

## СТЕРИЛИЗАЦИЯ В СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ СРЕДАХ

**Д. Ю. Залепугин, Н. А. Тилькунова, И. В. Чернышова, М. И. Власов**

*ФГУП «Государственный завод медицинских препаратов» (ГосЗМП), Москва, Россия*

Поступила в редакцию 9.06.2015 г.

В обзорной статье рассматриваются достижения в области стерилизации в сверхкритических средах за последние 10 лет. В частности, освещены новые подходы к проведению процесса стерилизации, показана возможность использования более широкого спектра сверхкритических сред. Приведены данные по исследованию механизма инактивации микроорганизмов, а также обсуждаются новые области применения метода.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** сверхкритические среды, стерилизация, инактивация микроорганизмов.

### ВВЕДЕНИЕ

Сведения о высокой эффективности использования сверхкритического диоксида углерода в качестве стерилизующей среды появились в научной литературе около 20 лет назад [1—3]. В 2008 году был опубликован исчерпывающий обзор, в котором раскрыты несомненные преимущества данного метода (экологическая безопасность, мягкие условия обработки и т. д.) [4]. Однако в последние годы в данной области появился ряд работ, содержащих новые подходы к проведению процесса стерилизации, данные по оптимизации условий процесса, возможности использования более широкого спектра сверхкритических сред, исследование механизма инактивации микроорганизмов, а также расширение областей применения метода сверхкритической стерилизации. Освещение этих вопросов является целью предлагаемой обзорной статьи.

За последние 10 лет опубликовано несколько обзорных работ в данной области, в частности, статья, обобщающая данные по эффективной терминальной стерилизации с использованием сверхкритического диоксида углерода (СК-СО<sub>2</sub>) [3]. В статье показано, что в среде СК-СО<sub>2</sub> в мягких условиях происходит быстрая и эффективная инактивация бактериальных эндоспор, что позволяет использовать данный процесс для стерилизации медицинских материалов из животных тканей, препаратов для белковой терапии и других изделий медицинского назначения, чувствительных к термообработке. Аналогично, возможность использования СК-СО<sub>2</sub> для стерилизации различных изделий и препаратов для медицины (имплантаты, эндоскопы, фармпрепараты и т. д.) подробно обсуждается в работе [2]. Особенности применения СК-СО<sub>2</sub> для стерилизации медицинских инструментов подробно рассмотрены в работе [5]. В 2013 году на данную тему выпущена монография А. Chęcinska [6].

### 1. СТЕРИЛИЗАЦИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СК-СО<sub>2</sub> В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

СК-СО<sub>2</sub> является эффективной стерилизующей средой для мясных продуктов в процессе маринования (с использованием соевого соуса и пасты из жгучего

красного перца) [7]. Стерилизация осуществляется в мягких температурных условиях (140 атм, 45 °С, 40 мин), что позволяет исключить микробное заражение продуктов без потери их товарного качества. Отмечается, что при стерилизации свинины субкритическим CO<sub>2</sub> (74 атм, 31,1 °С, 10 мин) происходит небольшое изменение цвета мяса при сохранении остальных параметров [8].

Влияние изменения параметров процесса на эффективность СК-СО<sub>2</sub> стерилизации рыбных продуктов, содержащих патогенный штамм *Listeria monocytogenes*, исследовали в работе [9]. Показано, что при давлении 80—150 атм и температуре 35—45 °С за относительно короткое время (10—50 мин) происходит снижение концентрации патогенной микрофлоры на 8 порядков.

Значительный стерилизующий эффект СК-СО<sub>2</sub> наблюдается при обработке морепродуктов (креветки) в следующих условиях: 45—55 °С / 150 атм / 30 мин; ее результатом является снижение концентрации основного патогенного бактериального штамма *Chryseobacterium* sp. LV1 более чем на 5 порядков [10].

Стерилизация в среде СК-СО<sub>2</sub> представляет собой чрезвычайно перспективный метод обработки дегидратированных порошков для детского питания непосредственно на конечной стадии производства продукта [11]. При давлении 200 атм и температуре 73 °С в течение 20 мин происходит полная дезактивация патогенной микрофлоры *Chronobacter* spp., присутствие которой в продуктах детского питания представляет опасность для организма.

