

УДК 664.8.039.4

Ультразвуковая кавитация и её потенциальное влияние на микрофлору: Систематический обзор предметного поля

Т. Ю. Кондратенко¹, В. В. Кондратенко², М. Н. Курбанова¹,
Л. К. Пацюк¹

АННОТАЦИЯ

Введение: В процессе ультразвуковой обработки образуются кавитационные эффекты, приводящие к механическому иsonoхимическому воздействию. В совокупности эти факторы могут способствовать проявлению антимикробного эффекта. Однако на сегодняшний день отсутствует цельное представление о степени влияния параметров ультразвукового излучения на разные виды, группы и формы микроорганизмов, позволяющие адекватно прогнозировать технологические режимы ультразвуковой антимикробной обработки.

Цель: Систематизация представлений об особенностях влияния параметров ультразвуковой кавитационной обработки, в том числе с учётом сопутствующих технологических факторов, на микрофлору и образуемые ею биоплёнки.

Материалы и методы: Анализ данных о реакции микроорганизмов на ультразвуковое излучение реализовывался на материале научных статей, диссертаций, монографий, доступных в открытом доступе или через легальные научные коммуникационные платформы. Поисковый запрос осуществлялся в базах данных ScienceDirect, PubMed, Mendeley, Google Scholar, ResearchGate и РИНЦ. Критерии отбора источников включали исследовательские работы, связанные с применением ультразвука в обработке культур микроорганизмов с установленной таксономической принадлежностью, представленных в форме супензий спор или вегетативных клеток, а также биоплёнок. Период поиска охватывал период с 1993 по 2023 гг. В обзор не включались нерецензируемые, малоинформационные и не соответствующие теме исследования источники. При необходимости, для контекстуализации анализа использовались ссылки на работы старше 30 лет, доля которых не превышала 5.45%. Для представления материала в статье были адаптированы рисунки и таблицы. Численные данные из исследуемых источников были обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Co.) и TableCurve 2D v.5.01 для выявления наличия или отсутствия синергетических эффектов.

Результаты. Систематизированы представления о возможных механизмах и факторах влияния ультразвуковой обработки на микроорганизмы. Показано влияние структуры и состава клеточных оболочек на устойчивость грамположительных и восприимчивость грамотрицательных микроорганизмов. Проявление антимикробного эффекта может быть увеличено комбинированием акустического кавитационного процесса с давлением и термическим воздействием. Такие комбинации позволяют кратно увеличить эффект при сохранении мягких условий обработки. Эффективность ультразвукового воздействия, вероятно, связано с возникновением акустической кавитации не только в среде, но и во внутриклеточном пространстве. Антимикробный эффект проявляется как для вегетативной, так и для споровой формы микроорганизмов. Эффект ультразвуковой обработки на биоплёнки определяется сочетанием интенсивности и частоты излучения.

Выводы: В этом исследовании систематизированы данные о влиянии ультразвуковой обработки на микроорганизмы, учитывая режимы обработки, структуру клеточных оболочек и сопутствующие факторы. Ключевую роль играет коллапсирующая кавитация. Разнообразие результатов подчёркивает необходимость дополнительных исследований, с акцентом на интенсивность и насыщенность кавитации. Эти результаты могут стимулировать разработку энергоэффективных и мягких технологий для повышения микробиологической безопасности пищевых продуктов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

ультразвуковая кавитационная обработка, каверны, инактивация, микроорганизмы, жидкообразные пищевые системы

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Видное, Российская Федерация

² Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, г. Москва, Российская Федерация

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Кондратенко Владимир Владимирович
E-mail: v_kondratenko@vnimi.org

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования
доступны по запросу
у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Кондратенко, Т.Ю., Кондратенко, В.В., Курбанова, М.Н., & Пацюк, Л.К. (2023). Ультразвуковая кавитация и её потенциальное влияние на микрофлору. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 75–97. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.463>

ПОСТУПИЛА: 13.06.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



Ultrasonic Cavitation and Its Potential Impact on Microflora: A Systematic Scoping Review

¹ Russian Scientific Research Institute of Food Technology – branch of Gorbatov Federal Scientific Center for Food Systems named after V.M. Gorbatov of the Federal Academy of Sciences, Vidnoe, Russian Federation

² Russian Dairy Research Institute
Moscow, Russian Federation

CORRESPONDENCE:
Vladimir V. Kondratenko
E-mail: v_kondratenko@vnimi.org

DATA AVAILABILITY:
Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

FOR CITATIONS:
Kondratenko, K.Yu., Kondratenko, V.V., Kurbanova, M.N., & Patsyuk, L.K. (2023). Ultrasonic cavitation and its potential impact on microflora: A systematic scoping review. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 75–97. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.463>

RECEIVED: 13.06.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

DECLARATION OF COMPETING INTEREST: none declared.



Tatyana Yu. Kondratenko¹, Vladimir V. Kondratenko²,
Madina N. Kurbanova¹, Lyubov K. Patsyuk¹

ABSTRACT

Introduction: Ultrasonic processing generates cavitation effects, leading to mechanical and sonochemical impacts. Collectively, these factors can contribute to the manifestation of an antimicrobial effect. However, to date, there is no comprehensive understanding of the extent to which ultrasonic radiation parameters influence different types, groups, and forms of microorganisms, enabling adequate prediction of ultrasonic antimicrobial processing regimes.

Purpose: To systematize knowledge about the peculiarities of the influence of ultrasonic cavitation processing parameters, including accompanying technological factors, on microflora and the biofilms they form.

Materials and Methods: Data analysis on the reaction of microorganisms to ultrasonic radiation was based on scientific articles, dissertations, monographs available in open access, or through legal scientific communication platforms. Searches were conducted in databases such as ScienceDirect, PubMed, Mendeley, Google Scholar, ResearchGate, and РИНЦ. The criteria for selecting sources included research works related to the use of ultrasound in processing microorganism cultures identified taxonomically, presented as spore suspensions or vegetative cells, as well as biofilms. The search covered the period from 1993 to 2023. Non-peer-reviewed, less informative, and off-topic sources were excluded. When necessary for contextual analysis, references to works older than 30 years were used, constituting no more than 5.45 % of the total. Figures and tables were adapted for presentation in this article. Numerical data from analyzed sources were processed using Microsoft Excel 2010 (Microsoft Co.) and TableCurve 2D v.5.01 to detect the presence or absence of synergistic effects.

Results: Views on the potential mechanisms and factors of ultrasonic processing's influence on microorganisms were systematized. The influence of cell envelope structure and composition on the resistance of gram-positive and susceptibility of gram-negative microorganisms was shown. The manifestation of the antimicrobial effect can be enhanced by combining the acoustic cavitation process with pressure and thermal impact. Such combinations allow for a significant increase in effect while maintaining mild processing conditions. The effectiveness of ultrasonic treatment is likely related to the occurrence of acoustic cavitation not only in the medium but also within the intracellular space. The antimicrobial effect is observed for both vegetative and spore forms of microorganisms. The impact of ultrasonic treatment on biofilms is determined by the combination of intensity and frequency of radiation.

Conclusion: In this study, existing knowledge on the antimicrobial effects of ultrasonic treatment has been systematized, considering the treatment modes, cell wall structure, and accompanying factors. The collapsing cavitation effect plays a crucial role. The variety of results underscores the need for further research, focusing on the intensity and saturation of cavitation. These findings could stimulate the development of energy-efficient and gentle technologies to enhance the microbiological safety of food products.

KEYWORDS

ultrasonic cavitation processing; cavities; inactivation; microorganisms; liquid food systems

ВВЕДЕНИЕ

Применение ультразвуковой кавитационной обработки как одного из ключевых технологических процессов пищевых производств обладает широкими перспективами в области направленной трансформации пищевых систем, а также отдельных технологических и потребительских свойств пищевых продуктов (Обутурова и др., 2013; Кузьмичёв, 2016). Благодаря эффекту образования локальных областей разрыва сплошности дисперсионных сред — кавитационных каверн — в поле ультразвукового излучения и их последующему коллапсу с формированием мощных микроструй (джетов), ударных волн и температурных всплесков, частицы дисперсной фазы подвергаются агрессивному деструктурирующему механическому воздействию. Вследствие этого изменяется степень дисперсности обрабатываемой среды, увеличивается суммарная площадь поверхности частиц, что приводит к увеличению скорости диффузии компонентов дисперсной фазы в дисперсионную среду. Результатом этого является изменение вязкости системы, плотности, коэффициента поверхностного натяжения, насыщение ароматической составляющей, увеличение степени гомогенизации и т.д. (Федосенко и др., 2022). Возникающие сопутствующие сонохимические эффекты способствуют также и химической модификации образующих систему компонентов (Paniwnyk et al., 2016; Carrillo-Lopez et al., 2017). В совокупности, фундаментальные физические принципы, лежащие в основе кавитационных процессов (Leong et al., 2011), предполагают возможность деструктивного воздействия на отдельные структурные и химические компоненты микроорганизмов, присутствующих в пищевых системах, что, в идеале, должно способствовать проявлению некоторого стерилизующего (антибиотического) эффекта. (Антушева, 2011; Герасимов & Сучкова, 2014; Ansari et al., 2017; Lv et al., 2019; Liao, 2022). Сочетание такой возможности с технологическим потенциалом позволило бы сделать процесс получения жидкобобразных пищевых систем с повышенной микробиологический безопасностью достаточно эффективным.

Однако в настоящее время отсутствует цельного представления о степени влияния параметров ультразвукового излучения на микроорганизмы различной таксономической принадлежности, различных групп по строению клеточных оболочек, а также — микробиальные биоплёнки. Такое

представление должно обеспечивать возможность адекватного прогнозирования технологических режимов ультразвуковой антимикробной обработки.

Цель данного обзора заключается в систематизации представлений об особенностях влияния параметров ультразвуковой кавитационной обработки, в том числе и с учётом сопутствующих технологических факторов, на микрофлору и образуемые ею биоплёнки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Протокол и заявление о прозрачности

Протокол исследования включал триггерные позиции принадлежности анализируемых источников к экспериментальным и теоретическим исследованиям, касающимся воздействия ультразвукового излучения на устойчивость вегетативных и споровых форм микроорганизмов. В протокол были включены позиции воспроизводимости описываемых экспериментальных исследований, а также аргументированность и адекватность выводов и заключений теоретических исследований (в том числе обзоров). Протокол не размещали и не регистрировали на внешних репозиториях протоколов. Авторы подтверждают, что настоящая работа представляет собою честное, точное и прозрачное изложение проведённых исследований и что никакие важные аспекты не были упущены, либо проигнорированы.

Стратегия поиска

Поиск проводили в базах ScienceDirect, PubMed, Mendeley, Google Scholar, РИНЦ по основанию принадлежности анализируемых источников к исследованиям, касающимся обработки ультразвуковым излучением с фиксированными условиями реализации процесса культур микроорганизмов идентифицированной таксономической принадлежности, представленных в виде суспензий спор или вегетативных клеток, а также — биоплёнками. Период поиска охватывал период с 1993 по 2023 гг. Использовали комбинации ключевых слов — «ультразвуковая обработка», «ультразвуковая кавитация», «акустическая кавитация», «микроорганизмы», «кинетика гибели», «коллапс» — в русском и английском вариантах.

Исследуемая группа и критерии отбора

В исследуемую группу вошли статьи, диссертации, монографии и обзоры (в том числе — главы в монографиях), в которых авторы обсуждали проблему применения ультразвуковой обработки для достижения антибактериального эффекта и его возможные механизмы. В группу были включены электронные документы на русском, английском, немецком и французском языках, включающие оригинальные исследования, либо обзорный анализ совокупности таковых. Выборка была ограничена глубиной поиска и частотным диапазоном ультразвукового излучения в интервале от 18 до 1000 кГц.

Скрининг и извлечение данных

Из отобранных источников извлекалась информация относительно отклика микроорганизмов на воздействие ультразвукового излучения, опубликованная в официально опубликованных научных электронных материалах, находящихся в открытом доступе, либо доступных для изучения посредством сервиса научной коммуникации ResearchGate.

Анализ данных

В результате поиска по выбранным критериям было найдено 17 200 публикаций. Из них были исключены нерецензируемые, малоинформативные и дублирующие источники, а также источники, не относящиеся к теме исследования. При дублировании и/или дополнении предпочтения отдавали объектам в сторону уменьшения глубины поиска. В отдельных случаях, если того требовал контекст анализируемого материала, были использованы внутренние ссылки к материалам давностью более 30 лет. В результате в обзор вошли материалы анализа 110 публикаций, среди которых доля статей старше 30 лет не превысила 5,45 %. Доля статей в пределах от 30 до 20 лет составила 2,73 %, от 20 до 10 лет — 32,73 %, материалы не старше 10 лет составили более 59,09 %. Отдельные рисунки и таблицы были адаптированы для представления материала в данной статье. Отдельные численные данные, представленные в анализируемых источниках, были обработаны с использованием программного обеспечения

Microsoft Excel 2010 (Microsoft Co.) и TableCurve 2D v.5.01 для установления наличия, либо отсутствия синергических эффектов.

