

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи



Близнюк Ульяна Александровна

**Новые подходы к развитию методов радиационной
обработки биологических объектов**

1.5.1. — Радиобиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора физико-математических наук

Научный консультант:
Черняев Александр Петрович,
доктор физико-математических наук, профессор

Москва — 2024

Содержание

Введение	4
Глава 1. Радиационная обработка биологических объектов — перспективный и универсальный инструмент для обеспечения микробиологической безопасности (обзор литературы)	5
1.1. Физические принципы и области применения радиационной обработки биообъектов.....	12
1.2 Источники излучения и дозиметрический контроль.....	20
1.3 Определяющие физические параметры излучения для подавления микроорганизмов в биологических тканях.....	36
1.4 Физико-химические изменения в биологических объектах после радиационной обработки	43
1.5 Физические параметры излучения для обработки сельскохозяйственной продукции с целью продления сроков хранения и обработки семенного материала.....	51
Глава 2. Методология диссертационного исследования	60
2.1 Объекты исследования	60
2.2 Схема и параметры облучения образцов биологической ткани рентгеновским излучением и пучками электронов.....	60
2.3 Математическое моделирование пространственного распределения поглощенной дозы в биологическом объекте с использованием программного кода GEANT4	65
2.4 Дозиметрический контроль облучения биологических объектов.....	69
2.5 Исследование эффективности подавления микробиологических показателей биологических объектов.....	73
2.6 Определение концентрации летучих органических соединений с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии	76
2.7 Спектрофотометрический метод определения концентраций производных форм миоглобина для оценки окислительных процессов в биологических тканях.....	79
2.8 Высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией для количественной оценки повреждений нативной структуры белка с использованием ферментативного гидролиза трипсином.....	80
2.9 Различение облученных и необлученных образцов биологической ткани с использованием флуориметрического метода «отпечатков пальцев».....	83
2.10 Исследование влияния характеристик радиационной обработки на показатели роста и фитосанитарное состояние сельскохозяйственных культур, на сроки хранения клубней картофеля.....	85
Глава 3. Физические основы методов повышения однородности радиационной обработки биологических объектов.....	88
3.1 Эффективность радиационной обработки биологических объектов.....	88
3.2 Характеристики источников излучения и объектов, влияющие на однородность распределения поглощенной дозы	91
3.2.1 Ускоренные электроны.....	91
3.2.2 Пространственное распределение характеристик пучка ускоренных электронов в биологическом объекте	98
3.2.3 Тормозное излучение. Факторы, влияющие на однородность.....	107
распределения дозы	107
3.2.4. Гамма-излучение, генерируемое радиоизотопами ^{60}Co и ^{137}Cs . Факторы, влияющие на однородность распределения поглощенной дозы K_1'	117
3.3 Физико-математические методы для повышения эффективности обработки.....	121

3.3.1 Физические методы повышения коэффициента однородности распределения поглощенной дозы в объеме объекта при воздействии пучками ускоренных электронов	121
Выводы к Главе 3	130
Глава 4. Оптимизация параметров радиационной обработки для инактивации микроорганизмов	132
4.1 Экспериментальные результаты влияния физических характеристик излучения (доза; мощность дозы) на эффективность инактивации микроорганизмов.....	132
4.2 Сравнение эффективности инактивации микроорганизмов в биологическом объекте при облучении пучком электронов и рентгеновским излучением.....	134
4.3 Экспериментальные результаты влияния свойств биообъекта (начальное количество жизнеспособных микроорганизмов; разный состав питательных веществ; тип микроорганизмов) на эффективность подавления микроорганизмов	139
4.4. Кинетика изменения микробиологических параметров после обработки ускоренными электронами. Экспериментальные данные и математическая модель	143
Выводы к Главе 4	149
Глава 5. Контроль радиационно-химических превращений летучих органических соединений и биофизических изменений в биологическом объекте.....	150
5.1 Влияние параметров излучения и характеристик объекта на радиационно-химические превращения летучих органических соединений	150
5.2 Механизмы радиационно-химических превращений летучих органических соединений во время облучения биообъектов и при их последующем хранении	164
5.3 Выбор оптимального диапазона доз на основе дозовых и временных зависимости концентраций летучих органических соединений	174
5.4 Концентрация производных форм миоглобина как маркер окислительных процессов в биообъектах после воздействия пучка электронов.....	179
5.5 Количественная оценка повреждений нативной структуры белка как маркер воздействия ионизирующего излучения с различными физическими характеристиками.....	188
5.6 Обоснование критериев выбора оптимальных характеристик радиационной обработки биообъектов	194
5.7 Идентификация облученных и необлученных биологических объектов с использованием флуориметрического метода «отпечатков пальцев»	197
Выводы к главе 5.....	209
Глава 6. Влияние радиационной обработки на прорастание сельскохозяйственных культур и подавление фитопатогенов	211
6.1 Эффективность радиационной обработки клубней картофеля с использованием разных источников излучения	211
6.2 Биометрические показатели и фитосанитарное состояние семян при радиационной обработке разными источниками излучения	222
6.3 Эффективность подавления чистых культур фитопатогенов при обработке пучками электронов	232
6.4 Оптимизация параметров радиационной обработки сельскохозяйственных культур	234
Выводы к Главе 6	237
Заключение	238
Выводы.....	240
Список литературы	242
Приложение 1	279

