

УДК 539.1.047

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗВИТИЮ РАДИАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ОБРАБОТКИ БИООБЪЕКТОВ

© 2018 г. У. А. Близнюк^{1,*}, В. М. Авдюхина¹, П. Ю. Борщеговская¹, В. В. Розанов¹,
Ф. Р. Студеникин¹, А. П. Черняев^{1,2}, Д. С. Юров²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

²Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д.В. Скобельцына МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

*E-mail: uabliznyuk@gmail.com

На физическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова проводятся экспериментальные исследования по радиационной обработке продуктов питания различными видами ионизирующего излучения. В работе обсуждается воздействие рентгеновского излучения в различных дозах на биохимические показатели картофеля как альтернативы гамма-излучению и ускоренным электронам, а также воздействие ускоренных электронов в различных дозах на микробиологические показатели охлажденной рыбной продукции. Также представлены результаты исследований по радиационной стерилизации биоимплантатов в сочетании с химическим воздействием. Предложенный метод комбинированной стерилизации, основанный на воздействии озono-кислородной смеси и пучка ускоренных электронов, позволяет снизить дозу облучения биоимплантатов.

DOI: 10.7868/S0367676518060297

Радиационные технологии сегодня с успехом применяют для решения многих как научных, так и производственных задач в таких областях, как здравоохранение, обеспечение сохранности и качества разнообразной сельскохозяйственной продукции, модификации строительных и отделочных материалов, дефектоскопии и обеспечения контроля багажа и грузов при контейнерных перевозках и др. В исследованиях, осуществляющихся на протяжении последних лет на физическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова, совместно с учеными и специалистами Научно-исследовательского и учебно-методического Центра биомедицинских технологий ВИЛАР в качестве приоритетных выделены проблемы удлинения сроков хранения продуктов агропромышленного комплекса и стерилизации биоимплантатов. Развиваемые при этом инновационные физико-химические подходы прекрасно себя зарекомендовали как экономичные и безопасные для человека, эффективные и технологичные в практических применениях.

Одним из направлений исследований является развитие современных радиационных технологий, повышение их эффективности для сохранения свежей сельскохозяйственной продукции, мяса и мясных продуктов, а также рыбной продукции. В настоящее время существуют исследования по воздействию гамма-излучения на различные

показатели свежей сельскохозяйственной продукции. Большое внимание уделяется изучению структурных, химических и морфологических свойств овощей после проведения облучения, в частности картофеля [1–5]. Установлено, что при воздействии гамма-излучения в дозах от 50 до 150 Гр не меняется питательная ценность картофеля и его органолептические свойства, при этом данные дозы позволяют значительно увеличить срок хранения картофеля [1–6]. При проведении радиационной обработки овощных культур также важно учитывать сорт, температуру хранения, время обработки [6]. Значительно реже для остановки прорастания картофеля в качестве альтернативы применяют пучки электронов в указанном диапазоне доз [7–9].

Последнее время ведутся активные исследования по возможности применения ионизирующего излучения для удлинения сроков хранения рыбной и мясной продукции. Известно, что в зависимости от сорта и условий хранения охлажденной рыбы ее срок годности составляет от 7 до 9 дней. Показано, что гамма-излучение в дозах от 1 до 5 кГр увеличивает это время от 12 до 20 дней в зависимости от условий хранения [10–17]. Так, при дозах до 3 кГр снижается рост популяций болезнетворных бактерий и микроорганизмов, при этом их количество уменьшается с увеличением дозы облучения,

а длительность хранения достигает 12–14 дней [10, 12, 13]. При дозе 5 кГр развитие патогенов полностью блокируется, а срок хранения увеличивается до 18–20 дней [12, 15]. Исследуется применение гамма-излучения для продления периода хранения мяса и птицы. Показано, что при облучении охлажденной мясной продукции в диапазоне доз от 10 кГр и более сроки хранения достигали 16 дней [18].