Отклонения от протокола исследования

Среди проанализированных источников, вопреки протоколу, было небольшое количество старше 30 лет. Данные источники были включены в обзор для отражения первичной аргументации *ab initio* к использованию ультразвука для достижения antimикробного эффекта. Кроме того, в силу высокой степени разрозненности экспериментальных данных, представленных разными исследователями и исследовательскими группами, отдельные массивы данных были нами дополнительно обработаны.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние ультразвуковой кавитационной обработки на микроорганизмы

Как отмечают Nakonechny и Nisnevith (2021), впервые практическое применение ультразвуковой обработки для инактивации микроорганизмов было представлено в (Harvey & Loomis, 1928). Однако справедливости ради стоит заметить, что в последней статье приведена лишь ссылка на более раннюю работу (Wood & Loomis, 1927), где впервые исследовано влияние ультразвукового излучения на биологические объекты. При этом Wood и Loomis (1927) установили деструктивное воздействие ультразвуковой обработки высокой интенсивности частотой от 100 до 500 кГц на нитчатые водоросли *Spirogyra* и клетки инфузории туфельки (*Paramecium*). Авторы отмечали необратимое повреждение клеточных оболочек: клетки были механически разорваны. Исследование Wood & Loomis (1927) способствовало дальнейшим исследованиям в направлении усиления деструктирующего влияния ультразвука. Впоследствии было исследовано влияние ультразвуковой обработки на степень повреждения клеточной структуры микроорганизмов как таковой (Harvey & Loomis, 1929; Carstensen, 1986).

Ограниченнность antimикробного эффекта не позволяла применять ультразвуковую обработку в ка-

чество метода инактивации микрофлоры (Cameron et al., 2008). Тем не менее, ультразвуковая обработка привлекает внимание как одновременно нетермический и нехимический метод контролируемого снижения микробиологической обсеменённости жидких пищевых систем (Carrillo-Lopez et al., 2017; Антушева, 2013), преимущество которого заключается в отсутствии побочных эффектов, характерных для обычной тепловой или химической обработки (Knorr et al., 2004; Lv et al., 2019; Tiwari et al., 2008; Dubrovi et al., 2011; Canesan et al., 2015; Zou & Jiang, 2016; Aadil et al., 2018; Onyeaka et al., 2021).

Со временем совершенствовалась не только техника обработки, но и ассортимент используемых сред. Так, эффект инактивации микроорганизмов в процессе ультразвуковой обработки был отмечен во фруктовых соках (Char et al., 2010), яблочном сидре (Lee et al., 2013; D'amico et al., 2006), экстрактах (Герасимов и Сучкова, 2014) и рассоле (Красуля и др., 2016). В работах (Аверина и др., 2018; Промтов и др., 2015) изучен антимикробный эффект ультразвуковой кавитационной обработки при подготовке водопроводной питьевой воды. Было установлено, что на степень выраженности антимикробного эффекта ультразвукового излучения низкой частоты в отношении отдельных представителей бактериальной микрофлоры (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) оказывает влияние как интенсивность ультразвука, так и его частота (Scherba et al., 1991). Дальнейшее совершенствование представлений о механике про-

цесса показало, что применение ультразвуковой обработки в пищевых средах предполагает необходимость исследования особенностей распределения акустического давления или интенсивности в пространстве воздействия. При этом в качестве основного механизма ультразвукового воздействия преимущественно рассматривались локальные преобразования акустической энергии в тепловую, и уже непосредственное влияние последней на целевой объект (Антушева, 2013; Filonenko & Khokhlova, 1999).

Развитие представлений о динамике процесса с включением и факторов и соохимической природы вследствие коллапса кавитационных каверн в процессе обработки жидкой среды, позволило предположить, что если в её объёме в это время будут находиться микроорганизмы, то кавитационные эффекты ультразвукового излучения могут способствовать необратимому нарушению структур клеточных оболочек в отношении её целостности, а также изменения концентрации растворённых компонентов в составе цитоплазмы за счёт изменения равновесной концентрации веществ вне и внутри клетки (Nakonechny & Nisnevith, 2021; Onyeaka et al., 2021; Потороко и др., 2013; Majid et al., 2015; Huang et al., 2017; Rani et al., 2020). На эффективность процесса немаловажно влияние оказывает интенсивность ультразвукового излучения (Cameron et al., 2008). Сочетание интенсивности с частотой во многом определяет биологический эффект ультразвуковой обработки (Рисунок 1).

Рисунок 1

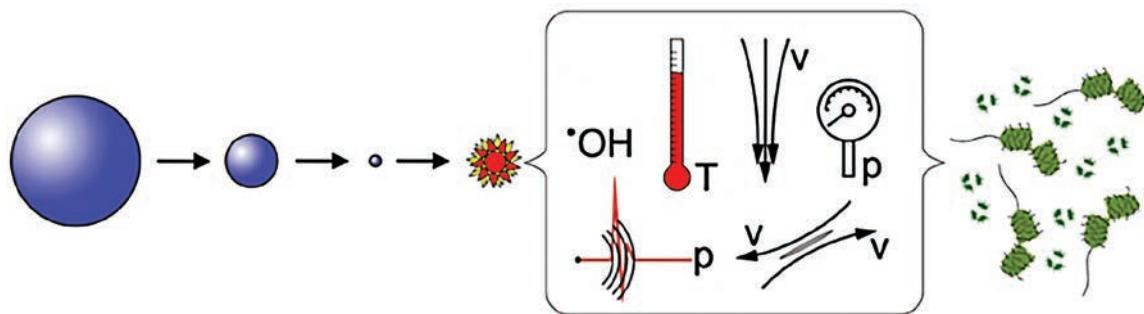
Биологические эффекты ультразвуковой обработки в зависимости от частоты и интенсивности излучения

Высокая частота (> 500 кГц)			
Высокая интенсивность (> 5 Вт/см ²)	Низкая интенсивность (< 3 Вт/см ²)		Низкая частота (< 500 кГц)
	– дезинтеграция колоний бактерий;	– увеличение проникновения химических агентов;	
	– гибель бактерий	– стимуляция регенерации ткани	
	– акустический биоцидный эффект;	– увеличение активности химического агента;	
	– ультразвуковая очистка поверхностей	– увеличение бактериального роста	

Примечание. Из "Biological and physiochemical methods of biofilm adhesion resistance control of medical-context surface," Y. Li, X. Li, Y. Hao, Y. Liu, Z. Dong, & K. Li, 2021, *International Journal of Biological Sciences*, 17(7), c. 1775 (<https://doi.org/10.7150/ijbs.59025>). Copyright 2021 by the Ivspring International Publisher.

Рисунок 2

Ультразвуковое воздействие на микроорганизмы



Примечание. Из “Effects of cavitation on different microorganisms. The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research,” M. Zupanc, Ž. Pandur, T. S. Perdih, D. Stopar, M. Petkovšek, & M. Dular, 2019, *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 147–165, Graphical abstract (<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>). Copyright 2019 by the Elsevier B.V.

Таким образом, антимикробный эффект ультразвукового излучения является следствием совокупного влияния механического, термического иsonoхимического воздействия на микробиальные клетки, что возможно только в условиях возникновения в жидкообразной среде коллапсирующей акустической кавитации (Рисунок 2).

Эти выводы подтверждаются результатами исследований отечественных и зарубежных исследователей (Антушева, 2013; Carstensen, 1986; Аверина и др., 2018; Piyasena et al., 2003; Yusaf & Al-Juboori, 2014; Yusof et al., 2016; Красуля и др., 2015; Zupanc et al., 2019).

При этом, как отмечают Runyan et al. (2006), наибольшая гибель микроорганизмов происходит в начальные моменты воздействия кавитационного воздействия, тогда как полное обеззараживание – уже при равномерном распределении кавитационного эффекта в объеме обрабатываемой среды. В свою очередь Ansari et al. (2017) в качестве одного из основных механизмов антимикробного эффекта рассматривается образование свободных радикалов, атакующих затем генетический аппарат микробиальных клеток.

Особенности влияния на грамположительные и грамотрицательные и микроорганизмы

Проявление эффекта ультразвуковой обработки на бактериальную микрофлору, предположительно, может быть следствием совокупного проявле-

ния нескольких механизмов. Так, при коллапсирующей кавитации, когда в жидкообразной среде энергии ультразвукового излучения достаточно для преодоления порога Блейка и верхнего порога Неппайраса, антимикробный эффект, вероятно, связан с возникновением интенсивных микроджетов у поверхности бактериальной клетки, образующихся в процессе коллапса кавитационных каверн. Возникающие в результате деформационные сдвиги могут приводить к различной степени механического нарушения целостности клеточных оболочек и, в итоге, – к их разрушению. Carstensen (1986) полагает, что в условиях ультразвуковой обработки повреждение микробиальных клеток происходит только вследствие кавитационного коллапса. С другой стороны, в при непреодолении указанных порогов, когда отсутствуют условия возникновения коллапсирующей кавитации, имеет место так называемая стабильная кавитация – некоторое ступенчатое нарастание линейных размеров кавитационных каверн без их финального схлопывания, с пульсацией на резонансной частоте. Runyan et al. (2006) отмечают, что возникающие при кавитационном коллапсе местные сдвиговые процессы также могут приводить к некоторым деформационным эффектам на бактериальные клеточные мембранны, сопровождающимся увеличением проницаемости последних к агрессивным агентам, которые могут присутствовать и/или образовываться во внешней по отношению к микроорганизмам среде, и к которым при обычных условиях микроорганизмы достаточно устойчивы – свободных радикалов, антибиотиков и др. Таким образом, эффекты воздействия ультразвукового излучения

на микроорганизмы с разной геометрической формой и анатомическим строением бактериальных оболочек неизбежно должны различаться.

Наибольшее анатомическое различие в строении клеточных стенок имеет место у грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (Рисунок 3). Относительно толстый внешний слой пептидогликанов, пронизанный многочисленными нитями тейхоевой кислоты, представляет собою относительно подвижный демпфер для местных сдвиговых, струйных и ударных деформационных воздействий.

С другой стороны, в силу высокой инертности и вязко-пластичности, данный слой образует эластичный разрывоустойчивый каркас, что придаёт клеточным оболочкам существенное преимущество в стрессовых условиях воздействия ультразвукового излучения. Вследствие этого, как отмечено Nakonechny & Nisnevith (2021) и Zupanc et al. (2019), грамположительные бактерии проявляют большую стойкость к воздействию ультразвуковой обработки, чем грамотрицательные.

В то же время двухслойные клеточные оболочки грамотрицательных микроорганизмов, имеющие преимущество в нормальных условиях перед однослойными оболочками грамположительными вследствие весьма ограниченной проницаемости

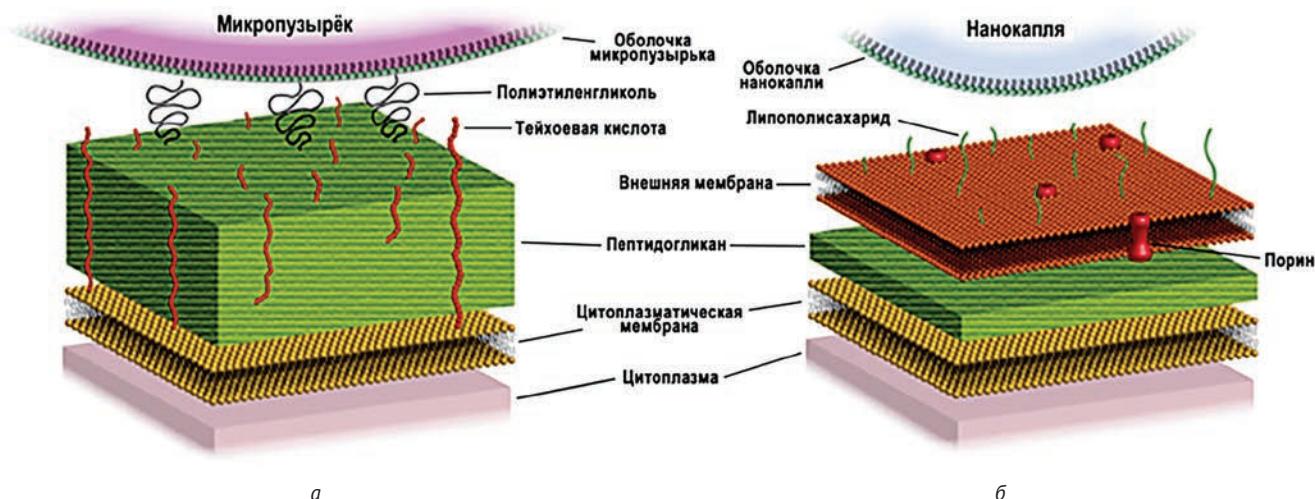
агрессивных агентов из внешней среды, в условиях деструктурирующего кавитационного влияния ультразвуковой обработки в значительной степени это преимущество утрачивают. Причина тому — деформация, повреждение и нарушение целостности внешнего слоя клеточной оболочки при воздействии ультразвукового излучения, в результате чего в отсутствие толстого пептидогликанового слоя (как у грамположительных микроорганизмов) резко увеличивается проницаемость оставшейся неповреждённой части клеточных стенок, либо же повреждение или их разрушение. Данный эффект экспериментально подтверждён в работах Промтов (2008), He et al. (2021), Sambegoro et al. (2021) и Guo et al. (2021) (Рисунок 4).