Введение

Согласно стратегии научно-технического развития Российской Федерации от 28 февраля 2024 года, обеспечение продовольственной безопасности, снижение технологических рисков в агропромышленном комплексе на фоне глобального продовольственного кризиса являются одними из приоритетных направлений научно-технического развития нашей страны [1]. Радиационная обработка зарекомендовала себя как эффективный способ обеспечения микробиологической безопасности биологических объектов путем инактивации излучением широкого спектра микроорганизмов и вредителей, фитопатогенов, вирусов, содержащихся в продуктах питания [2,3]. Воздействие ионизирующим излучением является универсальным методом обработки различных биологических объектов и материалов, поскольку позволяет решать широкий спектр задач, начиная от стимуляции роста растений до стерилизации сточных вод и биологических отходов. Метод не приводит к изменениям температуры и давления, не вызывает появления токсичных химических веществ, а также дает возможность обрабатывать объекты в упаковке, что снижает риск повторной контаминации [2,4].

Несмотря на то, что на сегодняшний день большинство центров промышленной обработки оснащено источниками ^{60}Co для облучения продуктов гамма-излучением, МАГАТЭ ставит задачу оптимизации подхода к радиационной обработке посредством перехода к низкоэнергетическим пучкам электронов и мягкому рентгеновскому излучению для поверхностной и приповерхностной антимикробной обработки объектов и для фитосанитарных целей [5,6]. Во всем мире рост количества центров обработки, оснащенных ускорителями электронов, объясняется более высокой по сравнению с гамма-установками производительностью, возможностью контроля глубины проникновения излучения в объект посредством варьирования энергии пучка. Для решения задачи оптимизации радиационной обработки необходимы исследования физических процессов и выявление закономерностей взаимодействия излучения с молекулами и субклеточными структурами биологических объектов при различных параметрах распределения радиационного воздействия в объекте.

Исследования в области радиационной обработки выявили серьезные пробелы, препятствующие масштабному внедрению технологии в отношении широкого спектра пищевых продуктов. Так, имеющиеся мировые стандарты регламентируют максимальные дозы радиационного воздействия, безопасные для биообъекта и не приводящие к образованию токсичных соединений [7]. При этом исследователями отмечается существенное влияние высоких доз облучения на физико-химические показатели продукции, что сказывается на качестве обрабатываемого продукта [8-12]. Так, для радиационной обработки мясной продукции рекомендуемые дозы, обеспечивающие ее микробиологическую безопасность,

составляют 5-7 кГр. В то же время современные исследования с применением высокотехнологичных физических и химических методов анализа характеристик продукции выявляют окисление липидов и белков, разрушение витаминов в продукте при воздействии в дозах от 3 кГр [8-12,13]. Каждый продукт питания, биомедицинское изделие и его компоненты имеют различные физические и биохимические свойства. Это необходимо учитывать для определения критериев выбора оптимальных параметров радиационного воздействия и повышения эффективности обработки.

Актуальной научной и практической задачей является идентификация радиационного облучения продуктов питания. Отсутствие информации о применении ионизирующего излучения для обеспечения микробиологической безопасности повышает риск применения повторного облучения продукции, что может привести к потере качества и пищевой ценности продуктов. Существующие скрининговые и эталонные методики [14-23] имеют ряд ограничений применения в отношении продуктов с содержанием влаги, связанных с длительной пробоподготовкой образцов, использованием сложного оборудования, имеются ограничения по чувствительности к дозам облучения менее 1 кГр [24-29]. Поэтому исследования в области усовершенствования существующих методик и создания новых методов идентификации факта облучения биологических объектов, установление универсальных биомаркеров радиационного воздействия являются весьма актуальными.

Цель работы заключалась в разработке новых подходов к выбору оптимальных параметров радиационной обработки биологических объектов для повышения ее эффективности.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Разработать комплексный подход к оценке результирующей эффективности радиационной обработки биологических объектов.
2. Исследовать возможности увеличения равномерности распределения поглощенной дозы в биологических объектах с различными физическими характеристиками.
3. Изучить влияние параметров радиационного воздействия на эффективность гибели целевых мишеней в биообъектах с учетом неоднородности радиобиологической чувствительности мишеней.
4. Исследовать кинетику радиационно-химических превращений летучих органических соединений в биообъектах под воздействием излучения с различными характеристиками.
5. Провести количественную оценку изменений белковых молекул, вызванных радиационным воздействием с различными параметрами.
6. Определить вещества, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров радиационного воздействия.

7. Установить критерии определения оптимальных диапазонов доз радиационной обработки биообъектов.

Методология исследования

Выполнен комплекс экспериментальных исследований влияния параметров излучения на эффективность радиационной обработки биологических объектов и модельных систем. В качестве биообъектов были выбраны объекты животного и растительного происхождения (гомогенат говядины, индейки, курицы, семги и форели, клубни картофеля, семена зерновых и масличных культур). Модельные объекты представляли собой бактерии, грибы, фитопатогены, стандартные образцы летучих органических соединений, белок бычий сывороточный альбумин.

Радиационная обработка биообъектов и модельных систем проводилась электронами, генерируемыми тремя ускорительными установками электронов, с различной максимальной энергией пучка. Обработка рентгеновским излучением проводилась с помощью двух различных рентгеновских аппаратов. Расчетное планирование радиационной обработки биообъектов проводилось с использованием инструментария GEANT 4.