Наряду с микробиологическими показателями изучаются химические и органолептические свойства рыбной и мясной продукции после обработки гамма-излучением. Показано, что гамма-излучение в дозах до 3 кГр не влияет на вкусовые и внешние характеристики рыбной продукции [12, 13, 16, 17]. При дозах гамма-излучения от 5 кГр наблюдается усиление перекисного окисления липидов и белков, что влечет за собой изменение органолептических свойств [12, 15]. Также, как и в случае с рыбной продукцией, при облучении говядины, свинины и мяса птицы имеет место увеличение перекисного окисления липидов и белков, что также влечет за собой изменение вкуса, цвета и запаха продукции [18–20].

Представляется интересным исследование воздействия рентгеновского излучения, как альтернативы гамма-излучению и ускоренным электронам, на биохимические показатели свежей сельскохозяйственной продукции (картофеля), а также ускоренных электронов на микробиологические показатели рыбной продукции (охлажденной форели).

В качестве объекта для исследования изменения биохимических показателей свежей сельскохозяйственной продукции были выбраны клубни картофеля массой 100–120 г сорта “Невский”, выращенные на базе Всероссийского научно-исследовательского института картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха. Клубни картофеля облучали рентгеновским излучением от источника питания ПУР5/50 с рентгеновской трубкой БСВ-23 с молибденовым анодом. Ток трубки во всех экспериментах составлял 20 мА, напряжение – 50 кВ, рабочая мощность трубки – 1 кВт. Клубни облучали в течение 15, 30, 45, 60 и 90 минут с двух сторон для обеспечения равномерности воздействия. Для оценки поглощенной дозы проводилось моделирование с использованием программного кода GEANT4 с учетом технических характеристик используемой трубки. Расчеты показали, что использованные времена экспозиции соответствуют дозам 9, 18, 27, 36 и 54 Гр. Эксперименты проводили при температуре 18 °С, относительная влажность составляла 40–50%.

Через три дня после облучения в клубнях определяли концентрацию белка методом Лоури, концентрации восстанавливающих сахаров и глюкозы

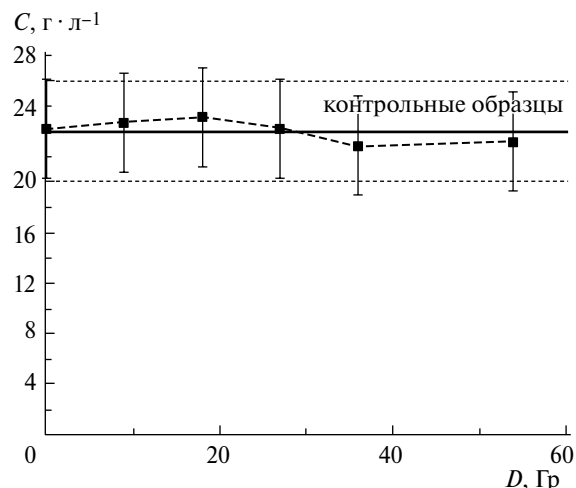


Рис. 1. Зависимость концентрации белка в картофельных клубнях от дозы облучения.

колориметрическими методами, которые затем сравнивались с соответствующими контрольными показателями. Для измерения вышеприведенных характеристик из каждого картофельного клубня выделяли экстракт, который центрифугировали и использовали далее в качестве рабочего раствора.

На рис. 1 представлена зависимость концентрации C белка в картофеле после его обработки рентгеновским излучением от дозы облучения D . Для сравнения сплошной линией показана концентрация белка в контрольных (необлученных) образцах с соответствующей погрешностью измерений. Видно, что рентгеновское излучение в диапазоне доз от 9 до 54 Гр не приводило к достоверному изменению количества белка в картофельных клубнях.

На рис. 2 представлены зависимости концентраций C восстанавливающих сахаров и глюкозы в картофеле от дозы облучения D . Доза “0” Гр соответствует показателям контрольных образцов. Видно, что при дозах до 10 Гр количество восстанавливающих сахаров не менялось и практически равнялось контрольному значению (5 ± 0.8) г · л⁻¹. При дозах от 20 Гр и более концентрация сахаров возрастала, максимальное значение составило (8.5 ± 0.9) г · л⁻¹. Концентрация глюкозы практически не менялась в диапазоне доз от 9 до 54 Гр.