Исследования влияния ультразвуковой обработки на грамположительные микроорганизмы вида *Bacillus subtilis* (Scherba et al., 1991; Guo et al., 2021; Joyce et al., 2003) показали достаточно малую целевую эффективность: концентрация выживших клеток уменьшалась не более чем на 0,7 порядка при продолжительности обработки в пределах 15–20 минут.

В исследованиях Li et al. (2016), Li et al. (2017) и Liao et al. (2018) микроорганизмы вида *S. aureus* демонстрировали в отдельных случаях чуть больший эффект воздействия ультразвука — до одного порядка. При этом сравнительная оценка данных,

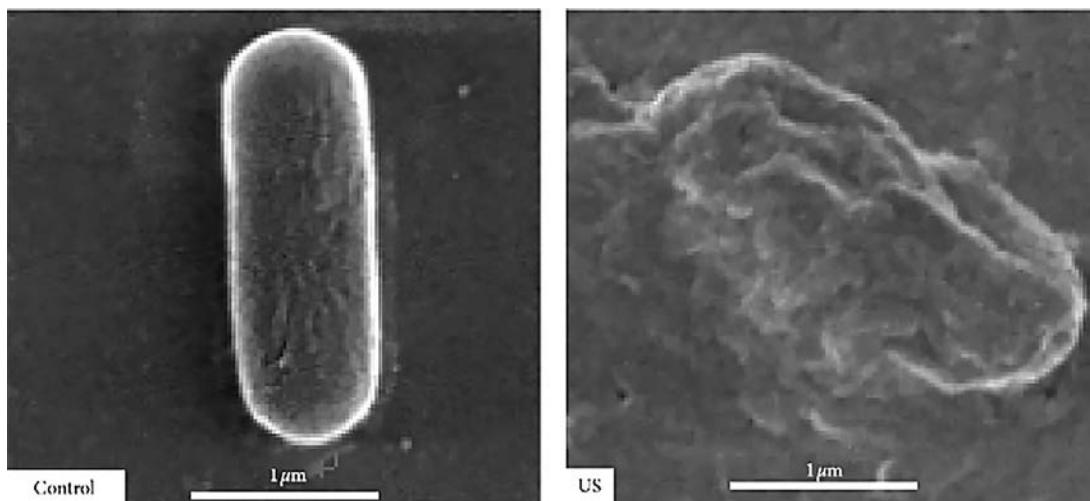
Рисунок 3

Структура клеточной стенки грамположительных (а) и грамотрицательных (б) бактерий



Примечание. Из "Sono bactericide: An Emerging Treatment Strategy for Bacterial Infections," K. R. Lattwein, H. Shekhar, J. J. P. Kouijzer, W. J. B. Van Wamel, C. K. Holland, & K. Kooiman, 2020, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 46(2), с. 198 (<https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.09.011>). Copyright 2020 by the World Federation for Ultrasound in Medicine & Biology.

Рисунок 4

Повреждение клеточной оболочки *E. coli* в результате ультразвуковой кавитационной обработки

Примечание. Control – до обработки; US – после обработки.

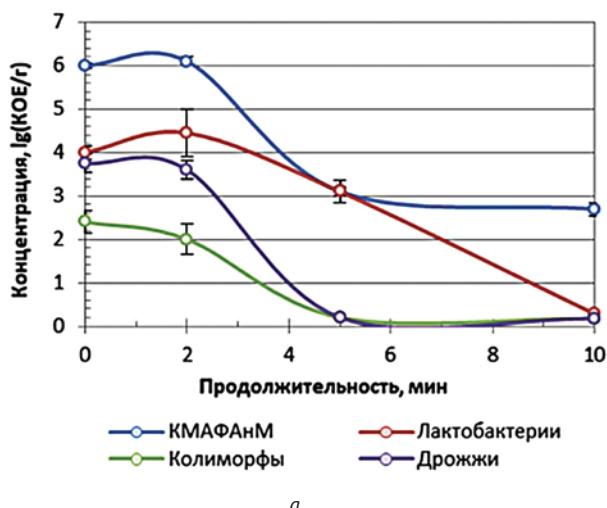
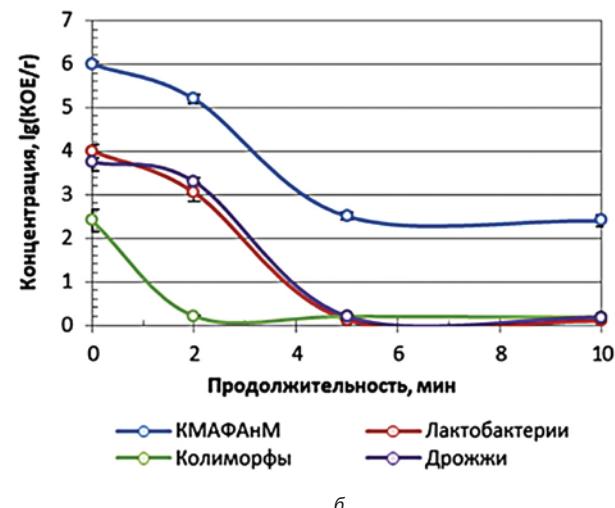
Из “Efficacy and Mechanism of Ultrasound Combined with Slightly Acidic Electrolyzed Water for Inactivating *Escherichia coli*,” L. Guo, X. Zhang, L. Xu, Y. Li, B. Pang, J. Sun, B. Wang, M. Huang, X. Xu, & H. Ho, 2021, *Journal of Food Quality*, Article ID 6689751, c. 5 (<https://doi.org/10.1155/2021/6689751>). Copyright 2021 by Hindawi, Open Access publishing for the scientific community.

представленных в работах, показывает интересную закономерность: при частоте ультразвука 20 кГц увеличение интенсивности акустического излучения с 60 до 300 Вт/см² приводило к снижению антимикробного эффекта с одного до 0,3 порядка. С другой стороны, в более поздних исследованиях (Starek et al., 2021) показана диаметрально противоположная тенденция: чем выше интенсивность, тем больший эффект.

Данная тенденция отмечена как для грамположительных, так и для грамотрицательных микроорганизмов (Рисунок 5).

Рисунок 5

Влияние продолжительности интенсивности ультразвуковой обработки на кинетику гибели микрофлоры в томатном соке

Примечание. а – 28 Вт/см²; б – 40 Вт/см²

Из “Influence of ultrasound on selected microorganisms, chemical and structural changes in fresh tomato juice,” A. Starek, Z. Kobus, A. Sagan, B. Chudik, J. Pawłat, M. Kwiatkowski, P. Terebun, & A. Dariusz, 2021, *Scientific Reports*, 11, 3488 (<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83073-8>). Copyright 2021 by Springer Nature Limited.

Результаты отдельных исследований показывают отсутствие полной однозначности в отношении устойчивости грамположительных микроорганизмов к обработке ультразвуковым излучением. Так, в отношении того же *B. subtilis* Gao et al. (2014a) показали антимикробный эффект в пределах 4,5 порядка при частоте 20 кГц и продолжительности процесса 20 минут. Позже при тех же условиях обработки эффект в 3,2 и 4 порядка отмечен, соответственно, в работах Bastarrachea et al. (2017) и Inguglia et al. (2018) в отношении *Listeria innocua*. Возможно, в данных исследованиях ключевую роль сыграли особенности среды, в которой находились микроорганизмы в момент оказания на них внешнего воздействия: во всех трёх исследованиях в качестве таковой выступала питательная среда, адаптированная к данным видам микроорганизмов. То есть в среде, обогащённой нутриентами, в процессе ультразвуковой обработки возникали условия, в значительной степени снижающие устойчивость микроорганизмов, несмотря на особенности строения клеточных оболочек.

В то же время Hawrylik (2019) на примере грамположительных бактерий рода *Sarcina* показано клю-

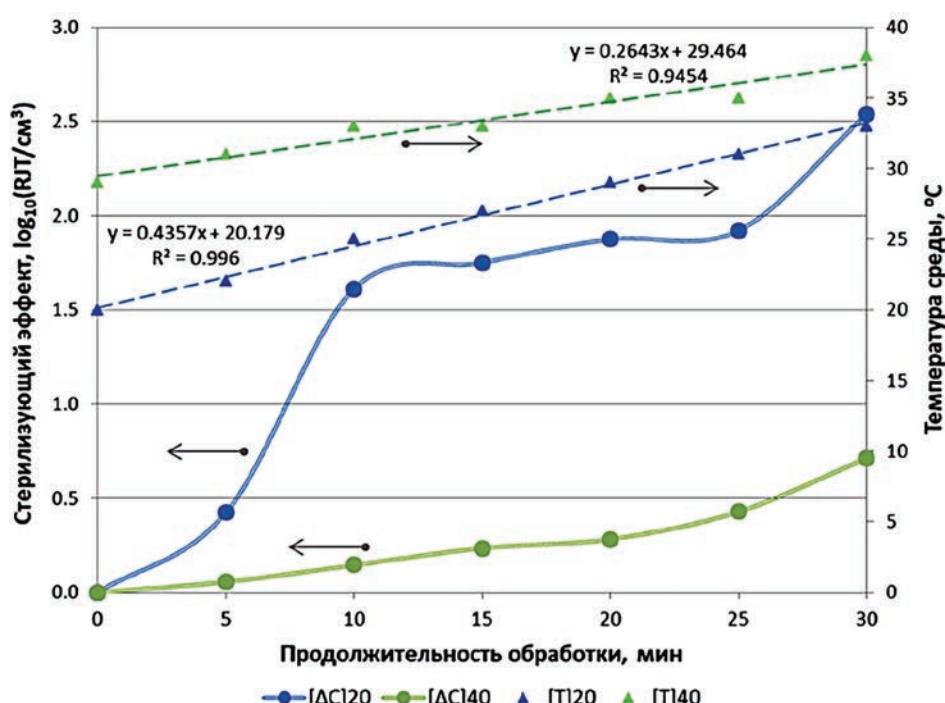
чевое влияние частоты ультразвукового излучения на антимикробный эффект (Рисунок 6). Примечательно, что увеличение частоты с 20 до 40 кГц после 30-минутной обработки приводило к уменьшению эффекта с ~2,5 порядков до менее 1.

Вероятно, такое уменьшение эффекта связано с не преодолением кавитационных порогов при прочих равных условиях в варианте с большей частотой излучения.

В отношении грамотрицательных микроорганизмов проявление антимикробного эффекта ультразвуковой обработки демонстрирует соответствие ожидаемому (Scherba et al., 1991; Li et al., 2017; Liao et al., 2018; Tandiono et al., 2012). Для разных видов микроорганизмов имело место различия в проявлении эффекта: от 2,7 порядков для *Pseudomonas aeruginosa* (Runyan et al., 2006) до 4,5–5 порядков для *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella spp.*, *S. boydii* и *E. coli* (Gao et al., 2014a; Gao et al., 2014b; Ramteke et al., 2020). При этом немаловажную роль играет как частота ультразвукового излучения, так и продолжительность обработки (Zupanc et al., 2019). Так,

Рисунок 6

Влияние частоты (20 и 40 кГц) и продолжительности ультразвуковой обработки на температуру среды (Т) и антимикробный (стерилизующий) эффект (ΔC) в отношении бактерий рода *Sarcina*



Примечание. Обработано по данным из “Ultrasonic Disintegration of Bacteria Contained in Treated Wastewater,” E. Hawrylik, 2019, *Journal of Ecological Engineering*, 20, 171–176 (<https://doi.org/10.12911/22998993/112493>). Copyright 2019 by Polish Society of Ecological Engineering.