В работе использован следующий комплекс современных физических методов исследования биохимических и биофизических показателей биологических объектов: метод газовой хромато-масс-спектрометрии; метод жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с тандемным масс-спектрометрическим детектированием; спектрофотометрический метод оценки концентраций производных миоглобина; кинетический флуориметрический метод «отпечатков пальцев» для распознавания облученных и необлученных биологических объектов. Микробиологический анализ биообъектов осуществлялся в рамках стандартной методики подсчета общего количества жизнеспособных клеток. Для анализа кинетики изменений микробиологических и химических показателей биообъектов, измеренных в экспериментальных исследованиях, использовались методы математического моделирования.

Для оценки влияния радиационной обработки на характеристики сельскохозяйственных культур использовались опытные площадки Сибирского Федерального Научного Центра Агробιοтехнологий РАН.

Положения, выносимые на защиту

1. Эффективность радиационной обработки биологических объектов, результатом которой является повреждение целевых и нецелевых мишеней, определяется совокупностью факторов, главными из которых являются: равномерность распределения поглощенной

дозы по объему объекта; вероятность взаимодействия излучения с биологическими мишенями; неоднородность радиобиологической чувствительности мишеней.

2. Разработанные физико-математические модели, описывающие зависимость эффективности повреждения целевых и нецелевых мишеней в биологическом объекте от дозы облучения до 10000 Гр обеспечивают возможность выбора границ оптимального диапазона доз для повышения эффективности радиационной обработки биологических объектов.
3. Выбор типа источника (электроны, рентгеновское излучение) и характеристик радиационного воздействия определяется многофакторностью процессов взаимодействия излучения и биологического объекта. Такой подход закладывает основу перспективных систем планирования радиационной обработки биологических объектов.
4. Летучие органические соединения — альдегиды, спирт этанол, а также белок метмиоглобин могут быть использованы в качестве маркеров окисления липидов и белков, бактериальной активности в биологических объектах после радиационной обработки. Их содержание на определенном уровне позволяет обосновать выбор границ оптимального диапазона доз.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые:

1. Разработан алгоритм планирования радиационной обработки биологических объектов, основой которого является комплексный подход к повышению эффективности обработки. В его основе учет равномерности распределения поглощенной дозы по объему объекта, вероятности взаимодействия излучения с биологическими мишенями, приводящего к их повреждению, а также неоднородности радиочувствительности биологических мишеней.
2. Определен ряд летучих органических соединений альдегидов, а также белок миоглобин, которые могут выполнять роль маркеров радиационной обработки биологических объектов.
3. С помощью метода ферментативного гидролиза трипсином установлены зависимости количества потенциальных повреждений нативной структуры белка (бычьего сывороточного альбумина) от физических параметров радиационной обработки.
4. С использованием кинетического флуориметрического метода «отпечатков пальцев» показана возможность распознавания облученных и необлученных биологических объектов после обработки ускоренными электронами и рентгеновским излучением в диапазоне доз 100–10000 Гр.
5. Разработаны физико-математические модели, описывающие кинетику изменений микробиологических показателей, концентраций летучих органических соединений,

производных миоглобина, образующихся в биологическом объекте во время облучения в дозах до 10000 Гр и после радиационной обработки. Предложенные модели учитывают механизмы радиационно-химических превращений биомакромолекул и низкомолекулярных соединений в биообъекте за счет действия излучения, а также за счет бактериально-ферментативных процессов в биологических объектах после радиационной обработки.

Практическая значимость работы

1. В экспериментальных условиях установлены критерии выбора оптимальных диапазонов доз для различных источников радиационного воздействия и их энергетических спектров при радиационной обработке различных биообъектов (говядина, индейка, курица, семга, форель, клубни картофеля, семена зерновых и мастичных культур). Результаты могут быть положены в основу разработки практических рекомендаций для дальнейшего промышленного использования радиационной обработки охлажденной мясной и рыбной продукции, и сельскохозяйственных культур.
2. Разработанный алгоритм планирования радиационной обработки биологических объектов, учитывающий контроль содержания летучих органических соединений альдегидов, белка метмиоглобина на определенном уровне, может быть положен в основу обеспечения безопасности продуктов питания после радиационной обработки.
3. Установленные зависимости концентраций ряда летучих органических соединений, метмиоглобина в биообъекте, зависимости количества потенциальных повреждений нативной структуры белка бычьего сывороточного альбумина в модельных системах от дозы облучения могут быть положены в основу разработки биодозиметров при радиационной обработке биологических объектов.
4. Показана применимость метода «отпечатков пальцев» для различения облученных и необлученных биологических объектов. Выработанный подход может быть использован для разработки методик идентификации факта радиационной обработки других биообъектов.
5. Показано, что для радиационной обработки семенного материала сельскохозяйственных культур с целью улучшения фитосанитарных показателей оптимальным является использование ускоренных электронов с энергией до 1 МэВ и рентгеновского излучения с энергией до 80 кэВ.
6. Полученные результаты используются в учебном процессе на физическом факультете МГУ в курсах дозиметрии, биофизики радиационных воздействий и радиобиологии,

а также в образовательных программах повышения квалификации медицинских физиков и специалистов в области планирования радиационной обработки биообъектов.

