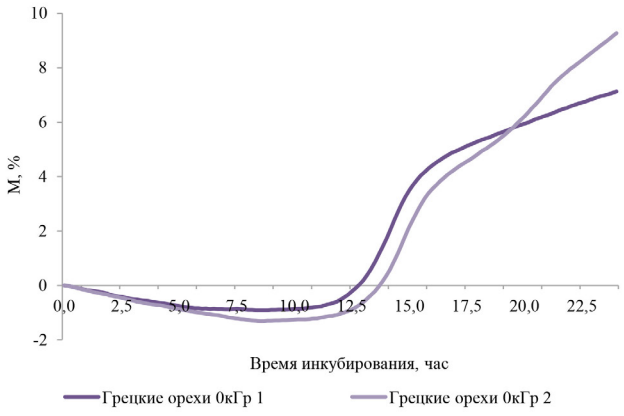

Рисунок 1. Результаты импедансного анализа смывов грецких орехов; две повторности (t инкубации 30 °C)

Figure 1. Impedance analysis of walnut washings; two replicates (incubation t = 30°C)

организмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus mali*, уровень идентификации 1,549 и 1,483 соответственно. Молочнокислые бактерии *Lactobacillus* sp. дают устойчивый рост на среде Эндо, образуя красные колонии с металлическим зеленоватым блеском размером 1–2 мм. Именно они отвечают за ложноположительный результат на среде Кесслера.

Молочнокислые бактерии широко распространены в природе, встречаются в природной микрофлоре и играют важную роль в процессах ферментации. Содержание молочнокислых бактерий намного выше в эпифитной микрофлоре культурных растений. Это иллюстрирует влияние человека на распространение флоры молочнокислых бактерий. Согласно литературным данным эти бактерии обнаруживаются на винограде, яблоках и других плодах, идущих на переработку. Содержатся молочнокислые бактерии и на зернах злаков. На надземных частях растений среди молочнокислых бактерий палочки преобладают над кокками. Лактобациллы представляют собой грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы размером 0,5–1,2 и 1,0–10,0 мкм [6]. На растениях в большем количестве содержатся *L. plantarum* – прямые, с закругленными концами палочки различной длины (от 0,7–1,1 до 3,0–8,0 мкм), расположенные единично или цепочками [4].

В результате проведенных работ был разработан универсальный аппаратурный комплекс многовариантной компоновки для получения низкотемпературной и нетермальной СВЧ-плазмы атмосферного давления. Массовое производство и острая конкуренция на мировом рынке ведущих фирм-производителей микроволнового оборудования обеспечивают высокую надежность их продукции при низкой стоимости. Поэтому основу представляемого аппаратурного комплекса составляет малобюджетный магнетронный СВЧ-генератор диапазона 2,45 ГГц с высоковольтным блоком питания, построенный на базе магнетронов, трансформаторов и конденсаторов, применяемых в микроволновых печах бытового и промышленного назначения. Для работы при повышенных уровнях СВЧ-мощности (свыше 1,5 кВт) разработана технология модификации системы охлаждения серийных СВЧ-магнетронов – с воздушной на водяную.

Основу 1-го варианта генератора плазмы составляет многоштырьковый резонансный СВЧ-разрядник *2*, питаемый с помощью жесткой коаксиальной линии от регулируемого волноводно-коаксиального перехода (рис. 2). Величина отбираемой из волновода СВЧ-мощности регулируется в широких пределах изменением местоположения короткозамыкающего бесконтактного поршня *1*. Неиспользованная отраженная мощность поглощается в водяной нагрузке, подключенной к волноводному циркулятору *4*.

Наконечник внешнего проводника питающей коаксиальной линии выполнен съемным и легко заменяемым. Внутренний проводник представляет собой металлическую трубку для подачи плазмообразующего газа *6*. Осевое перемещение внутреннего проводника обеспечено дроссельным подвижным сочленением, что позволяет регулировать положение внутреннего разрядника относительно внешнего наконечника коаксиальной линии. В качестве источника СВЧ-мощности был использован бюджетный генератор, построенный на комплектующих промышленных СВЧ-установок *5*. Схема 2-го варианта СВЧ-разрядника коаксиальной конфигурации представлена на рисунке 3.