достаточно малый антимикробный эффект в отношении *Salmonella enterica* (около 1 порядка), показанный в работе (Cabeza et al., 2010), вероятно, связан с довольно малой продолжительностью: всего 48 с против 4–60 минут в других работах (Cameron et al., 2008; Inguglia et al., 2018; Hunter et al., 2008; Lee et al., 2009), показывает, что при частоте излучения 20 кГц увеличение продолжительности обработки *E. coli* с 3 до 60 минут увеличивает эффективность с 2 до 6 порядков. Кроме того, как показали Nishiguchi K. с коллегами (2021) для *E. coli*, изменение частоты излучения нелинейно влияет на кинетику гибели, максимально проявляя себя при 430 кГц. Похожие результаты в отношении этого вида микроорганизмов зафиксировали и Joyce et al. (2011) при частоте 580 кГц. Однако и в данном случае имеют место противоречивые данные: при схожих условиях обработки Koda et al. (2009) отметили эффект, не превышающий 1 порядка.

Оригинальный механизм повреждения клеточных оболочек микроорганизмов вида *E. coli* представлен в исследованиях Cameron et al. (2008). Было отмечено возникновение под действием ультразвуковой обработки микропузырьков с размерами, не превышающими 620 нм. Они проявляли стабильность в течение всего периода обработки. Микроскопированием было установлено присутствие этих микропузырьков как внутри, так и снаружи клеток микроорганизмов. Как полагают Cameron M. с коллегами, образовавшиеся микропузырьки связаны с липополисахаридными мембранами и могут формироваться из внешней и внутренней клеточных мембран грамотрицательных бактерий при их кавитационной деструкции.

Capocelli et al. (2014) предложили модель, предлагающую, что темп ультразвуковой деструкции микроорганизмов пропорционален удельному количеству коллапсов с энергией, достаточной для преодоления некоторого энергетического минимума (энергии активации), необходимого для повреждения микробиальной клетки. То есть темп кавитационной инактивации микрофлоры обрабатываемой среды можно рассматривать в зависимости от произведения частоты коллапсов на количество образующихся кавитационных каверн в единице объёма.

В соответствии со спецификой ультразвукового кавитационного процесса и факторов, его опреде-

ляющих, для реализации антимикробного эффекта в жидких пищевых системах, предположительно, имеет целесообразность применения низкочастотной ультразвуковой обработки высокой интенсивности (Антушева, 2013; Потороко и др., 2013; Красуля и др., 2015; Тихомирова и др., 2011). При этом в обязательном порядке следует учитывать, что в процессе ультразвукового воздействия в объёме обрабатываемой среды могут иметь место локальные области пространства, в которых, статистически, скопления микроорганизмов не будут подвергаться инактивации, уменьшая таким образом общую эффективность обработки (Капустин & Красуля, 2016). Следовательно, чем выше концентрация микроорганизмов, тем продолжительнее должно быть воздействие для достижения стерильизующего эффекта (Антушева, 2013). С уменьшением концентрации соответственно уменьшается и интенсивность деструкции: чем меньше микроорганизмов в среде, тем меньше их попадает в зону коллапсирующих каверн. С другой стороны, антимикробная эффективность может быть увеличена принудительным насыщением воздухом или газом для создания условий интенсификации кавитационного процесса.

В целом, на эффективность ультразвуковой обработки оказывает влияние сразу комплекс факторов, таких как частота и интенсивность акустического излучения, продолжительность процесса, температура среды, давление, интенсивность кавитационного эффекта (Антушева, 2013; Ganesan et al., 2015; Raso et al., 1998; Eliseev et al., 2017), вид пищевой среды, её плотность и динамическая вязкость, коэффициент поверхностного натяжения, активная кислотность (Антушева, 2013; Zupanc et al., 2019; Cárcel et al., 2012), степень обсеменённости микроорганизмами и др. При варьировании этих факторов можно в итоге добиться как инактивации микроорганизмов, так и стимуляции роста и развития (D'amico et al., 2006; Попова & Фатеева, 2014). При ультразвуковой обработке последнее является нежелательным эффектом (Шестаков и др., 2011).

Однако Li et al. (2016) и Butz & Tauscher (2002) эффективность применения только ультразвуковой обработки для снижения контаминации сред ставится под сомнение в силу нестабильного антимикробного эффекта. По мнению Carrillo-Lopez et al. (2017) сочетание с другими методами обработки может приводить к увеличению целевой эффективности.

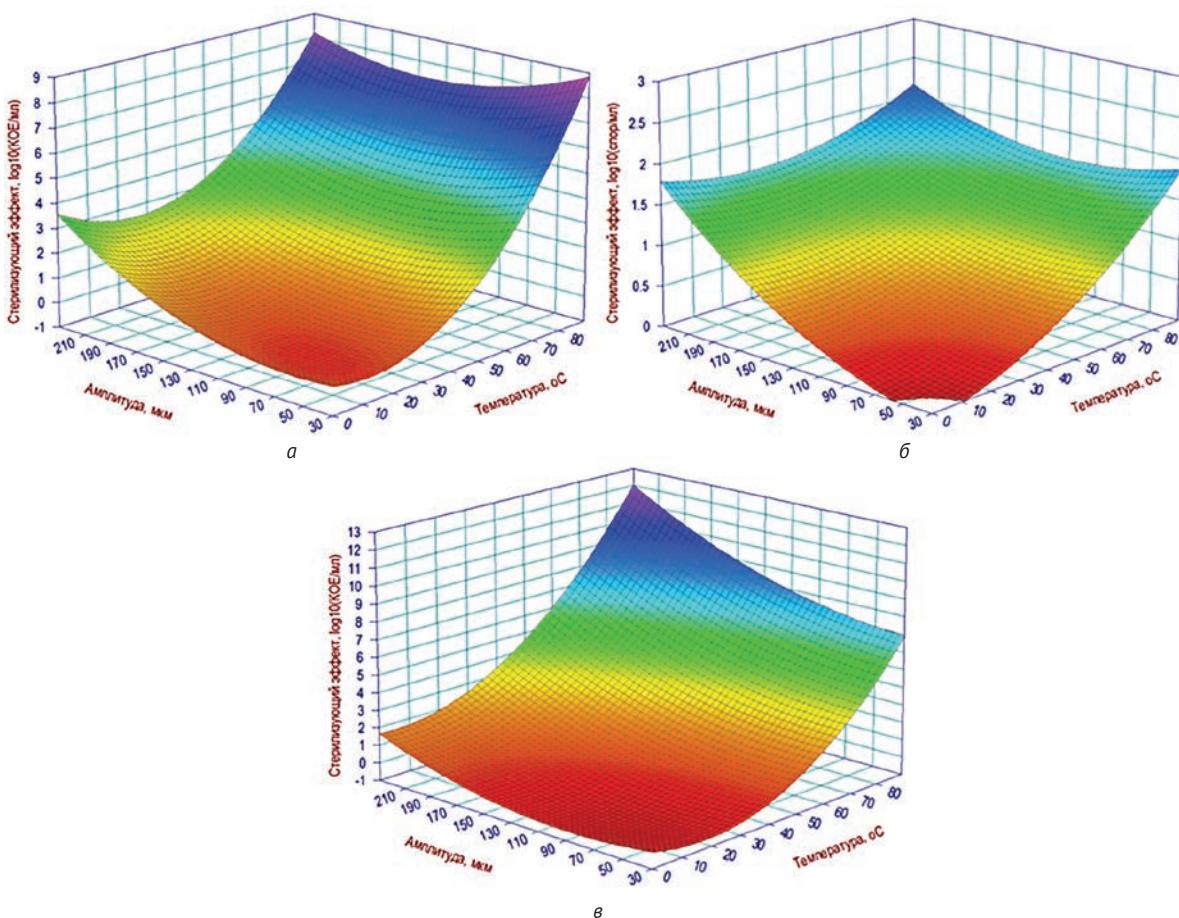
Влияние комбинированной обработки на инактивацию микроорганизмов в жидких пищевых средах

В последние годы проводились исследования, посвящённые применению нетермических технологий для снижения интенсивности теплового воздействия при стерилизации сред путём комбинирования ультразвуковой и термической обработки (Lv et al., 2019). Результаты исследований Gera & Doores (2011) подтвердили целесообразность применения совместного воздействия ультразвука (частота 22 кГц, мощность 85 Вт) и температуры (35 °C) для инактивирования микроорганизмов рода *Listeria* и вида *E. coli* в цельном и обезжирен-

ном молоке. Также положительный эффект комбинированной обработки был установлен в отношении бактериальной микрофлоры морсах (при пастеризации) (Иванова и др., 2019), в молоке (Ganesan et al., 2015; D'amico et al., 2006; Rani et al., 2020; Bermúdez-Aguirre et al., 2009a; Bermúdez-Aguirre et al., 2009b; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012; Czank et al., 2010; Abesinghe et al., 2019), а также бактерий и дрожжей в апельсиновом соке (Ganesan et al., 2015; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012; Shen et al., 2021). При этом зависимость антимикробного эффекта от амплитуды излучения и температуры носит выраженный нелинейный характер (Рисунок 7).

Рисунок 7

Влияние температуры и амплитуды ультразвуковой обработки на антимикробный (стерилизующий) эффект в отношении нативной микрофлоры (а) и инокулята спор *Bacillus atrophaeus* (б) в молоке и инокулята *S. cerevisiae* в апельсиновом соке (в)



Примечание. Из “Determining the effects of high intensity ultrasound on the reduction of microbes in milk and orange juice. Using response surface methodology,” B. Ganesan, S. Martini, J. Solorio, & K. W. Marie, 2015, *International Journal of Food Science*, Article ID 350719, с. 5 (<https://doi.org/10.1155/2015/350719>). Copyright 2015 by Hindawi, Open Access publishing for the scientific community.

В других исследованиях при применении комбинированного воздействия отмечено снижение концентрации *E. coli*, *Salmonella enteritidis* в соке из манго (Kiang et al., 2013), виноградном соке (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012), апельсиновом соке (Valero et al., 2007; Muñoz et al., 2011), томатном соке (Adekunle et al., 2010). Антимикробный эффект имел место и в отношении аскоспор *Saccharomyces cerevisiae* при комбинированной обработке пива (Milani & Silva, 2017). Исключением не стали и среды из мясного сырья. Так в работах (Evelyn & Silva, 2015) установлен некоторый эффект (в пределах 1.5 порядка) в отношении *Clostridium perfringens* при комбинированной обработке говяжьего фарша.

Анализ результатов исследований Shen et al. (2021) показал, что в отношении ультразвуковой обработки ключевым фактором является не столько произведение мощности излучения и продолжительности обработки, определяющее дозу, но так-

же и градиент акустической энергии, выраженный мощностью:

$$F = (W \cdot \tau) \cdot W = W^2 \cdot \tau, \quad (1)$$

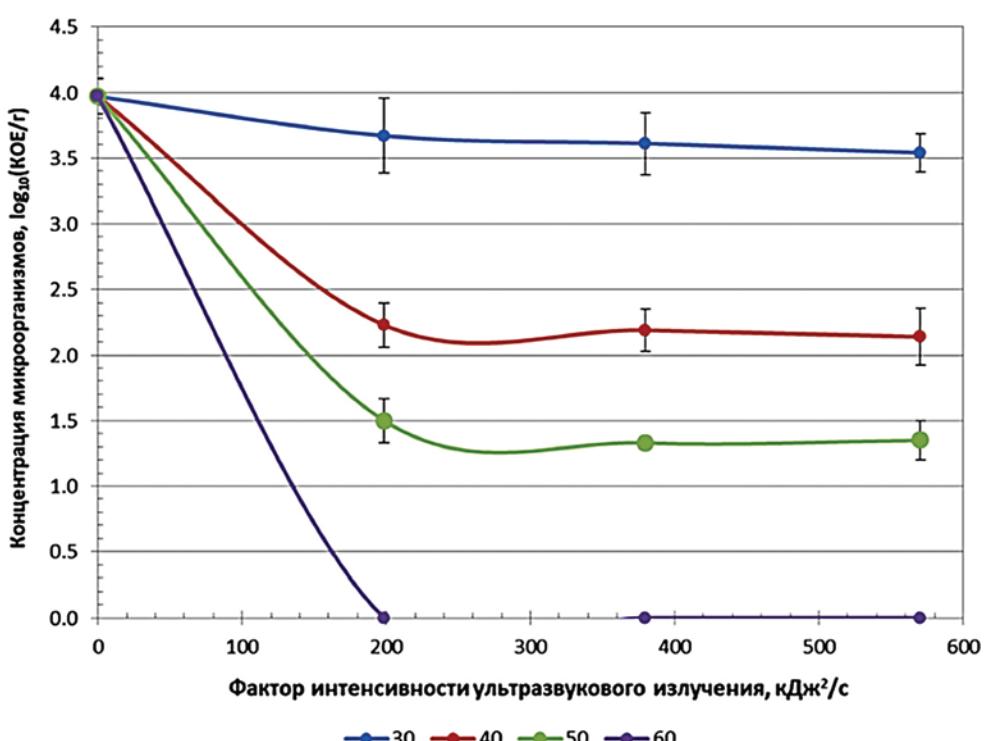
где F – фактор интенсивности ультразвукового излучения, $\text{Дж}^2/\text{с}$; W – мощность ультразвукового излучения, Вт ; τ – продолжительность обработки, с.