Личный вклад автора

Большая часть экспериментальных и теоретических исследований выполнена автором лично или под ее непосредственным руководством. Автору принадлежит основная роль при выборе методов решения поставленных задач, анализе результатов и их обобщении. Автор является руководителем и ответственным исполнителем проектов, финансируемых РФФИ и РНФ.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность приведенных в работе результатов обеспечена большим объемом экспериментального материала, полученного с использованием современных физических и химических методов исследования, приборов и оборудования, общепринятых измерительных методик с использованием современных программных средств и методов статистической обработки данных.

Апробация результатов

Результаты работы были представлены в виде научных докладов на Международных и Всероссийских конференциях, в том числе за последние 5 лет: 9th International Conference on Food Chemistry & Technology (Франция, Париж, 2023); I, II Международная молодежная конференция (Macedonia, 2018; Greece, 2020); «Генетические и радиационные технологии в сельском хозяйстве» (РФ, Обнинск, 2022, 2023); LXVII–LXXIII Международная конференция по ядерной физике «ЯДРО»: Фундаментальные вопросы и приложения» (Воронеж, 2018; Дубна, 2019; Санкт-Петербург, 2020; Санкт-Петербург, 2021; Москва, 2022; Саров, 2023); XI Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика» (РФ, Туапсе: 2023); Международный форум «Агробiotехнологии: достижения и перспективы развития» (РФ, Москва, 2023); Научный форум «Россия–Африка: диалог молодых ученых» (РФ, Москва, 2023); 6th, 8th, 10th, 12th International conference on radiation applications (Macedonia, 2018; Greece, 2020, 2024; Montenegro, 2022); Международная научная конференция «Ломоносовские чтения. Секция Физика» (РФ, Москва, 2019, 2021–2023); Международный молодежный форум «Россия–Африка: Ядерное образование для устойчивого развития» (РФ, Москва, 2021, 2022); 11-th International Conference on Food Science and Food Safety & 6th International Conference on Nutrition, Food Science and Health Management (United Arab Emirates, Dubai, 2022); II, IV Международная молодежная конференция «Современные проблемы радиобиологии, радиозэкологии и агроэкологии» (РФ, Обнинск, 2019, 2021); VIII Международная научно-практическая конференция «Новейшие направления развития

аграрной науки в работах молодых ученых» (РФ, Новосибирск, 2021); XIV Международная научная конференция «Физика и Радиоэлектроника в Медицине и Экологии» (РФ, Суздаль, 2020); VIII Московский международный инженерный форум «Инженерные технологии в медицине — опыт COVID-19» (РФ, Москва, 2020); VII Троицкая конференция с международным участием «Медицинская физика» (РФ, Троицк, 2020); Международная научно-практическая конференция «Ядерно-физические исследования и технологии в сельском хозяйстве» (РФ, Обнинск, 2020); XVI Международная научно-практическая конференция «Пища. Экология. Качество» (РФ, Барнаул, 2019); 1st Central Asian Radiation Oncology Congress (Uzbekistan, Tashkent, 2018); Международная научная конференция «Радиобиология: актуальные проблемы» (Беларусь, Гомель, 2018); Международная научно-практическая конференция «Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы» (РФ, Обнинск, 2018); Международная конференция «Радиобиологические основы лучевой терапии» (РФ, Обнинск, 2017); Межуниверситетский междисциплинарный семинар «Современные достижения в биомедицине и биофотонике» (РФ, Москва, 2023); Всероссийская научно-образовательная конференция с международным участием «Интеграция наук: междисциплинарность в медицине» (РФ, Якутск, 2022); Молодежная конференция по теоретической и экспериментальной физике (РФ, Москва, 2019); 20, 21 Научно-техническая конференция «Медико-технические технологии на страже здоровья», (РФ, Москва, 2018, 2019).

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.1 — Радиобиология по области исследований: исследование закономерностей биологического ответа на воздействие ионизирующих излучений и разработка эффективных средств и способов управления радиобиологическими эффектами; количественная оценка биологического действия излучения; фундаментальные и прикладные проблемы дозиметрии радиобиологических эффектов; биологическая дозиметрия; проблема радиационной чувствительности биологических объектов; радиационные технологии для безопасности продукции; радиационное обеззараживание сельскохозяйственной продукции.

Исследования **поддержаны** Российским научным фондом («Поиск биохимических маркеров идентификации радиационной обработки объектов органического происхождения» № 22-63-00075, 2022-2025 гг.) и Российским фондом фундаментальных исследований («Влияние ионизирующего излучения на биохимические свойства сельскохозяйственной продукции» № 18-016-00198, 2018-2019 гг.).

Публикации

Основные результаты диссертации отражены в 43 публикациях, в том числе 27 статей в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 284 страницах печатного текста и включает 130 рисунков и 28 таблиц. Работа состоит из введения, 6 глав, заключения и приложения. Список литературы включает 464 наименования.

Глава 1. Радиационная обработка биологических объектов — перспективный и универсальный инструмент для обеспечения микробиологической безопасности (обзор литературы)

1.1. Физические принципы и области применения радиационной обработки биообъектов

Радиационные технологии с успехом применяются для решения широкого спектра задач [2,4], таких как: лечение и диагностика различных заболеваний [30]; стерилизация медицинского оборудования [31,32]; продление сроков хранения и санитарный контроль продуктов сельского хозяйства и пищевой промышленности [33-35]; модификация свойств веществ [36-38]; переработка твердых, жидких и газообразных органических веществ [39,40]; синтез полимеров с заданными свойствами [41]; построение систем неразрушающего контроля [42] и многое другое.