Центральный проводник разрядника *1* проходит сквозь волновод *2* посередине его широких стенок

Таблица 2. Микробиологические показатели контрольных образцов орехов

Table 2. Microbiological indicators of control walnut samples

Длительность хранения орехов	Микробиологические показатели			Примечания
	КМАФАнМ КОЕ/г	Дрожжи и плесени КОЕ/г	БГКП 10 г продукта	
3 суток	1230 ± 580	620 ± 250	сомнительно	Помутнение на среде Кесслера
3 месяца	617 ± 94	684 ± 67	не обнаружено	–

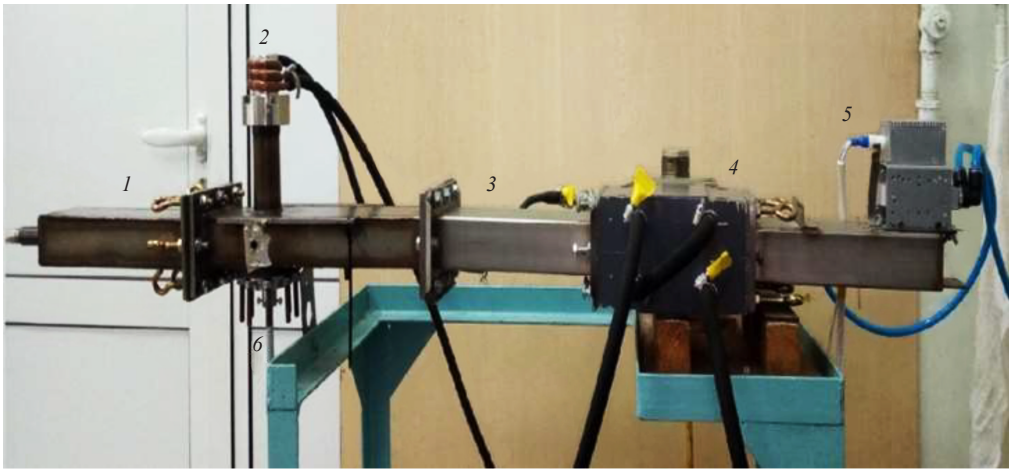

Рисунок 2. Общая схема 1-го варианта установки: *1* – короткозамкнутый поршень; *2* – плазмотрон; *3* – волновод; *4* – циркулятор с водяной нагрузкой; *5* – магнетрон; *6* – волноводно-коаксиальный переход с подачей газа

Figure 2. General setup of the first diagram option: *1* – short-circuited piston; *2* – plasmatron; *3* – waveguide; *4* – circulator with water load; *5* – magnetron; *6* – waveguide-coaxial transition with gas supply

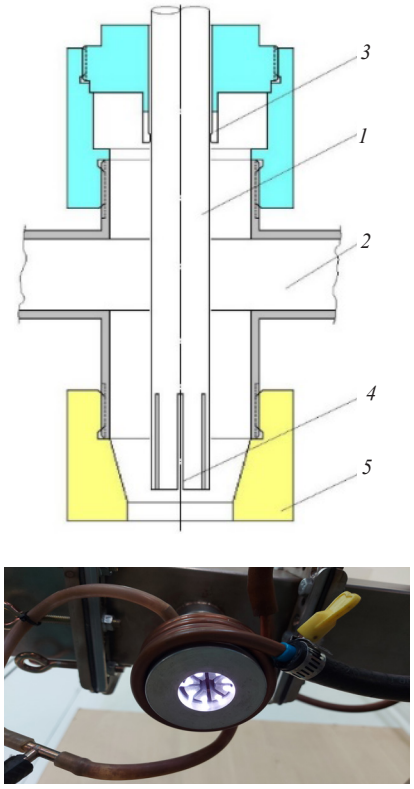

Рисунок 3. Схема 2-го варианта конструкции СВЧ-разрядника и его фотография (справа): *1* – центральный проводник коаксиала; *2* – питающий волновод; *3* – цанговый подвижный замыкатель; *4* – радиальные пропилы; *5* – внешний электрод разрядника

Figure 3. Scheme of the second version of the icrowave discharger and its photograph (right): *1* – central conductor of the coaxial; *2* – supply waveguide; *3* – collet movable contactor; *4* – radial cuts; *5* – external electrode of the spark gap

перпендикулярно к ним. Один из выступающих концов коаксиала замкнут накоротко цанговым подвижным сочленением *3*. Зона контакта вынесена в область минимума поверхностных токов. На втором конце коаксиала обеспечены условия холостого хода. Подача рабочего газа (аргона = 10 л/мин) в зону разряда осуществляется в зазор между внутренним и внешним проводником коаксиала. При правильной установке поджег разряда происходит самостоятельно и поддерживается длительное время. Для снижения температуры исходящей плазменной струи при продолжительной работе предусмотрено принудительное водяное охлаждение внешнего наконечника разрядника.