При этом, в нормированной метрике процесса, явным становится влияние температуры на общую эффективность обработки. Так, увеличение температуры с 35 до 60 °C приводило к уменьшению концентрации микрофлоры в неосветлённом яблочном соке с ~0,5 до более чем 4 порядков (Рисунок 8).

Ожидаемое положительное влияние температуры на проявление антимикробного эффекта ультразвуковой обработки отмечено также в (Cameron, 2007).

Рисунок 8

Влияние фактора интенсивности ультразвукового излучения и температуры среды на кинетику выживаемости бактериальной микрофлоры в неосветлённом яблочном соке



Примечание. Из “Effects of temperature-controlled ultrasound treatment on sensory properties, physical characteristics and antioxidant activity of cloudy apple juice,” Y. Shen, D. Zhu, P. Xi, T. Cai, X. Cao, H. Liu, & J. Li, 2021, LWT, 142, 111030 (<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111030>). Copyright 2015 by Elsevier Ltd.

Таблица 1

Влияние ультразвуковой, тепловой и комбинированной обработки на патогенные микроорганизмы в молоке

Вид микро-организмов	Условия обработки					
	US**	US + 52 °C	63 °C	US + 63 °C	72 °C	US + 72 °C
<i>Escherichia coli</i>	5.72*/1,93	3,96/2,14	1,44/4,61	5,991/0,75	n.c.	6,172/0,26
<i>Bacillus cereus</i>	1,41/n.c.	0.31/n.c.	0.06/n.c.	0.56/n.c.	0.07/n.c.	0.65/n.c.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0.91/n.c.	1.58/5.53	1.68/3.68	4.68/2.20	6.241/0.45	6.481/n.c.
<i>Micrococcus luteus</i>	1.32/5.85	0.84/n.c.	0.02/n.c.	1.59/2.93	3.16/3.14	6.221/0.76

Примечание. US – ультразвуковая обработка 10 мин (если не указано иное), 750 Вт, 20 кГц; * в числителе антимикробный эффект обработки, $\log_{10}(\text{КОЕ}/\text{см}^3)$ / в знаменателе – показатель устойчивости D , мин; ** ультразвуковая обработка при температуре среды 25 °C; ¹ продолжительность обработки 4 мин; ² продолжительность обработки 2 мин; п.с. – не определено

Из “Impact of low-frequency high-power ultrasound on spoilage and potentially pathogenic dairy microbes,” M. Cameron, 2007, Dissertation for the degree of Ph.D. in Food Science. Stellenbosch: University of Stellenbosch (<https://core.ac.uk/download/pdf/37319109.pdf>). Copyright 2007 by University of Stellenbosch.

Однако анализ отдельных представленных в работе данных (Таблица 1) показывает достаточно высокую степень неоднородности в проявлении эффекта в отношении как разных значений температуры, так и разных видов микроорганизмов.

Так, если для *E. coli*, *L. acidophilus* и *M. luteus* сопутствующее увеличение температуры до 72 °C приводило к увеличению эффекта, то в отношении *B. cereus* – имела место прямо противоположная картина. Примечателен факт первоначального снижения эффекта при температуре 52 °C для всех представленных видов микроорганизмов с динамикой его увеличения при дальнейшем повышении температуры. Общность фиксируемых динамик позволяет предположить, что и для *B. cereus* возможно достижение положительного эффекта комбинированной обработки, но уже при более высоких значениях температуры.

Ugarte-Romero et al. (2007) исследуя отклик *Shigella boydii* и *Listeria monocytogenes*, утверждают, что для инактивации микроорганизмов существует некоторый верхний температурный предел (~60 °C), при повышении которого преимущества комбинированной обработки практически нивелируются.

Одним из путей увеличения эффективности ультразвуковой обработки для снижения микробиологической обсеменённости сред является вклю-

чение давления в состав активных факторов. Raso et al. (1998) и Evelyn & Silva (2015), обосновывают, что такой подход способствует инактивации спор микроорганизмов, изначально устойчивых к ультразвуковой обработке.

Сравнительная оценка степени снижения концентрации спор *Bacillus cereus* в вариантах моно- (только ультразвуковой, либо только термической обработкой) и разных сочетаниях комбинированного воздействия (ультразвук и температура, ультразвук и давление, все три вида одновременно) в зависимости от продолжительности обработки (Таблица 2) показывает наличие статистически значимого эффекта тройного сочетания технологических факторов (Lv et al., 2019).

Тройное воздействие сопровождалось частичной деградацией экзоспориума, снижая адгезию спор поверхностей, а также – деградацией кортекса и принудительной гидратацией ядра. Аналитическая обработка представленных в статье Lv et al. (2019) данных показала наличие некоторых синергических эффектов парной (ультразвук и температура) и тройной (ультразвук, температура и давление) обработки по сравнению с суммами эффектов соответствующих моновоздействий (первичный показатель синергизма K) (Рисунок 9).

При этом отношение показателя K для тройной комбинированной обработки к таковому для ком-

Таблица 2Антимикробный эффект моно- и комбинированной обработки спор *B. cereus*

Вид обработки	Продолжительность обработки, мин					
	5	10	15	20	25	30
T	0.05 ± 0.04	0.12 ± 0.03	0.20 ± 0.06	0.26 ± 0.07	0.31 ± 0.08	0.38 ± 0.12
S	0.01 ± 0.06	0.03 ± 0.05	0.08 ± 0.03	0.09 ± 0.07	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.03
TS	0.10 ± 0.07	0.26 ± 0.08	0.41 ± 0.17	0.43 ± 0.07	0.46 ± 0.03	0.51 ± 0.08
MS	0.01 ± 0.03	0.08 ± 0.08	0.15 ± 0.03	0.13 ± 0.06	0.17 ± 0.02	0.30 ± 0.02
MTS	1.18 ± 0.10	1.59 ± 0.01	2.30 ± 0.02	2.80 ± 0.01	3.05 ± 0.01	3.12 ± 0.03

Примечание: T – только температурная обработка при 0°C; S – только ультразвуковая обработка при; TS – комбинированная температурная и ультразвуковая обработка; MS – комбинированная обработка ультразвуком и давлением; MTS – комбинированная обработка температурой, ультразвуком и давлением

Из “Effect of ultrasonication and thermal and pressure treatments, individually and combined, on inactivation of *Bacillus cereus* spores,” R. Lv, M. Zou, T. Chantapakul, W. Chen, A. I. Muhammad, J. Zhou, T. Ding, X. Ye, & D. Liu, 2019, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(5), с. 2333 (<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9559-3>). Copyright 2019 by Springer-Verlag GmbH.

бинации температуры и ультразвука (вторичный показатель синергизма K_2) показывает весомый вклад давления в совокупный антимикробный эффект.

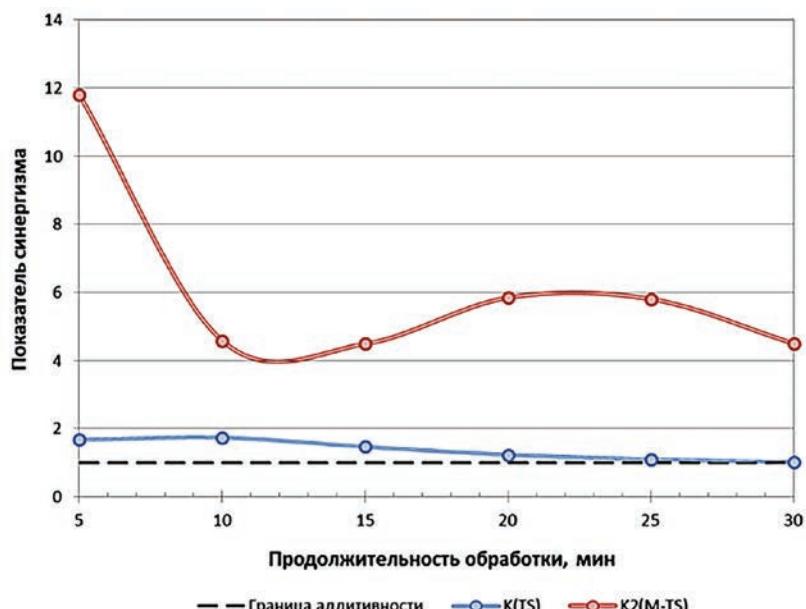
При этом максимум синергизма приходится на первые минуты обработки, с последующим затуханием по истечении 30 мин. На основании результатов исследований Lv R. с коллегами (2019) пола-

гают, что комбинация ультразвуковой обработки в сочетании с термической и давлением могут быть приемлемой альтернативой термической стерилизации.

Эффективность тройной комбинированной обработки в отдельных случаях показывало более высокий результат и для вегетативной формы микрофлоры (Raso et al., 1998; Alvarez et al., 2003;

Рисунок 9

Динамика синергизма видов комбинированной обработки споровой суспензии *B. cereus* в вариантах «температура – ультразвук» (TS) и «давление – температура – ультразвук» (M-TS)



Raso & Barbosa-Canovas, 2003). В качестве одного из ключевых механизмов антимикробного эффекта по (Raso et al., 1998; Evelyn & Silva, 2015; Chemat et al., 2011), предположительно, является усиление интенсивности образования и последующего колапса кавитационных пузырьков как в среде, так и в протоплазме клеток в условиях термического уменьшения вязкости сред и барического повышения растворимости газов.

Влияние ультразвуковой кавитационной обработки на микробные биоплёнки

Большинство видов бактерий, встречающихся в природе, имеют тенденцию в определённых условиях прикрепляться к поверхности объекта, образуя локальные колонии с последующим формированием структурированных экосистем — биоплёнок (Carrascosa et al., 2021; Sun et al., 2021; Zhu et al., 2022). Последние обладают повышенной устойчивостью к внешним неблагоприятным факторам, что является серьёзной проблемой на пути обеспечения высокого уровня микробиологической безопасности при промышленном производстве пищевых продуктов. В этой связи особый интерес вызывают вопросы потенциала эффективности применения ультразвукового излучения для борьбы с биоплёнками.

Процесс образования биоплёнок начинается с адгезии микроорганизмов с последующим формированием и накоплением внеклеточного матрикса, включающего один или нескольких полимерных составляющих белковой и/или полисахаридной природы (Costerton, 1987; Lebeaux & Ghigo, 2012; Galié et al., 2018). Это приводит к некоторому снижению темпа нарастания микрофлоры в глубинных слоях микрофлоры, но одновременно блокирует негативное влияние внешних факторов, что резко повышает устойчивость биоплёнок по сравнению с планктонной формой (отдельными свободно живущими клетками этого же вида микроорганизмов).

Одним из наиболее распространённых методов борьбы с биоплёнками является обработка химическими дезинфициантами. Однако внеклеточный матрикс биоплёнок создаёт условия весьма ограниченного проникновения и диффузии активного агента вглубь, что фактически нивелирует

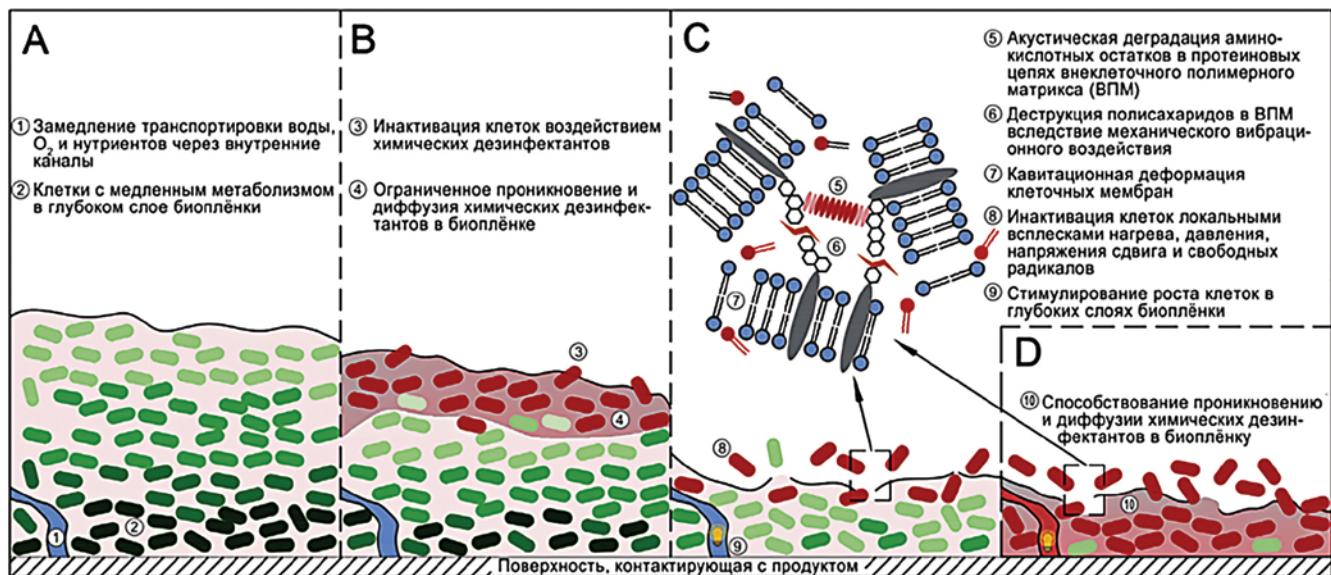
эффективность такого рода обработки (Yu et al., 2020). Попытки частичного механического разрушения структуры биоплёнок скребками практически не оказывает какого-либо значимого эффекта, за исключением механического повреждения обрабатываемых поверхностей.