В качестве объекта исследования воздействия ускоренных электронов на микробиологические показатели рыбной продукции была выбрана форель охлажденная. Куски охлажденной форели толщиной 0.7 см облучались пучком ускоренных электронов, получаемых от промышленного ускорителя электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001 с энергией 1 МэВ и средней мощностью пучка 25 кВт. Облучение проводилось

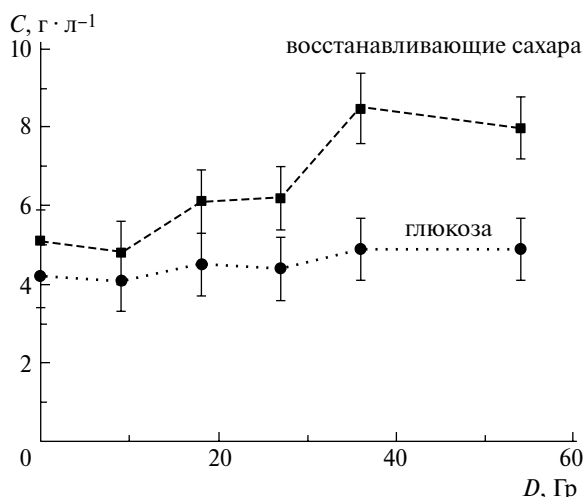


Рис. 2. Зависимость концентраций сахаров и глюкозы в картофеле от дозы облучения.

при температуре 18 °С. Образцы облучались при 5 различных дозах с двух сторон для обеспечения однородности облучения. Далее осуществлялся контроль количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в КОЕ/г в облученных и необлученных образцах на 3, 6 и 9 сутки после проведения облучения, температура хранения в течение этого периода составляла 6 °С.

Для оценки поглощенной дозы в форели было проведено компьютерное моделирование с учетом всех технических характеристик ускорителя УЭЛР-1-25-Т-001 и параметров облучения при помощи программного кода GEANT4. Расчеты показали, что форель облучалась в дозах 20, 200 Гр, 2, 6 и 20 кГр.

На рис. 3 представлены зависимости количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов ($\ln N$), измеренных на 3, 6 и 9 сутки после проведения облучения, от поглощенной дозы ($\ln D$), рассчитанной с помощью программного кода.

В результате эксперимента было установлено, что при воздействии пучка ускоренных электронов с энергией 1 МэВ количество микроорганизмов уменьшалось с увеличением дозы облучения в диапазоне доз от 20 Гр до 20 кГр, причем, чем больше время после облучения, тем более значительная разница наблюдалась между необлученными и облученными образцами.

Радиационные методы эффективно применяются и для стерилизации биоимплантатов, и в частности, костного пластического материала. Эта технологическая процедура в последние годы является все более востребованной в связи с постоянным ростом потребности в костных

препаратах, используемых в реконструктивных оперативных вмешательствах [21, 22]. В технологической цепочке изготовления костных имплантатов стерилизация занимает важнейшее место, так как никакое совершенство пересадочного материала не имеет значения, если не обеспечена безопасность его введения в организм реципиента [23, 24].

Исторически технологии такой стерилизации развивались от традиционных способов гипертермии (паровая стерилизация). Однако такая обработка не является эффективной для биоматериалов, так как при продолжительном высокотемпературном воздействии происходит денатурация белка. Вместе с тем следует отметить, что рядом авторов были предложены оригинальные методики термической инактивации вирусов в костных имплантатах [25–27]. В качестве более пригодной долгое время рассматривалась химическая обработка биоматериалов (в газовой среде или в специальных растворах [28, 29]). При этом одни исследователи [28] утверждали, что обработка костных образцов различными жидкими реагентами в оптимальных концентрациях и режимах не нарушает полезных свойств имплантатов, в то время как другие [30] прямо указывают на недостаточную эффективность химической стерилизации в борьбе со спорами и вирусами.