Для оценки эффективности СВЧ-генераторов плазмы был проведен модельный эксперимент по определению выживаемости микроорганизмов под действием аргоновой нетермальной плазмы (бактерицидные свойства плазмы) на предварительно засеянных сплошным газоном чашках Петри с селективной питательной средой (агар Эндо). Воздействие плазмой осуществляли на суточную культуру бактерий. Процесс плазменной обработки показан на рисунке 4.

Результаты эксперимента показали, что воздействие плазмы в течение 1–5 мин не приводит к быстрому и полному санирующему эффекту, но умеренно подавляет рост бактерий – явление «контролируемости» бактериальной популяции низкой плотности на поверхности плотной питательной среды. Поверхность агара, засеянного культурой лактобацилл, спустя 24 ч после обработки плазмой представлена на рисунке 5. В результате обработки в течение 1 мин на поверхности плотной

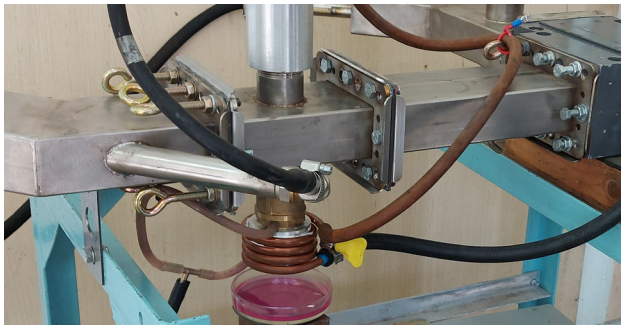

Рисунок 4. Инактивация микроорганизмов в чашке Петри с помощью генератора нетермальной аргоновой плазмы

Figure 4. Inactivation of microorganisms in a Petri dish using a non-thermal argon plasma generator

питательной среды образовывались округлые зоны отсутствия роста бактерий с диаметром 1–2 см, т. е. наблюдалась гибель практически всех клеток в зоне воздействия плазмы. Диаметр зоны ингибирования роста бактерий на чашке, т. е. зоны, где число бактериальных колоний было ниже, чем в контроле, составил 4,4 ± 0,1 см.

Выраженный антимикробный эффект плазменного облучения проявлялся после 5 мин экспозиции. После 5 мин обработки остаются лишь единичные выросшие колонии, но уже при сокращении времени обработки до 3 мин число выживших колоний значительно возрастает. Результаты исследования показали, что диаметр зоны ингибирования роста бактерий после 3 и 5 мин обработки превышал диаметр сопла генератора плазмы. Этот эффект можно объяснить рассеиванием плазменного облучения излучения. Температура на поверхности питательной среды во время плазменной обработки была в пределах оптимальной температуры роста лактобацилл (30–40 °С): 33,7 ± 2,1 °С во время 1 мин облучения, 37,7 ± 1,5 и 37,3 ± 0,6 °С во время 3 и 5 мин облучения соответственно.

Результаты исследования продемонстрировали изменение плотной питательной среды (агара Эндо) под воздействием плазмы длительностью 5 мин (рис. 6). В месте воздействия плазменного облучения наблюдался зеленый металлический блеск на питательной среде. Данный эффект можно объяснить тем, что фуксинсернистая кислота (реактив Шиффа), которая присутствует в агаре Эндо, при взаимодействии с плазмой окисляется до фуксина.

В данном исследовании показан биоцидный эффект нетермальной плазмы на лактобациллы, определяемый по снижению колонии образующих единиц в месте воздействия плазмы – диаметру зон ингибирования. Биоцидный эффект вызван окислительными повреждениями мембран и генетического материала микроорганизмов. Это подтверждается спектрофотометрическими измерениями окислителей в водных растворах под действием излучения плазмы. В работе показано воздействие нетермальной плазмы на пробу соли Мора – чувствительного к изменению окислительно-восстановительных свойств раствора. Под действием плазмы в растворе образуются активные радикалы, вызывающие окисление двухвалентного железа до трехвалентного. Получена зависимость концентрации трехвалентного железа (в результате окисления двухвалентного железа) в исследуемой пробе после обработки плазмой разной продолжительности. Уменьшение расстояния от источника плазмы до пробы, а также увеличение длительности обработки значительно повышало концентрацию окислителей в растворе соли Мора.