В соответствии с существующими представлениями, борьбу с биоплёнками можно осуществлять двумя путями: нарушением ранних стадий — на этапе прикрепления планктонных клеток и образование микроколоний, либо разрушением внеклеточного биополимерного матрикса (Ильина & Романова, 2021). Первый путь представляется наиболее эффективным в силу первичной разрозненности бактериальных клеток и отсутствия внеклеточного матрикса. Потенциал эффективности практически гарантирован эффектом профилактики — борьбой с причиной возникновения биоплёнок, что всегда эффективнее борьбы со следствием. Однако у данного пути есть один, но весьма существенный недостаток — необходимость оперативного выявления очагов возникновения биоплёнок практически непосредственно перед самым началом их образования. Это упирается в необходимость наличия глубоких прогностических моделей, учитывающих огромное количество факторов, а также — системы непрерывного мониторинга по каждому из этих факторов. В настоящее время сколько-нибудь эффективное решение данной проблемы отсутствует, и остаётся только поиск методов разрушения внеклеточного матрикса. Nakonechny & Nisnevith (2021) и Vyas et al. (2019) показаны перспективы исследования деструктурирующего влияния ультразвуковой кавитационной обработки на уже сформировавшиеся биоплёнки. При этом для процесса в целом характерно отсутствие повреждения поверхностей-подложки.

При ультразвуковой обработке поверхностей с биоплёнками отдельные авторы отмечали не только разрушение внеклеточного матрикса, но также имело место некоторое снижение концентрации микроорганизмов (Vyas et al., 2019; Erríu et al., 2014). Предположительно это может быть связано с множественным локальным воздействием комплекса явлений, сопровождающих акустический кавитационный процесс: возникновение быстрых микропотоков и микроджетов с ударными волнами, провоцирует возникновение большого напряжения сдвига, приводящее к деформации и ча-

Рисунок 10

Структура биоплёнки (A) и предполагаемые механизмы влияния на неё химической (B), ультразвуковой (C) и комбинированной (D) обработки



Примечание. Из "Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms," H. Yu, Y. Liu, L. Li, Y. Guo, Y. Xie, Y. Cheng, & W. Yao, 2020, *Trends in Food Science & Technology*, 96, с. 95 (<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.010>). Copyright 2020 by Elsevier Ltd.

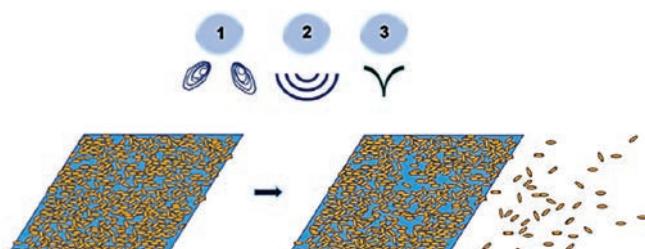
стичной деструкции матрикса и отдельных клеток. В результате, в условиях низкочастотной (до 100 кГц) и высокоинтенсивной (более 10 Вт/см²) обработки происходит физическое нарушение целостности и последующее разрушение клеток (Ильина & Романова, 2021). Кроме того, такая обработка может способствовать агломерации бактериальных флокул, эффект влияния которой на микробные биоплёнки ещё до конца не изучен (Nakonechny & Nisnevith, 2021; Joyce et al., 2003). Сочетание ультразвуковой обработки с обработкой химическими дезинфицирующими агентами может способствовать синергическому антимикробному эффекту за счёт увеличения проникновения и диффузии дезинфицирующего агента в глубинные слои биоплёнки вследствие нарушения целостности структуры внеклеточного матрикса в результате дезинтегрирующего кавитационного воздействия (Yu et al., 2020; Kirzhner et al., 2009; Kvich et al., 2022) (Рисунок 10).

Однако низкочастотное и низкоинтенсивное (≤ 2 Вт/см²) ультразвуковое излучение вместо антимикробного действия, наоборот, может стимулировать метаболизм бактерий в глубинных слоях биоплёнок за счёт интенсификации транспорта кислорода и питательных веществ в более глубокие слои, что приводит к дальнейшему формированию более стабильной и прочной биоплёнки (Erriu et al., 2014).

В целом, процессы, происходящие с биоплёнками при их обработке ультразвуковым излучением, в настоящее время ещё далеки от полного понимания. Так, при обработке, вследствие разрушения биоплёнки, бактериальные клетки могут высвобождаться в окружающую среду в планктонной форме (Рисунок 11). При этом существует ненулевая вероятность их успешного выживания (Nakonechny & Nisnevith, 2021; Babushkina et al., 2022; Bigelow

Рисунок 11

Высвобождение планктонной микрофлоры в результате частичного разрушения биоплёнки при ультразвуковой обработке



Примечание. 1 – микропотоки, 2 – ударные волны, 3 – микроджеты
Из "Different aspects of using ultrasound to combat microorganisms," F. Nakonechny, & M. Nisnevith, 2021, *Advanced Functional Materials*, 2021042, с. 2 (<https://doi.org/10.1002/adfm.202011042>). Copyright 2021 by Wiley-VCH GmbH.

et al., 2008; Bigelow et al., 2009; Bigelow et al., 2017; Wang et al., 2020).

В то же время в отношении вопроса эффективности практического применения ультразвуковой обработки для деструкции биоплёнок и инактивации микрофлоры, локализованных на обрабатываемых поверхностях, на наш взгляд, существует ещё одна — фатальная — проблема: для эффективного разрушения биоплёнок и бактериальных клеток в их составе необходим непосредственный контакт излучателя и объекта воздействия при посредничестве жидкогообразной среды, обладающей сплошностью.

Необходимость погружения в жидкогообразную среду представляется достаточно затруднительным в практической реализации при обработке оборудования пищевых производств, развитие биоплёнок на рабочих поверхностях которого и составляет основную проблему в пищевой и перерабатывающей промышленности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ключевым аспектом проявления антимикробного эффекта ультразвуковой обработки является коллапс образующихся в обрабатываемой среде локальных разрывов сплошности, приводящий к возникновению мощных микроструй, ударных волн,sonoхимических процессов и локальных всплесков температуры. Частичная механическая деструкция клеточных оболочек микроорганизмов в комплексе с негативным влиянием агрессивных продуктов sonoхимической трансформации среды могут приводить к повреждениям и гибели клеток. Вследствие особенностей строения и состава клеточных оболочек грамположительные микроорганизмы проявляют значительно большую устойчивость к ультразвуковой обработке. Проявление антимикробного эффекта может быть увеличено путём комбинирования процесса с давлением и термическим воздействием. Сочетание температуры и ультразвукового излучения позволяет кратно усилить эффект при сохранении относительно мягких условий обработки. Комбинация этих факторов с давлением приводит к выраженному проявлению синергического эффекта в начальный период обработки. Эффективность кавитационных процессов, вероятно, связана с тем, что они протекают не толь-

ко в среде, но и во внутриклеточном пространстве. Ультразвуковая обработка может приводить к повреждению оболочечных структур и принудительной гидратации споровой формы микроорганизмов. Ультразвуковая обработка может оказывать деструктурирующее влияние на биоплёнки. Высокоинтенсивное излучение может приводить к частичной деструкции внеклеточного матрикса, а в сочетании с низкой частотой — и к деструкции клеточных оболочек. Сочетание с высокой частотой приводит к увеличению проницаемости биоплёнок к компонентам среды, что увеличивает эффективность сопутствующей обработки антимикробными химическими агентами. Однако сочетание низкой интенсивности и частоты может, напротив, приводить к усиленному развитию биоплёнок и, как следствие, к ухудшению микробиологической безопасности. В разных исследованиях результаты влияния ультразвуковой обработки на проявление антимикробного эффекта показывают широкую вариативность и неоднозначность интерпретации, что предопределяет дальнейшее детальное изучение данной проблемы.

Основным ограничением проведённого исследования является рассмотрение влияния ультразвукового излучения на микроорганизмы в варианте как есть, без оценки того, создавались ли в каждом из множества рассмотренных работ условия для формирования коллапсирующей кавитации или нет. Вполне вероятно, что неоднозначность проявления деструктурирующего влияния ультразвуковой обработки на микробиальные клетки связана с наличием в одних случаях и отсутствием в других коллапсирующего эффекта. Таким образом, в дальнейших исследованиях следует принимать во внимание именно коллапсирующее кавитационной действие ультразвукового излучения с учётом многообразия внешних (условия обработки) и внутренних (физико-химические свойства среды, механические и буферные свойства клеток микроорганизмов и биоплёнок) факторов, а также интенсивности коллапсирующего процесса и насыщенности его в рабочем объёме. Результаты и обобщения данной работы могут стать вектором комплекса таких исследований для разработки энергоэффективных малоагрессивных подходов к обеспечению микробиологической безопасности пищевых систем.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Кондратенко Татьяна Юрьевна: Проведение исследования - сбор данных; администрирование данных; валидация данных; формальный анализ; написание - подготовка черновика рукописи; редактирование рукописи.

Кондратенко Владимир Владимирович: Научное руководство исследованием; концептуализация; разработка методологии исследования; работа с программным обеспечением; визуализация/представление данных; создание рукописи и её редактирование.

Курбанова Мадинат Насрудиновна: Проведение исследования - сбор данных; администрирование данных; валидация данных; формальный анализ; написание - подготовка черновика рукописи; редактирование рукописи.

Лях Владимир Алексеевич: Научное руководство исследованием; концептуализация; разработка методологии исследования; работа с программным обеспечением; визуализация/представление данных; создание рукописи и её редактирование.

Пацюк Любовь Карловна: проведение исследования - сбор данных.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

Аверина, Ю.М., Моисеева, Н.А., Шувалов, Д.А., Нырков, Н.П., & Курбатов А.Ю. (2018). Кавитационная обработка воды. Свойства воды и эффективность обработки. *Успехи в химии и химической технологии*, 32(14), 17–19. Averina, Yu.M., Moiseeva, N.A., Shuvalov, D.A., Nyrkov, N.P., & Kurbatov, A.Yu. (2018). Cavitation treatment of water. Properties of water and treatment efficiency. *Advances in Chemistry and Chemical Technology*, 32(14), 17–19. (In Russ.)

Антушева Т.И. (2013). Некоторые особенности влияния ультразвука на микроорганизмы. *Живые и биокосмические системы*, 4, 11.

Antusheva, T.I. (2013). Some features of the influence of ultrasound on microorganisms. *Living and Biocosmic Systems*, 4, 11. (In Russ.)

Герасимов Д.В., & Сучкова Е.П. (2014). Теоретические основы применения ультразвука для обработки пищевых систем с целью регулирования содержания биологически активных компонентов. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств*, 3, 53–60.

Gerasimov, D.V., & Suchkova, E.P. (2014). Theoretical foundations of using ultrasound for the treatment of food systems to regulate the content of biologically active components. *Scientific Journal of ITMO University. Series: Processes and Apparatuses of Food Productions*, 3, 53–60. (In Russ.)

Иванова, М.А., Демченко, В.А., Тамбулатова, Е.В., & Кравченко, Н.Н. (2019). Влияние ультразвуковых волн на качественные показатели концентрата морса. *Новые технологии*, 1, 69–77. <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10107>

Ivanova, M.A., Demchenko, V.A., Tambulatova, E.V., & Kravchenko, N.N. (2019). The impact of ultrasonic waves on the quality indicators of sea buckthorn concentrate. *New Technologies*, 1, 69–77. (In Russ.) <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10107>

Ильина, Т.С., & Романова, Ю.М. (2021). Бактериальные биоплёнки: Роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*, 39(2), 14–24. <https://doi.org/10.17116/molgen20213902114>

Ilina, T.S., & Romanova, Yu.M. (2021). Bacterial biofilms: Role in chronic infectious processes and search for means of combatting them. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 39(2), 14–24. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/molgen20213902114>

Капустин, С.В., & Красуля, О.Н. (2016). Применение ультразвуковой кавитации в пищевой промышленности. *Интерактивная наука*, 2, 101–103.