Использование газового реагента — окиси этилена — сопровождается еще более противоречивыми мнениями специалистов — от безусловной поддержки [29, 31, 32] до полного неприятия методики, как не отвечающей требованиям безопасности [33]

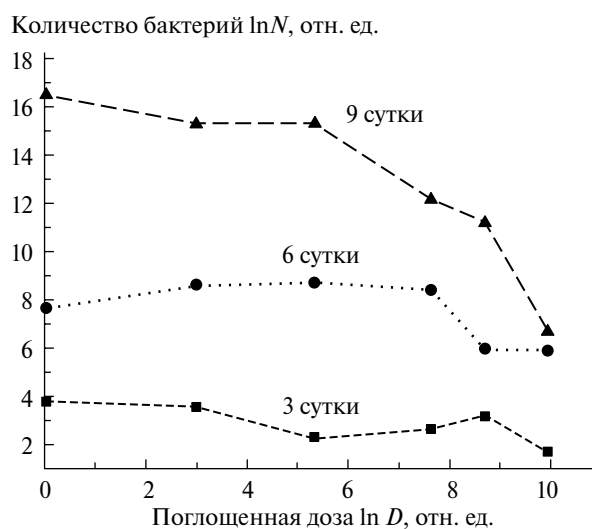


Рис. 3. Зависимости количества бактерий КМАФАнМ ($\ln N$) в образцах от дозы облучения ($\ln D$), измеренные на 3, 6 и 9 сутки после облучения.

и не обеспечивающей сохранение остеиндуктивных свойств трансплантатов [34, 35].

В последние годы наиболее эффективной считается радиационная стерилизация биоимплантатов. Сегодня используются два основных способа – стерилизация гамма-излучением ^{60}Co [36, 37] и потоком быстрых электронов на ускорителях 5–10 МэВ [38]. Применение ионизирующего излучения обеспечивает целый ряд преимуществ, определяемых его высокой проникающей способностью, слабым нагревом обрабатываемых объектов. Кроме того, его можно использовать для стерилизации предметов, помещенных в герметичную упаковку, что снижает риск вторичного обсеменения.

И тот, и другой способы уже более 50 лет применяются в промышленных масштабах [39] и постоянно развиваются и конкурируют. Первоначально в конце 1950-х годов преимущественное развитие получила стерилизация изделий медицинского назначения пучком быстрых электронов. В следующем десятилетии преобладали промышленные гамма-технологии. В последние годы вновь наблюдается возрождение интереса к электронно-лучевым установкам, которые могут обеспечить преимущества в некоторых приложениях над стерилизацией гамма-излучением, например, такие как:

- отсутствие проблем использования, транспортировки и хранения радиоактивных материалов;
- возможность сопряжения с процессом производства для непрерывной обработки;
- более высокая производительность за счет существенного снижения времени облучения.

При этом и то, и другое воздействие характеризуется практически эквивалентным биологическим эффектом [40], определяемым величиной поглощенной дозы. Этот же параметр является определяющим для эффективности процесса стерилизации. В качестве стандартной дозы обычно принимают величину 25 кГр [41]. Однако есть данные, свидетельствующие о том, что для эффективной инактивации ВИЧ необходимо радиационное воздействие с дозой до 60 кГр [42]. При этом многие исследователи приводят данные о том, что облучение с дозами поглощения начиная с 15 кГр приводит как к существенному изменению механических характеристик биоимплантатов, так и их морфологии [43, 44]. Высокоэнергетическое радиационное воздействие пагубно влияет и на морфогенетические белки, что в совокупности резко снижает остеиндуктивные свойства имплантатов. В качестве компромиссного решения в различных странах устанавливают рабочий диапазон радиационной стерилизации от 15–25 до 25–35 кГр [21, 41, 45]. Но при этом задача снижения дозовой нагрузки всегда остается на повестке дня.