Обработка СК-СО<sub>2</sub> эффективна также для дезактивации грибов, в частности, в случае стерилизации семян ячменя, зараженных спорами *Penicillium oxalicum* [12]. Эффект достигается при давлении 100 атм, температуре 44 °С и времени обработки 12 мин, причем в качестве энтрайнера используется вода. Однако при увеличении времени обработки падает всхожесть семян. Аналогично в тех же условиях происходит дезактивация спор *Penicillium oxalicum* при обработке семян пшеницы [13]. При использовании в качестве энтрайнера этанола вместо воды существенно сокращается время стерилизации (споры *Alternaria brassicicola*) [14]. Споры *Alicyclobacillus acidoterrestris* полностью дезактивируются при обработке яблочного сока СК-СО<sub>2</sub> при использовании двух режимов обработки — 100 атм, 65 °С, 40 мин и 80 атм, 70 °С, 30 мин [15]; при этом сохраняется кислотность и другие товарные качества продукции.

Для стерилизации спор *Bacillus pumilus* в качестве модификаторов среды СК-СО<sub>2</sub> успешно использовали 10 % метанол, содержащий 12 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> или 12 % трет-бутилгидропероксида [16].

Известно [17], что биопленки являются наиболее устойчивой формой существования микроорганизмов, поэтому процесс их стерилизации требует более жестких условий. На модели бактериальной культуры *B. mojavensis* показано, что при обработке суспензии бактериальных клеток СК-СО<sub>2</sub> при 35 °С и 136 атм в течение 19 мин происходит снижение количества клеток на 3 порядка, в то время как биопленка данной культуры в этих же условиях дезактивируется только в 10 раз. Эффективность стерилизации существенно повышается при добавлении в среду СК-СО<sub>2</sub> этанола (2—10 % об.). В этом случае наблюдается полная дезактивация спор в биопленках *Bacillus cereus* [18]. Эксперимент осуществляли при давлении 100 атм, температуре 60 °С в течение 60 мин.

Представляет интерес модификация процесса СК-СО<sub>2</sub> стерилизации, значительно повышающая его эффективность [19]. В этом случае процесс включает несколько циклов сбрасывания рабочего давления (280 атм) в реакторе до нуля с последующим повышением до начального значения, причем с увеличением количества циклов достигаются лучшие результаты стерилизации.

Следует отметить, что СК-СО<sub>2</sub> стерилизация и пастеризация некоторых пищевых продуктов требуют длительной обработки и использования высоких температур [20, 21], поэтому растет интерес к «комбинированным» процессам, таким как обработка СК-СО<sub>2</sub> в сочетании с воздействием ультразвуком (УЗ) [22]. Полагают, что дезактивация микробов при ультразвуковой обработке осуществляется вследствие деформации клеточных мембран, местного температурного воздействия и образования свободных радикалов [23—25]. Технология, сочетающая СК-СО<sub>2</sub> и УЗ процессы, показала высокую эффективность, в частности, в отношении естественной бактериальной микрофлоры, присутствующей в ряде продуктов. Так, показано, что лактобактерии и культуры дрожжей и плесени, присутствующие в кокосовом молоке, дезактивируются медленнее, чем патогенный штамм *S. enterica* [22]. Стерилизация кокосового молока в среде СК-СО<sub>2</sub> без УЗ обработки осуществляется при давлении 120 атм, температуре 40 °С в течение 30 мин, в то время как комбинированный процесс (СК-СО<sub>2</sub> + УЗ) позволяет достичь более полной стерилизации всего за 15 мин. Стерилизация (СК-СО<sub>2</sub> + УЗ) при давлении 100—350 атм и температуре 31—41 °С приводит к полной дезактивации *Saccharomyces cerevisiae* в течение 2 мин [26].