Kapustin, S.V., & Krasulya, O.N. (2016). The use of ultrasonic cavitation in the food industry. *Interactive Science*, 2, 101–103. (In Russ.)

Красуля, О., Потороко, И., Кочубей-Литвиненко, О., & Мухаметдинова, А. (2015). Инновационные подходы в технологии молочных продуктов на основе эффектов кавитации. *Вестник Южно-Уральского государственного университета: Серия Пищевые и биотехнологии*, 3(2), 61–70.

Krasulya, O., Potoroko, I., Kochubey-Litvinenko, O., & Mukhametdinova, A. (2015). Innovative approaches in dairy product technology based on cavitation effects. *Bulletin of the South Ural State University: Series Food and Biotechnology*, 3(2), 61–70. (In Russ.)

Красуля, О.Н., Богуш, В.И., Мухаметдинова, А.К., Козырева, С.М., Кузнецова, Т.Г., Сергеев, А.И., & Потороко, И.Ю. (2016). Исследование изменений мясного сырья в посоле с использованием акустически активированного рассола. *Вестник Южно-Уральского государственного университета: Серия Пищевые и биотехнологии*, 4(2), 61–70. <https://doi.org/10.14529/food160208>

Krasulya, O.N., Bogush, V.I., Mukhametdinova, A.K., Kozyreva, S.M., Kuznetsova, T.G., Sergeev, A.I., & Potoroko, I.Yu. (2016). Study of changes in meat raw materials in salting using acoustically activated brine. *Bulletin of the*

- South Ural State University: Series Food and Biotechnology*, 4(2), 61–70. (In Russ.) <https://doi.org/10.14529/food160208>
- Кузьмичёв, А.В. (2016). Возможности применения ультразвука для обработки жидких пищевых продуктов. *Вестник ВИЭСХ*, 3(24), 38–47.
- Kuzmichev, A.V. (2016). Possibilities of using ultrasound for the treatment of liquid food products. *Bulletin of VIESH*, 3(24), 38–47. (In Russ.)
- Оботурова, Н.П., Судакова, Н.В., Кокоева, В.С., & Зайцев А.С. (2013). Применение экстрактов растительного сырья при производстве пищевых продуктов. *Пищевая промышленность*, 6, 48–50.
- Oboturova, N.P., Sudakova, N.V., Kokoyeva, V.S., & Zaitsev, A.S. (2013). The use of plant raw material extracts in food production. *Food Industry*, 6, 48–50. (In Russ.)
- Попова, Н.В., & Фатеева С.А. (2014). Изучение влияния ультразвукового воздействия на показатели качества воды. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии*, 2(1), 30–33.
- Popova, N.V., & Fateeva, S.A. (2014). Study of the influence of ultrasonic impact on water quality indicators. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*, 2(1), 30–33. (In Russ.)
- Потороко, И.Ю., Фаткуллин, Р.И., & Цирульниченко, Л.А. (2013). Системный подход в технологии водоподготовки для пищевых производств. *Вестник Южно-Уральского государственного университета*, 7(3), 154–159.
- Potoroko, I.Yu., Fatkullin, R.I., & Tsirulnichenko, L.A. (2013). A systemic approach in water treatment technology for food production. *Bulletin of the South Ural State University*, 7(3), 154–159. (In Russ.)
- Промтов М.А. (2008). Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов. *Вестник Тамбовского государственного технического университета*, 14(4), 861–869.
- Promtov, M.A. (2008). Prospects for the application of cavitation technologies to intensify chemical and technological processes. *Bulletin of Tambov State Technical University*, 14(4), 861–869. (In Russ.)
- Промтов М.А., Аleshин А.В., Колосникова М.М., & Карпов Д.С. (2015). Обеззараживание сточных вод кавитационной обработкой. *Вестник Тамбовского государственного технического университета*, 21(1), 105–111. <https://doi.org/10.17277/vestnik.2015.01.pp.105-111>
- Promtov, M.A., Aleshin, A.V., Kolesnikova, M.M., & Karpov, D.S. (2015). Disinfection of wastewater by cavitation treatment. *Bulletin of Tambov State Technical University*, 21(1), 105–111. (In Russ.) <https://doi.org/10.17277/vestnik.2015.01.pp.105-111>
- Тихомирова, Н.А., Ашоккумар, М., Красуля, О.Н., Шестаков, С.Д., & Богуш, В.И. (2011). Сonoхимическая обработка молочных продуктов. *Переработка молока*, 8(142), 40–43.
- Tikhomirova, N.A., Ashokkumar, M., Krasulya, O.N., Shestakov, S.D., & Bogush, V.I. (2011). Sonochemical processing of dairy products. *Milk Processing*, 8(142), 40–43. (In Russ.)
- Федосенко, Т.В., Кондратенко, Т.Ю., & Кондратенко, В.В. (2022). Особенности применения ультразвуковой кавитации для обработки жидкообразных сред. *Всё о мясе*, 5, 38–40. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-5-38-45>
- Fedosenko, T.V., Kondratenko, T.Yu., & Kondratenko, V.V. (2022). Features of using ultrasonic cavitation for processing liquid media. *All About Meat*, 5, 38–40. (In Russ.) <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-5-38-45>
- Шестаков, С.Д., Красуля, О.Н., Артемова, Я.А., & Тихомирова, Н.А. (2011). Ультразвуковаяsonoхимическая водоподготовка. *Молочная промышленность*, 5, 39–43.
- Shestakov, S.D., Krasulya, O.N., Artemova, YA., & Tikhomirova, N.A. (2011). Ultrasonic sonochemical water treatment. *Dairy Industry*, 5, 39–43. (In Russ.)
- Aadil, R.M., Zeng, X.-A., Han, Zh., Sahar, A., Khalil, A.A., Rahman, U.U., Khan, M., & Mehmood T. (2018). Combined effects of pulsed electric field and ultrasound on bioactive compounds and microbial quality of grapefruit juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13507. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13507>
- Abesinghe, A.M., Islam, N.L., Vidanarachchi, N., Prakash, J.K., Silva, S., & Karim M.A. (2019). Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 90, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.10.006>
- Adekunle, A., Tiwari, B.K., Scannell, A., Cullen, P.J., & O'Donnell, C. (2010). Modelling of yeast inactivation in sonicated tomato juice. *International Journal of Food Microbiology*, 137(1), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.006>
- Álvarez, I., Mañas, P., Sala, F.J., & Condón S. (2003). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar enteritidis by ultrasonic waves under pressure at different water activities. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 668–672. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.1.668-672.2003>
- Ansari, J.A., Ismail, M., & Farid, M. (2017). Investigation of the use of ultrasonication followed by heat for spore inactivation. *Food and Bioproducts Processing*, 104, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.04.005>
- Babushkina, I.V., Mamonova, I.A., Ulyanov, V.Y., & Shpinyak, S.P. (2022). Combined Effect of Ceftriaxon and Low-Frequency Ultrasound on the Viability of *Staphylococcus epidermidis* Cells in a Preformed Biofilm. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 174, 47–50. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05646-5>
- Bastarrachea, L.J., Walsh, M., Wrenn, S.P., & Tikekar, R.V. (2017). Enhanced antimicrobial effect of ultrasound by the food colorant Erythrosin B. *Food Research International*, 100(1), 344–351. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.012>
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G.V. (2012). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 383–392. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.038>

- Bermúdez-Aguirre, D., Corradini, M.G., Mawson, R., & Barbosa-Cánovas, G.V. (2009b). Modeling the inactivation of *Listeria innocua* in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2), 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.005>
- Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K., & Barbosa-Cánovas, G.V. (2009a). Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*, 32(3), 283–302. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2009.00250.x>
- Bigelow, T.A., Northagen, T., Hill, T.M., & Sailer, F.C. (2009). The destruction of *Escherichia coli* biofilms using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 35(6), 1026–1031. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2008.12.001>
- Bigelow, T.A., Northagen, T., Hill, T.M., & Sailer, F.C. (2008). Ultrasound histotripsy and the destruction of *Escherichia coli* biofilms. 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (pp. 4467–4470). Vancouver: IEEE. <https://doi.org/10.1109/EMBS.2008.4650203>
- Bigelow, T.A., Thomas, C.L., Wu, H., & Itani K.M.F. (2017). Histotripsy treatment of *S. aureus* biofilms on surgical mesh samples under varying pulse durations. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 64(10), 1420–1428. <https://doi.org/10.1109/TUFFC.2017.2718841>
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2–3), 279–284. [https://doi.org/10.1016/s0963-9969\(01\)00197-1](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(01)00197-1)
- Cabeza, M.C., Cárcel, J.A., Ordóñez, J.A., Cambero, I., De la Hoz, L., García, M.L., & Benedito, J. (2010). Relationships among selected variables affecting the resistance of *Salmonella enterica*, serovar Enteritidis to thermosonication. *Journal of Food Engineering*, 98(1), 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.009>
- Cameron, M. (2007). Impact of low-frequency high-power ultrasound on spoilage and potentially pathogenic dairy microbes. Dissertation for the degree of Ph.D. in Food Science. Stellenbosch: University of Stellenbosch.
- Cameron, M., McMaster, L.D., & Britz, T.J. (2008). Electron microscopic analysis of dairy microbes inactivated by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(6), 960–964. <https://doi.org/10.1016/j.ulst.2008.02.012>
- Capocelli, M., Prisciandaro, M., Lancia, A., & Musmarra, D. (2014). Comparison Between Hydrodynamic and Acoustic Cavitation in Microbial Cell Disruption. *Chemical Engineering Transactions*, 38, 13–18. <https://doi.org/10.3303/CET1438003>
- Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V., Benedito, J., & Mulet A. (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.038>
- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). Microbial biofilms in the food industry – A comprehensive review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 2014. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042014>
- Carrillo-Lopez, L.M., Alarcon-Rojo, A.D., Luna-Rodriguez, L., & Reyes-Villagrana R. (2017). Modification of food systems by ultrasound. *Journal of Food Quality*, Article ID 5794931. <https://doi.org/10.1155/2017/5794931>
- Carstensen, E.L. (1986). Biological effects of acoustic cavitation. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 12(9), 703–704. [https://doi.org/10.1016/0301-5629\(86\)90287-5](https://doi.org/10.1016/0301-5629(86)90287-5)
- Char, C.D., Mitilinaki, E., Guerrero, S.N., & Alzamora, S.M. (2010). Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 797–803. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0307-7>
- Chemat, F., Zill, E.H., & Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Costerton, J.W., Cheng, K.J., Geesey, G.G., Ladd, T.I., Nickel, J.C., Dasgupta, M., & Marrie, T.J. (1987). Bacterial Biofilms in Nature and Disease. *Annual Review of Microbiology*, 41, 435–464. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251>
- Czank, C., Simmer K., & Hartmann P.E. (2010). Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *Journal of Dairy Research*, 77(2), 183–189. <https://doi.org/10.1017/S0022029909990483>
- D'amico, D.J., Silk, T.M., Wu, J.R., & Guo, M.R. (2006). Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasounds. *Journal of Food Protection*, 69(3), 556–563. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.3.556>
- Dubrovi, I., Herceg, Z., Jambrak, A.R., Badanjak, M., & Dragović-Uzelac, V. (2011). Effect of Ultrasound and pasteurization on anthocyanins. *Food Technology and Biotechnology*, 49(2), 196–204.
- Eliseev, M.I., Fatykhov, J.A., & Lyudkevich, T. (2017). Determining the optimum cavitation mode for disinfection of cheese whey. *Proceedings of the Kaliningrad State Technical University*, 45, 160–169.
- Erriu, M., Blus, C., Szmukler-Moncler, S., Buogo, S., Levi, R., Barbato, G., Madonnaripa, D., Denotti, G., Piras, V., & Orrù, G. (2014). Microbial biofilm modulation by ultrasound: Current concepts and controversies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.05.011>
- Evelyn, E., & Silva, F.V.M. (2015). Use of power ultrasound to enhance the thermal inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry. *International Journal of Food Microbiology*, 206, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.013>
- Filonenko, E.A., & Khokhlova, V.A. (1999). Modeling the thermal processes occurring in biological tissues exposed to focused ultrasound. *Moscow University Physics Bulletin*, 54(6), 36–40.
- Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E.M., Villar, C.J., & Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>