Важно заметить, что низкотемпературная плазма обладает низкой проникающей способностью подобно низкоэнергетическому электронному излучению. Это, с одной стороны, позволяет обрабатывать только поверхности (в ряде случаев жидкости), а с другой – не затрагивает своим воздействием нижележащие слои облучаемого объекта.

Поскольку в изученной нами литературе не было данных об инактивации нетермальной плазмой лактобацилл, то интересным представляется оценить мировой опыт инактивации кишечной

Рисунок 5. Результаты антимикробной эффективности плазменной обработки в зависимости от длительности облучения

Figure 5. Antimicrobial effect of plasma treatment depending on irradiation time

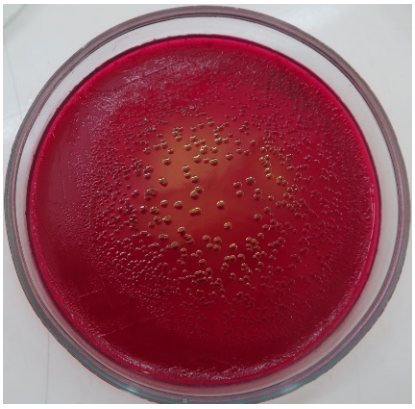

Рисунок 6. Зона изменения пигмента питательной среды в месте воздействия плазменного излучения (металлический блеск)

Figure 6. Zone of change in the pigment of the nutrient medium in the place of exposure to plasma radiation (metallic appearance)

палочки в продуктах с помощью плазмы атмосферного давления. Согласно Всемирной организации здравоохранения некоторые штаммы *Escherichia coli* могут быть причиной заболеваний пищевого происхождения. При использовании аргоновой плазмы прямого воздействия во многих экспериментах авторам удалось добиться снижения количества бактерий на поверхности продуктов на несколько порядков. На листьях салата, томатов и моркови было показано снижение количества бактерий на 1,70 после обработки (от 30 сек до 10 мин) стримерной короной с игольчатыми электродами (3,95–12,83 kV, 60 Hz) после обработки [9]. На листьях салата удалось снизить количество на 2,10–3,60 за 15–30 сек обработки плазмой (20 W, 27,12 MHz) на расстоянии 10 мм до субстрата [10]. В исследовании M. Baier и др. были получены схожие результаты на листьях салата: 3,20–3,30 порядка после обработки от 60 сек до 2 мин плазмой (8 W, 220 V, 50/60 Hz) на расстоянии 17 мм до субстрата [11]. В другой своей работе M. Baier с соавторами удалось добиться увеличения снижения до 3,30–4,70 после 60 сек обработки путем добавления к аргону кислорода [12]. Использование гелия с кислородом в качестве плазмообразующего газа показало снижение количества бактерий на кожуре дыни и манго на 3,00 порядка после 5 сек обработки плазмой (12–16 kV, 30 kHz) на расстоянии 10 мм до субстрата [13, 14]. Однако во многих работах исследователи используют в качестве плазмообразующего газа воздух. С помощью коронного разряда (20 kV, 58 kHz) удалось снизить на 2,00 порядка обсемененность семян рапса после 3 мин обработки [15]. В исследовании A. Kilonzo-Nthenge и др. коронный разряд (200 W, 50 Hz) снижал на 5,50 порядков обсемененность яблок за 240 сек на расстоянии 35 мм до субстрата [16]. В работах B. A. Niemira, используя воздух с азотом (524 W, 47 kHz) с расстоянием 6 см до субстрата, было показано снижение обсемененности миндаля на 1,34 за 20 сек обработки [17, 18]. Скользящая дуга (gliding arc) (15 kV, 60 Hz) снизила на 3,60 обсемененность яблок после 3 мин воздействия [19]. Однородный тлеющий разряд в воздухе (9 kV, 6 kHz) на 1,00–3,50 порядка после 1–2 мин при расстоянии 11,4 см до субстрата (листья салата, яблоки, дыня) [20]. Микроволновая плазма (1,1 kW, 2,45 GHz) при 25 см до субстрата (яблоки, клубника, морковь) способствовала снижению обсемененности на 4,80 [21, 22].

В работе Е. В. Сысолятиной показано, что степень чувствительности бактерий зависит от вида и штамма бактерии, а также используемого источника нетермальной плазмы. Также в работе было доказано, что отдельные компоненты нетермальной плазмы обладают меньшим бактерицидным эффектом, чем плазменный факел в целом. В работе показан синергизм действия биологически активных компонентов плазмы [23].