Один из путей решения этой задачи – использование комбинированных технологий, основанных на синергизме двухэтапного сочетанного стерилизующего воздействия различных физико-химических факторов [46–48]. В развиваемых технологических подходах на первом этапе стерилизуемый образец подвергается химическому воздействию в жидкой или газообразной фазе, а затем на втором этапе осуществляется радиационное облучение. Причем, по отдельности воздействие каждого из факторов недостаточно для полной стерилизации объекта, но вместе они усиливают действие друг друга, что не только обеспечивают надежную стерилизацию, но и дает возможность существенно снизить дозовую нагрузку. Предложенная авторами технология комбинированной стерилизации костных имплантатов, основанная на последовательном воздействии озono-кислородной смеси и радиационной обработки пучком быстрых электронов, продемонстрировала возможность достижения необходимой стерильности образцов при значении дозы в 11–13 кГр. Такая величина поглощенной дозы может позволить использовать в качестве источника ионизирующего излучения и такой более дешевый вариант как, например, рентгеновское излучение [49]. Разработанная технология защищена патентом Российской Федерации [50].

Лабораторные исследования и клинический опыт показывают, что развитие инновационных подходов по радиационной обработке биообъектов, в частности продукции агропромышленного комплекса и биоимплантатов, не только является актуальным, но и определяет новые перспективные направления применения и совершенствования радиационных технологий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Nouri J., Toofanian F.* // Pakistan J. Biosci. 2001. V. 4. P. 1275.
2. *Burton W.G., Hannan R.S.* // J. Sci. Food. Agr. 1957. V. 8. P. 707.
3. *Ghanekar A.S., Padwal-Dessi S.R. et al.* // J. Agr. Food Chem. 1983. V. 31. P. 1009.
4. *Frazier M.J. et al.* // Amer. J. of Potato Res. 2006. V. 83.1. P. 31.
5. *Rezaee M. et al.* // J. Agr. Sci. Tech. 2001. V. 13. P. 829.
6. *Neelma M. et al.* // Pak. J. Life Soc. Sci. 2015. V. 13 (3). P. 153.
7. *Hayashi T., Todoriki S.* // JAERI-Conf. 2002. V. 13.
8. *Hayashi T., Todoriki S.* // Radiat. Phys. and Chem. 2000. V. 57. I. 3–6. P. 253.
9. *Алимов А.С., Близнюк У.А. и др.* // Изв. РАН. Сер. физ. 2017. V. 81. № 4. С. 43.
10. *Jeevanandamb K., Kakatkar A. et al.* // Food research J. 2001. V. 34. I. 8. P. 739.