- Ganesan, B., Martini, S., Solorio, J., & Marie, K.W. (2015). Determining the effects of high intensity ultrasound on the reduction of microbes in milk and orange juice. Using response surface methodology. *International Journal of Food Science*, Article ID 350719. <https://doi.org/10.1155/2015/350719>
- Gao, S., Lewis, G.D., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2014a). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.006>
- Gao, S., Lewis, G.D., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2014b). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 2. A simple model for the inactivation mechanism. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.007>
- Gera, N., & Doores, S. (2011). Kinetics and mechanism of bacterial inactivation by ultrasound waves and sonoprotective effect of milk components. *Journal of Food Science*, 76(2), M111–M119. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02007.x>
- Guo, L., Zhang, X., Xu, L., Li, Y., Pang, B., Sun, J., Wang, B., Huang, M., Xu, X., & Ho, H. (2021). Efficacy and Mechanism of Ultrasound Combined with Slightly Acidic Electrolyzed Water for Inactivating Escherichia coli. *Journal of Food Quality*, Article ID 6689751. <https://doi.org/10.1155/2021/6689751>
- Harvey, E., & Loomis, A. (1928). High frequency sound waves of small intensity and their biological effects. *Nature*, 121, 622–624. <https://doi.org/10.1038/121622a0>
- Harvey, E., & Loomis, A. (1929). The destruction of luminous bacteria by high frequency sound waves. *Journal of Bacteriology*, 17(5), 373–376. <https://doi.org/10.1128/jb.17.5.373-376.1929>
- Hawrylik, E. (2019). Ultrasonic Disintegration of Bacteria Contained in Treated Wastewater. *Journal of Ecological Engineering*, 20, 171–176. <https://doi.org/10.12911/22998993/112493>
- He, Q., Liu, D., Ashokkumar, M., Ye, X., Jin, T.Z., & Guo, M. (2021). Antibacterial mechanism of ultrasound against Escherichia coli: Alterations in membrane microstructures and properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105509. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105509>
- Huang, G., Chen, S., Dai, Ch., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Yiong, F., He, R., & Ma, H. (2017). Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.018>
- Hunter, G., Lucas, M., Watson, I., & Parton, R. (2008). A radial mode ultrasonic horn for the inactivation of Escherichia coli K12. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(2), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2006.12.017>
- Inguglia, E.S., Tiwari, B.K., Kerry, J.P., & Burgess, C.M. (2018). Effects of high intensity ultrasound on the inactivation profiles of Escherichia coli K12 and Listeria innocua with salt and salt replacers. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.007>
- Joyce, E., Al-Hashimi, A., & Mason T.J. (2011). Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry. *Journal of Applied Microbiology*, 110(4), 862–870. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04923.x>
- Joyce, E., Phull, S.S., Lorimer, J.P., & Mason, T.J. (2003). The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10(6), 315–318. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(03\)00101-9](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(03)00101-9)
- Kiang, W.S., Bhat, R., Rosma, A., & Cheng, L.H. (2013). Effects of thermosonication on the fate of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enteritidis* in mango juice. *Letters in Applied Microbiology*, 56(4), 251–257. <https://doi.org/10.1111/lam.12042>
- Kirzhner, F., Zimmels, Y., Malkovskaja, A., & Starosvetsky, J. (2009). Removal of microbial biofilm on Water Hyacinth plants roots by ultrasonic treatment. *Ultrasonics*, 49(2), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2008.09.004>
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., & Lee D.-U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(5), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>
- Koda, S., Miyamoto, M., Toma, M., Matsuoka, T., & Maebayashi, M. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* by ultrasound at 500 kHz. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(5), 655–659. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.02.003>
- Kvich, L., Christensen, M.H., Pierchala, M.K., Astafiev, K., Lou-Moeller, R., & Bjarnsholt, T. (2022). The Combination of Low-Frequency Ultrasound and Antibiotics Improves the Killing of In Vitro *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antibiotics*, 11, 1494. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111494>
- Lattwein, K.R., Shekhar, H., Kouijzer, J.J.P., Van Wamel, W.J.B., Holland, C.K., & Kooiman, K. (2020). Sono bactericide: An Emerging Treatment Strategy for Bacterial Infections. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 46(2), 193–215. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.09.011>
- Lebeaux, D., & Ghigo, J.-M. (2012). Infections associées aux biofilms — Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? (Biofilm-related infections — What therapeutic perspectives are offered by basic research?). *Medecine Sciences*, 28(8–9), 727–739. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012288015>
- Lee, H., Kim, H., Cadwallader, K.R., Feng, H., & Martin, S.E. (2013). Sonication in combination with heat and low pressure as an alternative pasteurization treatment-effect on *Escherichia coli* k12 inactivation and quality of Apple cider. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.003>
- Lee, H., Zhou, B., Liang, W., Feng, H., & Martin, S.E. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manosonation, thermosonation, and manothermosonation: Microbial responses and kinetics modeling. *Journal of Food Engineering*, 93(3), 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.037>

- Leong, Th., Ashokkumar, M., & Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound – A review. *Acoustics Australia*, 39(2), 54–63.
- Li, J., Ahn, J., Liu, D., Chen, S., Ye, X., & Ding, T. (2016). Evaluation of ultrasound induced damage to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by flow cytometry and transmission electron microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(6), 1828–1837. <https://doi.org/10.1128/AEM.03080-15>
- Li, J., Suo, Y., Liao, X., Ahn, J., Liu, D., Chen, Sh., Ye, X., & Ding, T. (2017). Analysis of *Staphylococcus aureus* cell viability, sublethal injury and death induced by synergistic combination of ultrasound and mild heat. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.04.019>
- Li, Y., Li, X., Hao, Y., Liu, Y., Dong, Z., & Li, K. (2021). Biological and physicochemical methods of biofilm adhesion resistance control of medical-context surface. *International Journal of Biological Sciences*, 17(7), 1769–1781. <https://doi.org/10.7150/ijbs.59025>
- Liao, H. (2022). Response of food-borne pathogens to ultrasound. In Ding, T., Liao, X., Feng, J. (Eds.), *Stress responses of foodborne pathogens* (pp. 179–219). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90578-1_7
- Liao, X., Li, J., Suo, Y., Chen, Sh., Ye, X., Liu, D., & Ding, T. (2018). Multiple action sites of ultrasound on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Human Wellness*, 7(1), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.01.002>
- Lv, R., Zou, M., Chantapakul, T., Chen, W., Muhammad, A.I., Zhou, J., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2019). Effect of ultrasonication and thermal and pressure treatments, individually and combined, on inactivation of *Bacillus cereus* spores. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(5), 2329–2338. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9559-3>
- Majid, I., Nayik, G.A., & Nanda, V. (2015). Ultrasonication and food technology: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1071022. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1071022>
- Milani, E.A., & Silva F.V.M. (2017). Ultrasound assisted thermal pasteurization of beers with different alcohol levels: inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* ascospores. *Journal of Food Engineering*, 198, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.015>
- Muñoz, A., Palgan, I., & Noci, F. (2011). Combinations of high intensity light pulses and thermosonication for the inactivation of *Escherichia coli* in orange juice. *Food Microbiology*, 28(6), 1200–1204. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.04.005>
- Nakonechny, F., & Nisnevith, M. (2021). Different aspects of using ultrasound to combat microorganisms. *Advanced Functional Materials*, 2011042. <https://doi.org/10.1002/adfm.202011042>
- Nishiguchi, K., Hashimoto, Y., & Yamamoto, K. (2021). Inactivation of Bacteria and Fungus by Ultrasonic Cavitation. *Japanese Journal of Multiphase Flow*, 35(1), 11–18. <https://doi.org/10.3811/jjmf.2021.T002>
- Onyeaka, H., Miri, T., Hart, A., Anumudu, C., & Nwabor, O.F. (2021). Application of ultrasound technology in food processing with emphasis on bacterial spores. *Food Reviews International*, 1–13. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2013255>
- Paniwnyk, L. (2016). Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 794–806. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.025>
- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)
- Ramteke, S.P., Desale, R.J., Kankhare, D.H., & Fulpagare, Y.G. (2020). Thermosonication Technology in the Dairy Industry: A Review. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 7(1), 82–89.
- Rani, M., Sood, M., Bandral, J.D., Bhat, A., & Gupta, I. (2020). Thermosonication technology and its application in the food industry. *International Journal of Chemical Studies*, 8(3), 922–928. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i3l.9317>
- Raso, J., & Barbosa-Canovas G.V. (2003). Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(3), 265–285. <https://doi.org/10.1080/10408690390826527>
- Raso, J., Pagán, R., Condón, S., & Sala, F.J. (1998). Influence of Temperature and Pressure on the Lethality of Ultrasound. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(2), 465–471. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.2.465-471.1998>
- Runyan, C.M., Carmen, J.C., Beckstead, B.L., Nelson, J.L., Robison, R.A., & Pitt, W.G. (2006). Low-frequency ultrasound increases outer membrane permeability of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 52(5), 295–301. <https://doi.org/10.2323/jgam.52.295>
- Sambegoro, P., Fitriyanti, M., Budiman, B.A., Kamarisima, K., Baliwangi, S.W.A., Alverian, C., Bagherzadeh, S., Narsimhan, G., Aditiawati, P., & Nurprasetio, I.P. (2021). Bacterial cell inactivation using a single-frequency batch-type ultrasound device. *Indonesian Journal of Science & Technology*, 6(1), 65–80. <https://doi.org/10.17509/ijost.v6i1.31516>
- Scherba, G., Weigel, R.M., & O'Brien Jr., W.D. (1991). Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7), 2079–2084. <https://doi.org/10.1128/aem.57.7.2079-2084.1991>
- Shen, Y., Zhu, D., Xi, P., Cai, T., Cao, X., Liu, H., & Li, J. (2021). Effects of temperature-controlled ultrasound treatment on sensory properties, physical characteristics and antioxidant activity of cloudy apple juice. *LWT*, 142, 111030. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111030>
- Starek, A., Kobus, Z., Sagan, A., Chudik, B., Pawłat, J., Kwiatkowski, M., Terebun, P., & Dariusz, A. (2021). Influence of ultrasound on selected microorganisms, chemical and structural changes in fresh tomato juice. *Scientific Reports*, 11, 3488. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83073-8>
- Sun, J., Wang, D., Sun, Zh., Liu, F., Du, L., & Wang, D. (2021). The combination of ultrasound and chlorogenic acid to inactivate *Staphylococcus aureus* under planktonic, biofilm, and food systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105801. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105801>

- Tandiono, T., Siak-Wei Ow, D., Driessens, L., Sze-Hui Chin, C., Klaseboer, E., Boon-Hwa Choo, A., Ohl, S.-W., & Ohl C.-D. (2012). Sonolysis of *Escherichia coli* and *Pichia pastoris* in microfluidics. *Lab on a Chip*, 12, 780–786. <https://doi.org/10.1039/C2LC20861J>
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., & Cullen, P.J. (2008). Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 10071–10077. <https://doi.org/10.1021/jf801824v>
- Ugare-Romero, E., Feng, H., & Martin, S.E. (2007). Inactivation of *Shigella boydii* 18 IDPH and *Listeria monocytogenes* Scott A with power ultrasound at different acoustic energy densities and temperatures. *Journal of Food Science*, 72(4), 103–107. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00340.x>
- Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Munoz, N., Martic, N., & Lizama, V. (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.06.009>
- Vyas, N., Manmi, K., Wang, Q., Jadhav, A.J., Barigou, M., Sammons, R.L., Kuehne, S.A., & Walmsley A.D. (2019). Which Parameters Affect Biofilm Removal with Acoustic Cavitation? A Review. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 45(5), 1044–1055. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.01.002>
- Wang, T., Ma, W., Jiang, Z., & Bi L. (2020). The penetration effect of HMME-mediated low-frequency and low-intensity ultrasound against the *Staphylococcus aureus* bacterial biofilm. *European Journal of Medical Research*, 25, 51. <https://doi.org/10.1186/s40001-020-00452-z>
- Wood, R.W., & Loomis, A.L. (1927). XXXVIII The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science, Series 7*, 4(22), 417–436. <https://doi.org/10.1080/14786440908564348>
- Yu, H., Liu, Y., Li, L., Guo, Y., Xie, Y., Cheng, Y., & Yao, W. (2020). Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 91–101. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.12.010>
- Yusaf, T., & Al-Juboori, R.A. (2014). Alternative methods of microorganism disruption for agricultural applications. *Applied Energy*, 114, 909–923. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.08.085>
- Yusof, N.S.M., Babgi, B., Alghamdi, Y., Aksu, M., Madhavan, J., & Ashokkumar, M. (2016). Physical and chemical effects of acoustic cavitation in selected ultrasonic cleaning applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 568–576. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.013>
- Zhu, T., Yang, Ch., Bao, X., Chen, F., & Guo X. (2022). Strategies for controlling biofilm formation in food industry. *Grain & Oil Science and Technology*, 5(4), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.06.003>
- Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology, Campinas*, 36(1), 111–115. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0061>
- Zupanc, M., Pandur, Ž., Perdih, T.S., Stopar, D., Petkovšek, M., & Dular, M. (2019). Effects of cavitation on different microorganisms. The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 147–165. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>