В работе Г. В. Киреева установлено, что наиболее чувствительными к обработке холодной плазмой являлись грамотрицательные бактерии, такие как *E. coli*, а меньшей чувствительностью обладали грамположительные бактерии. Было показано, что обработка клеток кишечной палочки холодной плазмой приводила к снижению прочности клеточной оболочки. Вследствие этого клетки бактерии погибали в средах с пониженным осмотическим давлением. Выявлено нарушение целостности цитоплазматической мембраны клеток кишечной палочки холодной плазмой [24].

Наши результаты согласуются с данными А. П. Семенова и др., которые в своем исследовании показали, что плазменная обработка в течение 40 сек на расстоянии 3 см от сопла приводит к существенному снижению числа выживших микроорганизмов. Авторы наблюдали такую же зависимость увеличения диаметра зоны инактивации бактерий от продолжительности обработки. Однако наилучшие результаты гибели клеток *E. coli* были получены через 5 сек обработки на расстоянии 0,5 см от сопла. А при увеличении расстояния от сопла генератора до 3 см число выживших колоний бактерий значительно возрастает. В исследовании авторов обработка чашек в течение 10 сек приводит к гибели практически всех клеток в радиусе 0,9 см [25, 26].

Полученные нами результаты также можно соотнести с данными работы Б. Б. Балданова, в которой была показана высокая антибактериальная эффективность аргоновой плазмы, генерируемой плазменными струями. Воздействие плазменных

струй на микроорганизмы, в том числе кишечную палочку, в течение 4 мин приводит к их полной инактивации в области воздействия плазмы. Автором установлено, что эффективный процесс инактивации бактерий с помощью нетермальной аргоновой плазмы начинается практически с 5 сек. С увеличением времени экспозиции площадь инактивации значительно повышается [27].

Выводы

Инактивация бактерий может быть вызвана несколькими активными компонентами нетермальной плазмы. Например, УФ-излучение, озон и образующиеся в результате плазмохимических реакций свободные радикалы [23, 24]. Свободные радикалы являются оксидантами – сильными окислителями. Они разрушают клеточных структуры (белки, генетический материал и др.) и оказывают инактивирующее действие на микроорганизмы. Однако, поскольку на получаемый эффект влияют такие факторы, как сами микроорганизмы, грибы, дрожжи, споровые или вегетативные формы бактерий (грамположительные либо грамотрицательные) и т. д., а также условия обработки, т. е. такая характеристика плазмы, как напряженность поля, то эффективность обработки может различаться для разных микроорганизмов. Это определило необходимость проведенного нами исследования.

Проведенные исследования показали не абсолютное ингибирование бактерий после плазменной обработки из-за рассеивания активных компонентов плазмы в неограниченном воздушном пространстве и их низкой концентрации при взаимодействии с засеянной средой. Длительная плазменная обработка в течение 5 мин позволяет инактивировать лактобациллы, значительно снизив их количество на облучаемой площади. Это позволяет предположить возможность применения плазмы для поддержания достигнутого уровня обеззараживания на поверхностях продуктов и упаковок. Эффективность обеззараживания с помощью плазмы может быть увеличена путем корректировки режимов облучения. Кроме того, эффективность плазменной обработки может зависеть от исходной плотности клеточной суспензии, которая подвергалась воздействию, и времени обработки. Традиционные методы деконтаминации не являются универсальными для большинства типов сухофруктов и орехов. Использование высоких температур снижает количество компонентов, отвечающих за аромат, вкус, лекарственные и антиоксидантные свойства растительного сырья.

Критерии авторства

Д. И. Петрухина – проведение эксперимента, написание рукописи. И. В. Полякова – проведение эксперимента, методология и организация исследований. С. А. Горбатов – проведение эксперимента, модернизация плазматрона.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

D.I. Petrukhina performed the experiment and wrote the manuscript. I.V. Polyakova performed the experiment, developed the methodology, and supervised the research. S.A. Gorbatov performed the experiment and modernized the plasmatron.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Fiebrandt, M. From patent to product? 50 years of low-pressure plasma sterilization / M. Fiebrandt, J.-W. Lackmann, K. Stapelmann // Plasma Processes and Polymers. – 2018. – Vol. 15, № 12. https://doi.org/10.1002/ppap.201800139.

2. Анализ активных продуктов излучения плазмы искрового разряда, определяющих биологические эффекты в клетках / И. П. Иванова, С. В. Трофимова, Н. Карпель Вель Лейтнер [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2012. – № 2. – С. 20–30.