## 2. СТЕРИЛИЗАЦИЯ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАКОЛОГИИ

В последние годы активно изучается возможность использования СК-СО<sub>2</sub> при стерилизации медицинских изделий для реконструктивной хирургии. Так, сравнение методов стерилизации костных аллографтов (донорский пересадочный материал)  $\gamma$ -излучением и СК-СО<sub>2</sub> показало, что оба метода позволяют сохранить остеокондуктивность (свойство трансплантата являться платформой для нового роста кости) аллографтов, однако, в отличие от СК-СО<sub>2</sub> стерилизации, имплантат, обработанный  $\gamma$ -излучением, вызывает острую воспалительную реакцию, которая может привести к его отторжению [27]. Кроме того, показано, что метод стерилизации оказывает влияние на механические свойства аллографтов, что особенно важно для костных имплантатов, несущих большую механическую нагрузку. Так, стерилизация  $\gamma$ -излучением оказывает дозозависимое действие на все статические механические параметры костного имплантата, в то время как обработка в среде СК-СО<sub>2</sub>, в том числе и в присутствии модификаторов, не изменяет статических и динамических параметров материала [28, 29]. Высока эффективность обработки СК-СО<sub>2</sub> аллографтов в виде крошки: в этом случае происходит одновременная стерилизация и делипидизация [30]. Стерилизация в среде СК-СО<sub>2</sub> представляет реальную альтернативу  $\gamma$ -излучению при обработке аллографтов мениска [31]. Установлено, что аллографты мягких тканей после обработки СК-СО<sub>2</sub> обладают гораздо меньшей жесткостью, чем необработанные или после стерилизации  $\gamma$ -излучением [32].

Важную проблему составляет выбор метода стерилизации медицинских изделий из коллагена, для которых непригодны традиционные методы, вызывающие денатурацию белка. Стерилизация коллагена окисью этилена также проблематична, так как существует риск «сшивания» или разрушения белковых молекул. В то же время обработка СК-СО<sub>2</sub> практически не влияет на свойства коллагена [33]. Обработка в среде СК-СО<sub>2</sub> термоотверждающихся материалов для стоматологии не только стерилизует материал, но и очищает его от остаточных количеств токсичных мономеров [34]. При стерилизации биорезорбируемых полимеров  $\gamma$ -излучение может изменять структуру полимера. В свою очередь, обработка материалов для тканевой инженерии из полилактида в среде СК-СО<sub>2</sub> при 150 атм, 37 °С в

течение 15 мин полностью дезактивирует патогенную микрофлору, не влияя при этом на структуру полимера и биосовместимость [35]. Также СК-СО<sub>2</sub> успешно применяли для стерилизации имплантатов из титана [36].

СК-СО<sub>2</sub> с добавлением следовых количеств перекиси водорода является эффективной стерилизующей средой для гидрогелей, используемых в реконструктивной медицине [37]. Выбор метода стерилизации является важной проблемой в случае использования медицинских изделий из тканей животных или человека. Так, в частности, традиционные методы стерилизации амниотической мембраны (АМ, природная ткань из плаценты), используемой в офтальмологии, необратимо изменяют структуру ткани. При обработке АМ СК-СО<sub>2</sub> происходит эффективная стерилизация материала при полном сохранении его физиологических свойств [38, 39].

Аналогичная проблема поиска неразрушающих методов обработки возникает в случае стерилизации фармпрепаратов, чувствительных к термообработке и  $\gamma$ -излучению, например, глюкокортикостероидов, широко используемых в терапии аллергических заболеваний и офтальмологической практике [40]. Данная группа препаратов часто используется в форме суспензии, поэтому конечный продукт нельзя стерилизовать методом фильтрации. Процесс СК-СО<sub>2</sub> стерилизации не только на 6 порядков снижает зараженность фармпрепаратов (беклометазон и буденозид) патогенной микрофлорой, но и позволяет сохранить первоначальное распределение частиц по размерам в микронизированной форме препаратов. Чрезвычайно важно, что данный метод можно применять для стерилизации готовых лекарственных форм стероидов, используемых в виде водных суспензий.

Интересный пример использования СК-СО<sub>2</sub> для стерилизации растительных препаратов медицинского назначения приводится в работе [41]. Полная дезактивация бактерий и грибов в порошке женьшеня достигается при обработке СК-СО<sub>2</sub> при 170 атм и 30 °С в течение 2 ч с добавлением 0,1 мл смеси вода/этанол/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> из расчета на 1 г порошка.

В клинической практике стерилизация медицинских инструментов и приборов является сложной задачей. Так, хирургические инструменты часто имеют сложную форму и содержат различные соединения, углубления, прорезы и т. д., в которые может проникать патогенная микрофлора, в том числе вирусы гепатитов В и С, ВИЧ, спирохеты, *Pseudomonas aeruginosa* и др. Все эти микроорганизмы обладают высокой патогенностью и устойчивостью к действию дезинфектантов. Кроме того, некоторые медицинские приборы и приспособления состоят из разных материалов. Так, например, при изготовлении эндоскопов используют нержавеющую сталь, оптические волокна, различные полимеры. Все эти материалы имеют различную устойчивость к температурной обработке в автоклаве, поэтому стерилизация в среде СК-СО<sub>2</sub> является практически безальтернативным методом. Как показано в работе [42], при давлении СО<sub>2</sub> 110 атм и температуре 35 °С в присутствии смеси перуксусной и уксусной кислот происходит полная дезактивация спор *B. atropheus* и *B. antracis*.