Применение ионизирующего излучения является удобной и универсальной технологией обработки различных биологических объектов и материалов, поскольку дает ряд преимуществ перед традиционными методами обработки (термическая, химическая и плазменная): минимальные изменения температуры и давления, отсутствие негативного воздействия химических веществ и реактивов, безопасное управление источником излучения и возможность варьирования интенсивности пучка и глубины проникновения заряженных частиц (в случае ускоренных электронов и тормозных гамма-квантов). Все это позволяет решать широкий круг задач: от стимуляции роста растений до повышения износостойкости металлов [2,4,30-45].

Облучение объектов осуществляется за счет передачи энергии молекулам и атомам вещества облучаемого объекта. При воздействии излучения на вещество происходит ионизация и возбуждение атомов и молекул среды, что инициирует дальнейшие физические и химические реакции в биологическом объекте, изменяющим в том числе и свойства самого объекта. Одним из основных факторов, определяющих степень воздействия излучения на вещество, является доза облучения, которая представляет собой соотношение энергии, поглощенной объемом, к его массе [46]:

$$D_{\text{погл}} = \frac{dE}{dm} = 1 \frac{\text{Дж}}{\text{кг}} = 1 \text{ Гр} = 100 \text{ рад} \quad (1.1)$$

По стандарту Международной комиссии по радиационным единицам количество поглощенной дозы радиации в процессе облучения измеряется в Грехах (Гр). Точное измерение дозы, поглощенное объектом, необходимо для определения и контроля оптимальных параметров радиационной обработки.

В качестве источников ионизирующего излучения используются пучки ускоренных электронов, гамма-излучение от радиоактивных источников, а также рентгеновское излучение [7]. На сегодняшний день в мире насчитывается более 11 млн. единиц различных источников ионизирующего излучения, основную часть которых составляют радиоактивные источники (~6–7 млн. единиц) и рентгеновские установки (~4 млн. единиц) [47]. Установки с использованием радиоактивных источников Co^{60} и Cs^{137} являются наиболее распространенными источниками ионизирующего излучения в Европе, Америке и Азии. В России широкое распространение находят ускорители электронов, благодаря высокой научно-технической базе и центрам по созданию ускорителей на территории нашей страны. Общее число источников ионизирующего излучения в России составляет 153 тыс., из них примерно 45 тыс. — установки и комплексы на базе ускорителей, причем для фундаментальных целей используется ~3% (~1,2 тыс.), ~33% (~15,1 тыс.) работает в медицине, около 4% (~1,5 тыс.) — в сельском хозяйстве и ~60% (~27 тыс.) в промышленности [2].

Основными недостатками источников гамма-излучения является обеспечение относительно низкой мощности дозы, обычно от 100 Гр до 10 000 Гр в час, а также необходимость высокой степени защиты персонала и сложная процедура утилизации отработанных источников, что отражается на их стоимости [48]. В то же время, ускорители электронов могут обеспечивать высокую мощность дозы, обычно от 10^4 Гр до 10^9 Гр в секунду, что позволяет проводить облучение за секунды или минуты. Еще одним важным преимуществом ускоренных электронов перед другими источниками излучения является возможность варьирования тока пучка и энергии электронов [49]. Варьируя ток пучка, можно изменять интенсивность излучения и, следовательно, мощность дозы, поглощаемой обрабатываемым объектом. Варьирование энергии электронов позволяет также контролировать глубину проникновения электронов по всему объекту в зависимости от цели облучения. Таким образом, использование ускорителей в промышленности является более экономически выгодным, и к ним предъявляют менее жесткие требования по защите от облучения обслуживающего персонала [49-53].

Для разных целей обработки применяются разные дозы ионизирующего излучения, а также энергии заряженных частиц, если речь идет об ускорителях электронов. В Таблице 1.1 показано применение обработки электронным лучом, оптимальные диапазоны энергий и доз, которые используются для достижения конкретной промышленной цель.

Таблица 1.1 — Основные характеристики ускорителей электронов, применяемых в промышленности [53-58].

Применение	Объекты облучения	Энергия, МэВ	Дозы, кГр	Цель
Модификация полимеров [36-36,40,59,60]	Полиолефины: полиэтилен, поливинилхлорид, этилен-пропиленовый каучук, поливинилиденфторид и сополимер тетрафторэтилена с этиленом	0.3–5	50–400	Изоляция проводов и кабелей
		0.5–3	50–150	Термоусадочные материалы с эффектом памяти
	Эластомеры (автомобильные шины); каучук (резиновые перчатки, кровельные и гидроизоляционные материалы)	0.8–1	1–200	Сшивание
	Материалы, содержащие олигомеры и мономеры (клей, целлюлоза, лак, чернила, пленки, бетон)	0.15–0.4	15–50	Полимеризация и прививка
	Композитные материалы (автомобильные и авиационные компоненты)	1.2–1.5	150–250	
	Гидрогели: поливиниловый спирт, полиакриламид, поливинилпирролидон, полиэтиленоксид и метилцеллюлоза	3–10	25–50	
	Материалы, содержащие политетрафторэтилен; целлюлозные отходы (опилки, стружка, солома, мелкая стружка и т.д.); Тефлоновые отходы; Резиновые, целлюлозные и полипропиленовые материалы	0.1–12	500–1500	Разложение
Стерилизация медицинских принадлежностей [32,36,45]	Одноразовое медицинское оборудование (шприцы, иглы, маски, хирургические перчатки и т.д.); Упаковочные материалы (капельницы, чашки Петри, флаконы-пипетки, пробирки для сбора крови); Фармацевтические препараты (мази и капли, физиологические растворы)	5–10	10–35	Дезинфекция / стерилизация
Обработка пищевых продуктов	Картофель, лук, чеснок, морковь и т.д.	до 10	0.05–0.2	Препятствование прорастанию