3. Савкина, О. А. Исследование микробной контаминации мюслей и сырья / О. А. Савкина, М. Н. Локачук, Е. Н. Павловская // Пищевая индустрия. – 2020. – Т. 43, № 1. – С. 48–50. https://doi.org/10.24411/9999-008A-2020-10003.

4. Идентификация молочнокислых бактерий на поверхности плодов и овощей / О. О. Бабич, А. Ю. Просеков, С. А. Сухих [и др.] // Вопросы науки. – 2015. – Т. 1. – С. 22–32.

5. Darby, T. M. Beneficial influences of *Lactobacillus plantarum* on human health and disease / T. M. Darby, R. M. Jones // The microbiota in gastrointestinal pathophysiology: Implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis / M. H. Floch, Y. Ringel, W. A. Walker. – Academic Press, 2017. – P. 109–117. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00010-0.

6. Биологические свойства лактобацилл. Перспективы использования в лабораториях Роспотребнадзора экспресс-методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) при контроле качества пищевых продуктов, БАД к пище,

лекарственных форм, содержащих лактобациллы / И. В. Соловьева, А. Г. Точилина, И. В. Белова [и др.] // Журнал МедиАль. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 29–44.

7. Определение содержания флавоноидов в облученных образцах посредством спектрофотометрического анализа / А. В. Саруханов, А. И. Морозова, Н. А. Васильева [и др.] // Бюллетень науки и практики. – 2019. – Т. 5, № 10. – С. 32–39. https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/04.

8. Boskou, D. Mediterranean diet food: Strategies to preserve a healthy tradition / D. Boskou // Journal of Experimental Food Chemistry. – 2016. – Vol. 1, № 1. https://doi.org/10.4172/2472-0542.1000104.

9. Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce / D. Bermudez-Aguirre, E. Wemlinger, P. Pedrow [et al.] // Food Control. – 2013. – Vol. 34, № 1. – P. 149–157. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.022.

10. Direct non-thermal plasma treatment for the sanitation of fresh corn salad leaves: Evaluation of physical and physiological effects and antimicrobial efficacy / M. Baier, J. Foerster, U. Schnabel [et al.] // Postharvest Biology and Technology. – 2013. – Vol. 84. – P. 81–87. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.03.022.

11. Inactivation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 using cold atmospheric pressure plasma / M. Baier, T. Janßen, L. H. Wieler [et al.] // Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2015. – Vol. 120, № 3. – P. 275–279. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.01.003.

12. Non-thermal atmospheric pressure plasma: Screening for gentle process conditions and antibacterial efficiency on perishable fresh produce / M. Baier, M. Görgen, J. Ehlbeck [et al.] // Innovative Food Science and Emerging Technologies. – 2014. – Vol. 22. – P. 147–157. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.011.

13. Cold atmospheric plasma decontamination of the pericarps of fruit / S. Perni, D. W. Liu, G. Shama [et al.] // Journal of Food Protection. – 2008. – Vol. 71, № 2. – P. 302–308. https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.2.302.

14. Perni, S. Cold atmospheric plasma disinfection of cut fruit surfaces contaminated with migrating microorganisms / S. Perni, G. Shama, M. G. Kong // Journal of Food Protection. – 2008. – Vol. 71, № 8. – P. 1619–1625. https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.8.1619.

15. Puligundla, P. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds / P. Puligundla, J.-W. Kim, C. Mok // Food Control. – 2017. – Vol. 71. – P. 376–382. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.021.

16. Atmospheric cold plasma inactivation of *Salmonella* and *Escherichia coli* on the surface of golden delicious apples / A. Kilonzo-Nthenge, S. Liu, S. Yannam [et al.] // Frontiers in Nutrition. – 2018. – Vol. 5. https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00120.

17. Niemira, B. A. Cold plasma decontamination of foods / B. A. Niemira // Annual Review of Food Science and Technology. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 125–142. https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101132.

18. Niemira, B. A. Cold plasma reduction of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on almonds using ambient pressure gases / B. A. Niemira // Journal of Food Science. – 2012. – Vol. 77, № 3. – P. M171–M175. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02594.x.

19. Niemira, B. A. Cold plasma inactivates *Salmonella* stanley and *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on golden delicious apples / B. A. Niemira, J. Sites // Journal of Food Protection. – 2008. – Vol. 71, № 7. – P. 1357–1365. https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.7.1357.

20. Decontamination and sensory properties of microbiologically contaminated fresh fruits and vegetables by microwave plasma processed air (PPA) / U. Schnabel, R. Niquet, O. Schlüter [et al.] // Journal of Food Processing and Preservation. – 2015. – Vol. 39, № 6. – P. 653–662. https://doi.org/10.1111/jfpp.12273.