В развивающихся странах серьезную проблему представляет стерилизация твердых отходов клиник. Причинами этого часто являются отсутствие соответствующих законодательных актов, слабый медицинский контроль за ситуацией в данной области, недостаточная подготовка персонала, несоблюдение элементарных требований техники безопасности и, не в последнюю очередь, отсутствие недорогих и эффективных методов стерилизации, исключающих контакт персонала со стерилизуемым материалом [43]. В качестве такого метода предлагается использование стерилизации в среде СК-СО<sub>2</sub>. Показано, что при 200 атм, 60 °С в течение

60 мин осуществляется полная стерилизация твердых отходов, зараженных *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* и *B. subtilis* [44].

Установлено, что кроме СК-СО<sub>2</sub> способностью инактивировать патогенные микроорганизмы обладают также некоторые другие сверхкритические среды, например, закись азота (СК-N<sub>2</sub>O). Так, в среде СК-N<sub>2</sub>O при давлении 100 атм и температуре 37 °С за 6 мин полностью дезактивируется *Pseudomonas aeruginosa*. Следует отметить, что СК-N<sub>2</sub>O является более «мягким» стерилизующим агентом, чем СК-СО<sub>2</sub>: обработка закисью азота не влияет на активность ферментов, конфигурацию белков, морфологию клеток и не изменяет рН обрабатываемой среды. Эти несомненные преимущества могут быть использованы на практике, в частности, при обработке продуктов в пищевой промышленности [45]. Показано также, что субкритический фреон 134а в смеси с этанолом (2—5 %) является эффективной стерилизующей средой для *E. coli* (давление 80 атм, температура 34 °С, время обработки 20 мин) [46].

В ряде публикаций обсуждается возможный механизм стерилизующего действия СК-СО<sub>2</sub>. Причинами дезактивации микроорганизмов могут быть [42, 47]:

- образование кислой среды;
- декомпрессионное разрушение клеток;
- модификация клеточной мембраны и экстракция липидов из клеточных стенок;
- экстракция внутриклеточных веществ;
- инактивация ключевых клеточных ферментов.

Кроме того, причиной инактивации бактериальных клеток и спор в среде СК-СО<sub>2</sub> может быть формилирование клеточной метионил-тРНК, что в конечном счете приводит к нарушению синтеза белка и гибели клетки [48].

Важно отметить, что в последнее десятилетие метод стерилизации в среде СК-СО<sub>2</sub> находит все более широкое практическое применение в самых различных областях. Например, в 2006 году фирма «Nova Sterilis» (США) начала выпуск аппаратуры для стерилизации на основе этой технологии. СК-СО<sub>2</sub> стерилизация успешно используется для обработки готовых продуктов питания личного состава армии США [49]. Использование данного метода в аэрокосмических исследованиях было представлено в материалах [50].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fages J., Marty A., Delga C., Condoret J.-S., Combes D., Frayssinet P. Biomaterials. 1994. Vol. 15. No. 9. P. 650.
2. Zhang J., Davis T.A., Mattheus M.A., Drews M.J., LaBerge M., An Y.H. J. of Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 38. Is. 3. P. 354.
3. White A., Burns D., Christensen T.W. J. Biotechnology. 2006. Vol. 123. No. 4. P. 504.
4. Сулов А.В., Сулова И.Н., Яровой Б.Ф., Шадрин А.Ю., Мурзин А.А., Сапожникова Н.В., Лумпов А.А., Дормидонова А.С. СКФ-ТП. 2008. Т. 3. № 3. С. 3.
5. Reverchon E., Della Porta G., Adami R. Recent Patents on Chemical Engineering. 2010. Vol. 3. No. 2. P. 1.
6. Chęcinska A. Supercritical Fluid CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Sterilization Method and Elucidation of Bacilli Endospores Tolerance to Hydrogen Peroxide and Heat. 2013. 324 p.
7. Choi Y.M., Bae Y.Y., Kim K.H., Kim B.C., Rhee M.S. Meat Science. 2009. Vol. 82. No. 4. P. 419.
8. Choi Y.M., Pyu Y.C., Lee S.H., Go G.W., Shin H.G., Kim K.H., Rhee M.S., Kim B.C. Food Science and Technology. 2008. Vol. 41. No. 2. P. 317.
9. Kim S.R., Park H.J., Yim D.S., Kim H.T., Choi I.-G., Kim K.H. J. of Microbiological Methods. 2008. Vol. 75. No. 1. P. 47.