	Семена, специи, фрукты и овощи		0.15–0.5	Стерилизация для борьбы с вредителями
	Фрукты, овощи		0.5–1	Подавление созревания
	Мясо, рыба, птица, морепродукты, консервы		1–4	Увеличение сроков хранения за счет подавления роста плесени, бактерий и грибов
	Пищевые добавки, больничные рационы, аварийные пайки, космическое питание		3–7	Уничтожение патогенных бактерий
			10–70	Стерилизация
Борьба с загрязнением окружающей среды [61,62]	Природные источники воды (реки, озера, водохранилища, артезианские скважины)	0.3–2	0.2–1	Очистка промышленных сточных вод, газов и твердых отходов
	Сточные воды и осадок сточных вод		0.4–4	
	Газы, содержащие SO_2 и NO_x , где $x = 1, 2$.		10–20	
	Отходы больниц и аэропортов, регенерация активированным углем и очистка загрязненной почвы		1000–1500	
Металлы и переработка полезных ископаемых	Драгоценные камни и минералы	2–50	25–1500	Окрашивание / обесцвечивание кристаллов и стекла
	Полупроводники (диоды и тиристоры)	9–13	0.1–100	Улучшение свойств

В отношении биологических объектов, и некоторых материалов — медицинские изделия и объекты трансплантологии, ионизирующее излучение применяется с целью подавления микробной обсемененности и требует комплексного подхода, поскольку желаемый эффект достигается при точном сочетании поглощенной дозы, мощности дозы и энергии электронов [33,36].

При облучении пищевой продукции в зависимости от целей обработки применяется широкий диапазон доз от грей до десятков тысяч грей. Так, например, при облучении пищевых продуктов используются как низкие дозы облучения (0.1-1кГр) для задержки созревания фруктов и ягод, дезинсекции вредителей и ингибирования прорастания корнеплодов, так и средние дозы (1-10 кГр) для увеличения сроков хранения продуктов животного происхождения за счет подавления бактериальной загрязненности продукции. В пищевой промышленности, а также для обработки медицинских изделий, применяются

и высокие дозы — от 10 до 50 кГр, необходимые для полной стерилизации биообъектов вплоть до уровня спор грибов и инактивации вирусов [32,34,45,60]. Требуемая поглощенная доза увеличивается до 35 кГр при обработке медицинских изделий для инактивации вирусов и микроорганизмов [36,45]. Очистка питьевой воды проводят в дозах до 1 кГр, в то время как обработку биоотходов для инактивации широкого спектра вирусов и бактерий проводят в дозах до 1 МГр, что является максимальной дозой, используемой для контроля загрязнения органических объектов [53].

Как правило, источники и принципы облучения биологических объектов основаны на способности ионизирующего излучения разрушать генетический материал микроорганизмов, однако, при радиационной обработке объектов органического происхождения — пищевая и сельскохозяйственная продукция, критическими мишенями излучения также являются биомакромолекулы (жиры, белки, углеводы), витамины, ферменты и пр., что может приводить к снижению питательной ценности продукта. Использование облучения в отношении пищевых продуктов регулируется национальными и международными органами для обеспечения его безопасности и эффективности [65].

Комиссия Кодекса Алиментариус, которая является совместным органом Международной продовольственной организации ООН (ФАО), Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ) и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) подтвердила безопасность метода в отношении микробиологической и токсикологической безопасности, а также пищевой ценности облученных продуктов питания. После чего комиссией были разработаны рекомендации и стандарты по облучению пищевых продуктов на международном уровне [66]. Основным регламентирующим документом по обработке пищевой продукции является CODEX STAN 106-19831 «Общий стандарт на пищевые продукты, обработанные проникающим излучением», который регламентирует допустимые к использованию источники ионизирующего излучения, правила гигиены, управление процессом и технологические требования, а также определяет порядок действий при проверке продукции после облучения [7].

Согласно CODEX STAN 106-19831, минимальная поглощенная доза должна быть достаточной для достижения технологической цели, при этом максимальная доза должна быть меньше той, которая может поставить под угрозу безопасность потребителя или отрицательно повлиять на структурные, функциональные, пищевые или сенсорные характеристики [67]. В данном документе определено, что при облучении любого продукта максимальная «общая средняя доза» должна составлять не более 10 кГр, поскольку при данной дозе не наблюдаются токсикологические изменения и продукты остаются полностью безопасными. Безопасность пищевой продукции после проведения радиационной обработки была также подтверждена

управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (US FDA), научным комитетом по проблемам продовольствия (UE SCF) и Европейским агентством по безопасности продуктов питания (EFSA).