21. Atmospheric plasma inactivation of foodborne pathogens on fresh produce surfaces / F. J. Critzer, K. Kelly-Wintenberg, S. L. South [et al.] // Journal of Food Protection. – 2007. – Vol. 70, № 10. – P. 2290–2296. https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.10.2290.

22. Impact of plasma processed air (PPA) on quality parameters of fresh produce / M. Baier, J. Ehlbeck, D. Knorr [et al.] // Postharvest Biology and Technology. – 2015. – Vol. 100. – P. 120–126. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.09.015.

23. Сысолятина, Е. В. Бактерицидные свойства низкотемпературной плазмы *in vitro* и *in vivo*: дис. … канд. био. наук: 03.02.03 / Сысолятина Елена Владимировна. – Москва, 2013. – 128 с.

24. Киреев, Г. В. Инактивация микроорганизмов низкотемпературной плазмой при атмосферном давлении: дис. … канд. био. наук: 03.02.03, 03.01.06 / Киреев Георгий Вадимович. – Оболенск, 2013. – 189 с.

25. Разработка бактерицидного оборудования и исследование процессов обеззараживания патогенных микроорганизмов холодной аргоновой плазмой / А. П. Семенов, Б. Б. Балданов, Ц. В. Ранжуров [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2016. – Т. 36, № 1. – С. 18–22.

26. Инактивация микроорганизмов в холодной аргоновой плазме атмосферного давления / А. П. Семенов, Б. Б. Балданов, Ц. В. Ранжуров [и др.] // Успехи прикладной физики. – 2014. – Т. 2, № 3. – С. 229–233.

27. Балданов, Б. Б. Источник слабоионизированной неравновесной плазмы на основе импульсно-периодического режима отрицательного коронного разряда в потоке аргона: дис. … д-р техн. наук: 01.04.14 / Балданов Баир Батоевич. – Улан-Удэ, 2004. – 239 с.

References

1. Fiebrandt M, Lackmann J-W, Stapelmann K. From patent to product? 50 years of low-pressure plasma sterilization. Plasma Processes and Polymers. 2018;15(12). https://doi.org/10.1002/ppap.201800139.

2. Ivanova IP, Trofimova SV, Karpel Vel Leitner N, Aristova NA, Arkhipova EV, Burkhina OE, et al. The analysis of active products of spark discharge plasma radiation determining biological effects in tissues. Modern Technologies in Medicine. 2012;(2):20–30. (In Russ.).

3. Savkina OA, Lokachuk MN, Pavlovskaya EN. Issledovanie mikrobnoy kontaminatsii myusley i syr′ya [A study of microbial contamination of muesli and raw materials]. Pishchevaya industriya [Food industry]. 2020;43(1):48–50. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/9999-008A-2020-10003.

4. Babich OO, Prosekov AYu, Sukhikh SA, Milent′eva IS. Identifikatsiya molochnokislykh bakteriy na poverkhnosti plodov i ovoshchey [Identification of lactic acid bacteria on the surface of fruits and vegetables]. Voprosy nauki. 2012;(2):20–30. (In Russ.).

5. Darby TM, Jones RM. Beneficial influences of Lactobacillus plantarum on human health and disease. In: Floch MH, Ringel Y, Walker WA, editors. The microbiota in gastrointestinal pathophysiology: Implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis. Academic Press; 2017. pp. 109–117. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00010-0.

6. Solovyeva IV, Tochilina AG, Belova IV, Novikova NA, Ivanova TP. The lactobacillus biological properties. Prospects of express-methods nucleic acid amplification for the foods, food supplements and drugs on its basis quality control. Journal MediAl. 2014;12(2):29–44. (In Russ.).

7. Sarukhanov AV, Morozova AI, Vasilyeva NA, Krylenkin DV. Flavonoid's content determination in irradiated samples via spectrophotometric analysis. Bulletin of Science and Practice. 2019;5(10):32–39. (In Russ.). https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/04.

8. Boskou D. Mediterranean diet food: Strategies to preserve a healthy tradition. Journal of Experimental Food Chemistry. 2016;1(1). https://doi.org/10.4172/2472-0542.1000104.

9. Bermudez-Aguirre D, Wemlinger E, Pedrow P, Barbosa-Cánovas G, Garcia-Perez M. Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. Food Control. 2013;34(1):149–157. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.022.