10. Liu S., Zhang L., Ji H., Qu X., Zhang C.-H., Hao J. Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering. 2013. Vol. 29. No. 14. P. 1.
11. Kim S.A., Kim O.Y., Rhee M.S. J. of Dairy Science. 2010. Vol. 93. No. 5. P. 1854.
12. Park H.S., Choi H.J., Kim K.H. J. of Food Safety. 2013. Vol. 33. No. 1. P. 94.
13. Park H.S., Lee Y.H., Kim W., Choi H.J., Kim K.H. International J. of Food Microbiology. 2012. Vol. 156. No. 3. P. 239.
14. Park H.S., Choi H.J., Kim K.H. J. of Microbiological Methods. 2012. Vol. 88. No. 1. P. 185.
15. Bae Y.Y., Lee H.J., Kim S.A., Rhee M.S. International J. of Food Microbiology. 2009. Vol. 136. No. 1. P. 95.
16. Shieh E., Paszczynski A., Wai C.M., Lang Q., Crawford R.L. J. of Microbiological Methods. 2009. Vol. 76. No. 3. P. 247.
17. Mitchell A.C., Phillips A.J., Hamilton M.A., Gerlach R., Hollis W.K., Kaszuba J.P., Cunningham A.B. J. of Supercrit. Fluids. 2008. Vol. 47. Is. 2. P. 318.
18. Park H.S., Choi H.J., Kim M.-D., Kim K.H. International J. of Food Microbiology. 2013. Vol. 166. Is. 2. P. 207.
19. Silva J.M., Rigo A.A., Dalmolin I.A., Debien I., Cansian R.L., Oliveira J.V., Mazutti M.A. Food Control. 2013. Vol. 29. Is. 1. P. 76.
20. Garcia-Gonzales L., Geeraerd A.H., Elst K., Van Ginneken L., Van Impe J.F., Devlieghere F. J. of Supercrit. Fluids. 2009. Vol. 51. Is. 1. P. 74.
21. Liu Y., Hu X., Zhao X., Song H. Innovating Food Science & Emerging Technologies. 2012. Vol. 13. P. 112.
22. Cappelletti M., Ferrentino G., Spilimbergo S. J. of Supercrit. Fluids. 2014. Vol. 92. P. 257.
23. Plyasena P., Mohareb E., McKellar R.C. International J. of Food Microbiology. 2003. Vol. 87. Is. 3. P. 207.
24. Fellows P. Food Processing Technology: Principles and Practice. 2<sup>nd</sup> ed. New York: CRC Press, 2000.
25. Butz P., Tausher B. Food Research International. 2002. Vol. 35. No. 2—3. P. 279.
26. Ortuno C., Martinez-Pastor M.T., Mulet A., Benedito J. Food Research International. 2013. Vol. 51. Is. 2. P. 474.
27. Russel N., Oliver R.A., Walsh W.R. Biomaterials. 2013. Vol. 34. No. 33. P. 8185.
28. Russel N., Rives A., Bertollo N., Pelletier M.H., Walsh W.R. J. of Biomechanics. 2013. Vol. 46. No. 10. P. 1670.
29. Russel N., Rives A., Pelletier M.H., Wang T., Walsh W.R. Cell and Tissue Banking. 2015. Vol. 16. No. 1. P. 109.
30. Chang L., Chen Y.-J., Chen Y.-P., Chen C.-T., Yu W.-H. Formosan J. of Microskeletal Disorders. 2011. Vol. 2. No. 2. P. 55.
31. Bui D., Lovric V., Oliver R., Bertollo N., Broe D., Walsh W.R. Cell and Tissue Banking. 2015. (In Print).
32. Baldini T., Caperton K., Hawkins M., McCarty E. Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc. 2014. (In Print).
33. Herdegen V., Felix A., Haseneder R., Repke J.-U., Leppchen-Fröhlich K., Prade I., Meyer M. Chemical Engineering & Technology. 2014. Vol. 37. Is. 11. P. 1891.
34. Donati I., Benincasa M., Foulk M.P., Turco G., Toppazzini M., Solinas D., Spilimbergo S., Kikic I., Paoletti S. Biomacromolecules. 2012. Vol. 13. No. 4. P. 1152.
35. Lanzalaco S., Campora S., Pavia C., Di Leonardo E.R., Gherzi G., Scialdone O. et al. Sterilization of Three-dimensional Tissue Engineering Scaffolds by Supercritical Carbon Dioxide. In 2<sup>nd</sup> International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry and Materials. France, Nice. 15—17 October 2014.
36. Hill C.M., Kang Q.K., Wahl C., Jimenez A., Laberge M., Drews M., Matthews M.A., An Y.H. Int. J. Artif. Organs. 2006. Vol. 29. No. 4. P. 430.
37. Jimenez A., Zhang J., Matthews M.A. Biotechnol. Bioeng. 2008. Vol. 101. No. 6. P. 1344.
38. Zamora D., Wehmeyer J., Wang H.-C., Christy R., Johnson A. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2013. Vol. 54. E-Abstract 4703.
39. Wehmeyer J., Shanmugasundaram N., Christy R. J. Tissue Engineering. Part C. (In Print).
40. Zani F., Veneziani C., Bazzoni E., Maggi L., Caponetti G., Bettini R. Int. J. Pharm. 2013. Vol. 450. No. 1—2. P. 218.