С 1983 по 2004 год в результате сотрудничества экспертов и представителей 38 стран, была создана Международная консультативная группа по облучению пищевых продуктов (ICGFI), созданная под эгидой ФАО, МАГАТЭ и ВОЗ для оказания помощи правительствам в рассмотрении вопроса о разрешении на применение радиационной обработки пищевых продуктов, обеспечение ее контроля и сбыта. Ряд документов ICGFI по сбору технических данных об облучении различных пищевых продуктов был опубликован МАГАТЭ (Вена, Австрия), как документы IAEA-TECDOC [68]. В них представлены рекомендации о верхнем пороге применяемой дозы облучения с учетом достижения необходимой технологической цели; требований к видам установок и дозиметрии процесса облучения для различных категорий обрабатываемой продукции (табл. 1.2).

Таблица 1.2 — Технологические рекомендуемые пределы поглощенных доз [69].

Классы пищевых продуктов	Цель облучения	Максимальная доза, кГр
Луковицы, корнеплоды, клубни	Замедление прорастания в процессе хранения	0,2
Свежие фрукты и овощи	1. Замедление созревания 2. Уничтожение насекомых 3. Увеличения срока хранения 4. Карантинный контроль импортируемой и экспортируемой сельскохозяйственной продукции	1. 1,0 2. 1,0 3. 2,5 4. 1,0
Зерно злаковых и мука, орехи, семена масличных культур, бобовые, сушеные фрукты	1. Уничтожение насекомых 2. Снижение количества микроорганизмов	1. 1,0 2. 5,0
Рыба, морепродукты (свежие или замороженные) и продукты их переработки	1. Снижение количества определенных патогенных микроорганизмов 2. Увеличение срока хранения 3. Контроль заражения паразитами в продукции, поставляемой на внутренний рынок	1. 5,0 2. 3,0 3. 2,0
Сырое мясо птицы, говядина, свинина (свежее или замороженное) и продукты их переработки	1. Сокращение количества патогенных микроорганизмов 2. Увеличение срока хранения 3. Контроль заражения паразитами в продукции, поставляемой на внутренний рынок	1. 7,0 2. 3,0 3. 2,0

Сухие овощи, специи, приправы, корма для животных, сухие травы и травяные чаи	1. Снижение количества патогенных организмов 2. Уничтожение насекомых	1. 10,0 2. 1,0
Сухие продукты животного происхождения	1. Дезинфекция 2. Сдерживание роста плесеней	1. 1,0 2. 3,0
Смешанная пища (космическая и больничная еда, армейские рационы, специи и др.)	1. Снижение количества микроорганизмов 2. Стерилизация 3. Карантинный контроль импортируемой и экспортируемой сельскохозяйственной продукции	1. >10 2. >10 3. >10

Основные исторические этапы развития радиационных технологий в мире и их последующее применение в пищевой и сельскохозяйственной промышленности можно представить следующим образом [70,71]:

1895 — Открытие рентгеновских лучей Анри Беккерелем.

1906 г., 1918 г. и 1930 г. — Патенты на использование ионизирующего излучения для сохранения продуктов питания в Великобритании, Америке и Франции соответственно.

1943 г. — Облучение военных пайков в армии США во время Второй мировой войны.

1950 г. — Начало исследований по облучению пищевых продуктов в Канаде, Франции, Нидерландах, Польше, России, Бельгии, Германии, Великобритании и США.

1957 г. — Первое коммерческое применение облучения ускоренными электронами специй в Германии.

1958 г. — Независимое одобрение Советским Союзом и FDA (США) на использование облучения для стерилизации пищевых продуктов и потребления облученной продукции человеком.

1963 г. — FDA одобрило облучение пшеницы и продуктов из пшеницы для борьбы с насекомыми.

1966 г. — Первый Международный Симпозиум по Радиационной обработке продуктов в Германии.

1970–1982 гг. — Международные исследования в области облучения пищевых продуктов в мире.

1980–1984 гг. — CODEX Alimentarius подтверждает безопасность облученных продуктов питания и принимает рекомендации по использованию облучения для обеззараживания пищевых продуктов, устанавливая предел доз до 10 кГр.

1990-е годы — ЕС одобряет использование облучения специй и трав для борьбы с насекомыми и вредителями, а также продукции животного происхождения для борьбы с патогенами с последующей промышленной реализацией.

1997 г. — ФАО/МАГАТЭ/ВОЗ рекомендует не устанавливать верхний предел дозы для облучения пищевых продуктов.

2003 г. — ВОЗ и МАГАТЭ опубликовали совместное заявление, подтверждающее безопасность и эффективность облучения пищевых продуктов.

2011 г. — Создание международного стандарта ISO 14470-2011 Облучение пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и регулярному контролю процесса облучения ионизирующим излучением для обработки пищевых продуктов. На территории Российской Федерации и стран-членов Евразийского экономического союза данный документ был принят в 2014 г., полностью учитывая международные требования и стандарты [72].