11. *Dymcza H.A., Lee C.M. et al.* // J. food sci. 1990. V. 55. I. 6. P. 1745.
12. *Moini S., Tahergorabi R. et al.* // J. food protection. 1999. V. 72. I. 7. P. 1419.
13. *Chouliara I., Savvaidis I.N. et al.* // Sci. food agriculture. 1994. V. 85. I. 5. P. 779.
14. *Arvanitoyannis I.S., Stratakos A. et al.* // Critical rev. in food sci. and nature. 1998. V. 49. I. 1. P. 68.
15. *Hocaoğlu A., Sükrü A. et al.* // Radiat. phys. and chem. 2012. V. 81. I. 12. P. 1923.
16. *Ahmed I. O., Alur M.D. et al.* // Intern. J. food sci. and techn. 2007. V. 32. № 4. P. 325.
17. *Lakshmanana R., Venugopalb V. et al.* // Food res. intern. 2007. V. 32. I. 10. P. 707.
18. *Lefebvre N., Thibault C. et al.* // Meat sci. 2004. V. 36. I. 3. P. 371.
19. *Heath J.L., Owens S.L. et al.* // Poultry Sci. 2000. V. 69. I. 2. P. 313.
20. *Ahn D.U., Olson D.G. et al.* // J. food sci. 2008. V. 63. № 1. P. 15.
21. *Dziedzic-Goclawska A., Kaminski A. et al.* // Cell Tissue Bank. 2005. V. 6. P. 201.
22. *Розанов В.В., Матвейчук И.В. и др.* // Технологии живых систем. 2015. Т. 12. № 4. С. 59.
23. *Лекишвилли М.В.* // Технологии изготовления костного пластического материала для применения в восстановительной хирургии (эксперим. исслед.): дисс. д.м.н. Москва. 2005. 236 с.
24. *Пантелеев В.И., Розанов В.В. и др.* // Биомед. радиоэлектроника. 2013. № 2. С. 3.
25. *Le Huec J.C.* // Chirurgie. 1992. V. 118. № 6–7. P. 397.
26. *Kuhne J.H., Refior H.J. et al.* // Z. Orthop. Ihre Grenzged. 1994. Bd. 132. № 2. P. 102.
27. *Dormont D., Creutzfeld J.* // Transplant. Proc. 1996. V. 28. № 12. P. 2931.
28. *Савельев В.И.* // Сб. науч. тр.: “Получение и клиническое применение деминерализованных костных трансплантатов”. Л., 1987. С. 4.
29. *Kakiuchi M., Ono K. et al.* // Int. Orthopaed. 1996. V. 20. № 3. P. 142.
30. *Pugliese G., Favero M.S.* // Infection Control & Hospital Epidemiology. 2000. V. 21. № 8. P. 549.
31. *Jackson D.W., Windler G. et al.* // Am. J. Sports Med. 1990. V. 18. № 1. P. 1.
32. *Tshamala M., Cox E. et al.* // Vet Immunol. Immunopathol. 1999. V. 69. № 1. P. 47.
33. *Danielson N.E.* // Sterilization of medical products. 1991. P. 194.
34. *Thorén K., Aspenberg P.* // Clin. Orthop. 1995. № 318. P. 259.
35. *Russell J.L., Block J.E.* // Orthopedics. 1999. V. 22. № 5. P. 524.
36. Trends in radiation sterilization of health care products. Vienna: Intern. Atom. Energy Agency, 2008.
37. *Singh R., Singh D. et al.* // World J. of Radiology. 2016. V. 8. I. 4. P. 355.
38. *Beck J.A.* // Radiation Phys. and Chem. 2012. № 81. P. 1236.
39. *Baba T., Kaneko H. et al.* // Radiat. Phys. and Chem. 2004. № 71. P. 207.
40. *Tallentire A., Miller A. et al.* // Radiat. Phys. and Chem. 2010. V. 79. P. 701.
41. *Перова Н.В., Довжик И.А. и др.* // V Всерос. симп. “Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии”. Уфа. 2012. Сб. тезисов. С. 99.
42. *Campbell D.G., Li P.* // J. of Surgery. 1999. V. 69. P. 517.
43. *Zhang Y., Homsy D. et al.* // Spine. 1994. V. 19. P. 304.
44. *Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т.* // Морфология. Науч.-теор. мед. журн. С.-Пб. 2006. № 3. Т. 129. С. 44.
45. *Hornicek F.J., Woll et al.* // Sociation of Tissue Banks: Standards for Tissue Banking, 10th Edition. 2002.
46. *Матвейчук И.В., Розанов В.В. и др.* // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. 2013. Т. 11. № 11. С. 92.
47. *Розанов В.В., Быков В.А. и др.* // Мед. альманах. 2013. № 3 (27). С. 24.
48. *Савельев В.И., Булатов А.А., Рыков Ю.А.* // Комбинированный способ стерилизации костных трансплантатов. Патент РФ № 2356224. 27.05.2009. Бюлл. № 15.
49. *Tallentire A., Miller A.* // Radiat. Phys. and Chem. 2015. V. 107. P. 128.
50. *Матвейчук И.В., Розанов В.В., Гордонова И.К. и др.* Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов // Патент РФ № 2630464. 08.09.2017. Бюлл. № 25. 3 с.