41. *Dehghani F., Annabi N., Titus M., Valtchev P., Tumilar A.* Biotechnology and Bioengineering. Vol. 102. No. 2. P. 569.
  42. *Reverchon E., Della Porta G., Adami R.* Recent Patents on Chemical Engineering. 2010. Vol. 3. No. 2. P. 1.
  43. *Md. Sohrab Hossain, Amutha Santhanam, N.A. Nik Norulaini, A.K. Mohd Omar.* Waste Manag. 2011. Vol. 31. Is. 4. P. 754.
  44. *Md. Sohrab Hossain, Nik Norulaini Nik Ab Rahman, Venugopal Balakrishnan, Abbas F.M. Alkarkhi, Zainul Ahmad Rajion, Mohd Omar Ab Kadir.* Waste Manag. 2015. Vol. 38. P. 462.
  45. *Mun S., Hahn J.-S., Lee Y.-W., Yoon J.* International J. of Food Microbiology. 2011. Vol. 144. Is. 3. P. 372.
  46. *Суслов А.В., Суслова И.Н., Мурзин А.А., Шафиков Д.Н.* СКФ-ТП. 2014. Т. 9. № 1. С. 80.
  47. *Kim S.R., Kim H.T., Park H.J., Kim S., Choi H.J., Hwang G.S., Yi J.H., Ryu D.H., Kim K.H.* International J. of Food Microbiology. 2009. Vol. 134. No. 3. P. 190.
  48. *Andras C.D., Csajagi C., Orban C.K., Albert C., Abraham B., Miklossy I.* Medical Hypothesis. 2010. Vol. 74. No. 2. P. 325.
  49. *Dixon A.* [http://www.army.mil/article/108223/MRE\\_production\\_for\\_2014\\_does\\_away\\_with\\_lasagna\\_refried\\_beans\\_fajitas/](http://www.army.mil/article/108223/MRE_production_for_2014_does_away_with_lasagna_refried_beans_fajitas/)
  50. *Ying L., Fang Z., Aveline D., Anderson M., Chung S., Menella J., Schubert W.* Aerospace Conference IEEE. USA. 7–14 March 2010.
- 
- 

## STERILIZATION IN SUPERCRITICAL MEDIA

**D.Yu. Zalepugin, N.A. Tilkunova, I.V. Chernyshova, M.I. Vlasov**

*Federal State Unitary Enterprise «State Plant of Medicinal Drugs», Moscow, Russia*

The review summarizes the achievements in the field of sterilization in supercritical (SC) media during the last 10 years. In particular, new approaches to the sterilization process realization are described and the possibility to use a wide range of SC media is demonstrated. In addition, some details of microbial inactivation mechanism are presented and new areas of SC sterilization application are discussed.

**Key words:** supercritical media, sterilization, microbial inactivation.

---

---