10. Baier M, Foerster J, Schnabel U, Knorr D, Ehlbeck J, Herppich WB, et al. Direct non-thermal plasma treatment for the sanitation of fresh corn salad leaves: Evaluation of physical and physiological effects and antimicrobial efficacy. Postharvest Biology and Technology. 2013;84:81–87. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.03.022.

11. Baier M, Janßen T, Wieler LH, Ehlbeck J, Knorr D, Schlüter O. Inactivation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 using cold atmospheric pressure plasma. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2015;120(3):275–279. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.01.003.

12. Baier M, Görgen M, Ehlbeck J, Knorr D, Herppich WB, Schlüter O. Non-thermal atmospheric pressure plasma: Screening for gentle process conditions and antibacterial efficiency on perishable fresh produce. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2014;22:147–157. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.011.

13. Perni S, Liu DW, Shama G, Kong MG. Cold atmospheric plasma decontamination of the pericarps of fruit. Journal of Food Protection. 2008;71(2):302–308. https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.2.302.

14. Perni S, Shama G, Kong MG. Cold atmospheric plasma disinfection of cut fruit surfaces contaminated with migrating microorganisms. Journal of Food Protection. 2008;71(8):1619–1625. https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.8.1619.

15. Puligundla P, Kim J-W, Mok C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds. Food Control. 2017;71:376–382. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.021.

16. Kilonzo-Nthenge A, Liu S, Yannam S, Patras A. Atmospheric cold plasma inactivation of *Salmonella* and *Escherichia coli* on the surface of golden delicious apples. Frontiers in Nutrition. 2018;5. https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00120.

17. Niemira BA. Cold plasma decontamination of foods. Annual Review of Food Science and Technology. 2012;3(1):125–142. https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101132.

18. Niemira BA. Cold plasma reduction of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on almonds using ambient pressure gases. Journal of Food Science. 2012;77(3):M171–M175. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02594.x.

19. Niemira BA, Sites J. Cold plasma inactivates *Salmonella* stanley and *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on golden delicious apples. Journal of Food Protection. 2008;71(7):1357–1365. https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.7.1357.

20. Schnabel U, Niquet R, Schlüter O, Gniffke H, Ehlbeck J. Decontamination and sensory properties of microbiologically contaminated fresh fruits and vegetables by microwave plasma processed air (PPA). Journal of Food Processing and Preservation. 2015;39(6):653–662. https://doi.org/10.1111/jfpp.12273.

21. Critzer FJ, Kelly-Wintenberg K, South SL, Golden DA. Atmospheric plasma inactivation of foodborne pathogens on fresh produce surfaces. Journal of Food Protection. 2007;70(10):2290–2296. https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.10.2290.

22. Baier M, Ehlbeck J, Knorr D, Herppich WB, Schlüter O. Impact of plasma processed air (PPA) on quality parameters of fresh produce. Postharvest Biology and Technology. 2015;100:120–126. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.09.015.

23. Sysolyatina EV. Bakteritsidnye svoystva nizkotemperaturnoy plazmy *in vitro* i *in vivo* [Bactericidal properties of low-temperature plasma *in vitro* and *in vivo*]. Cand. bio. sci. diss. Moscow: Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology; 2013. 128 p.

24. Kireev G.V. Inaktivatsiya mikroorganizmov nizkotemperaturnoy plazmoy pri atmosfernom davlenii [Inactivation of microorganisms by low-temperature plasma at atmospheric pressure]. Cand. bio. sci. diss. Obolensk: State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology; 2013. 189 p.

25. Semenov AP, Baldanov BB, Ranzhurov CV, Nikolaev EO, Gomboeva SV. Development of microbicide equipment and research in pathogen inactivation by cold argon plasma. The Siberian Scientific Medical Journal. 2016;36(1):18–22. (In Russ.).

26. Semenov AP, Baldanov BB, Ranzhurov TsV, Norboev ChN, Namsaraev BB, Dambaev VB, et al. Inactivation of microorganisms in cold argon plasma at the atmospheric pressure. Advances in Applied Physics. 2014;2(3):229–233. (In Russ.).

27. Baldanov BB. Istochnik slaboionizirovannoy neravnovesnoy plazmy na osnove impul′sno-periodicheskogo rezhima otritsatel′nogo koronnogo razryada v potoke argona [Source of low-ionized non-equilibrium plasma based on the pulse-periodic mode of negative corona discharge in an argon flow]. Dr. eng. sci. diss. Ulan-Ude: East Siberia State University of Technology and Management; 2004. 239 p.