На сегодняшний день радиационные технологии в области пищевой промышленности применяются в 69 странах мира, при этом ежегодно облучается более 400 тыс. т. пищевой продукции (более 80 видов пищевых продуктов), в том числе в Китае 200 тыс. т, в США — 103 тыс. т (в США это, например, мясо (фарш), овощи, фрукты, какао, кофе, яйца, овсяные хлопья, пиво, консервы, приправы и сгущенное молоко). Мировая стоимость услуг по облучению продуктов питания и сельскохозяйственной продукции составляет на 2020 г. ~\$4.8 млрд, а к 2030 г. планируется увеличение до \$10.9 млрд.

Наибольшее количество центров радиационной обработки пищевой продукции расположены в США и Китае — более 530 и 220 соответственно. В России функционирует 17 центров радиационной обработки продуктов питания и стерилизации предметов медицинского назначения. Четыре из них работают на базе гамма-установок, а 13 — ускорителей электронов (три специализированных центра, и порядка 10, размещенных в научно-исследовательских учреждениях). Потенциально в нашей стране можно выйти на уровень облучения порядка 250 тыс. т. для этого необходимо построить 30–40 центров радиационной обработки, что является основной стратегической задачей, принятой госкорпорацией РОСАТОМ.

Анализ современных исследований по радиационной обработке продуктов питания и сельскохозяйственной продукции показал необходимость индивидуального подхода к каждой категории продукции для сохранения пищевой ценности, органолептических и физико-химических свойств продуктов. Выбор оптимальных технологических условий обработки (тип источника, дозы, мощности дозы и пр.) в совокупности с последующими условиями хранения и транспортировки продукции являются решающими для обеспечения качества и безопасности биологических объектов.

1.2 Источники излучения и дозиметрический контроль

Источники ионизирующего излучения

Для радиационной обработки биологических объектов применяются пучки ускоренных электронов с энергией до 10 МэВ и тормозное излучение с энергией до 5 МэВ (в некоторых странах до 7.5 МэВ [73]), получаемые на ускорителях электронов, а также излучение радиоизотопов ^{60}Co (период полураспада 5.2 года, энергия гамма-квантов 1.17 МэВ и 1.33 МэВ) и ^{137}Cs (период полураспада 30 лет, энергия гамма-квантов 0.66 МэВ) [74,75]. Ограничение верхнего энергетического предела обусловлено тем, что при указанных энергиях не происходят процессы образования радиоактивных изотопов в продукте [76,77].

Сегодня в радиационной обработке в качестве источников ионизирующего излучения все чаще используются ускорители электронов [77]. Основными характеристиками ускорителей электронов являются: тип (высоковольтный, импульсный, непрерывного действия), энергетический спектр излучения, мощность пучка, и в зависимости от конструкции — мгновенный ток с указанием частоты следования и длительности импульсов, указываемые в соответствии с международными стандартами [78, 79]. Производством ускорителей в мире занимается около 70 компаний, среди которых ведущие позиции занимают Siemens (Германия), Varian (США), Philips (Нидерланды), IBA (Бельгия), Energy Science Inc. (США), NHV Corporation (Япония), Mevex (Канада). В России серийное производство ускорителей преимущественно осуществляется НИИ электрофизической аппаратуры им. Д.В. Ефремова (Санкт-Петербург), Институтом ядерной физики им. Г.И. Будкера (Новосибирск), Томским политехническим институтом, НИИЯФ МГУ, НПП «Торий». Ряд ускорителей электронов создан в Объединенном институте ядерных исследований (ОИЯИ, Дубна), НИЦ «Курчатовский институт», Институте физики высоких энергий (Москва), Московском радиотехническом институте [77]. Основные характеристики наиболее распространенных в промышленной радиационной обработке ускорителей приведены в таблице 1.3.

Таблица 1.3 — Характеристики наиболее распространенных в области радиационной обработки ускорителей электронов [49,54,77,81].

Название ускорителя	Изготовитель	Энергия, МэВ	Максимальная мощность пучка, кВт	Тип ускорителя
Dynamitron	IBA Industrial	0.5–5	50–200	высоковольтный
Rhodotron	IBA Industrial	1–10	10–560	импульсный

Mevex High power	Mevex	10	30	импульсный
ИЛУ-14	ИЯФ СО РАН	7,5, 10	100	импульсный
УЭЛР 1015-С-60	НИИЯФ МГУ, НПП Торий	5-10	15	импульсный

«Dynamitron» — высоковольтные ускорители, производимые ИВА. Преимуществом ускорителей данного типа являются высокие токи и мощности пучка, а также высокая (от 60% до 80%) эффективность вывода пучка [82]. Главный недостаток ускорителей такого типа — технически ограниченная большие габариты установки и ограниченная пробоем технически достижимая энергия электронов (до 5 МэВ).

Импульсные линейные ускорители, к которым относятся установки серии ИЛУ (ИЯФ СО РАН) и «Rhodotron» (ИВА), лишены подобных недостатков: с их помощью можно получать пучки электронов с максимально разрешенной для радиационной обработки энергией 10 МэВ. Однако средние токи и эффективность таких ускорителей существенно ниже: ток не превышает 20 мА, а эффективность — 30%.

Линейные ускорители непрерывного действия — новое направление развития ускорительной техники, позволяющее создать машину, по мощности и эффективности приближающуюся к высоковольтным ускорителям, но значительно более компактную и простую в эксплуатации. Известно о нескольких попытках сделать мощный ускоритель электронов непрерывного действия, однако к настоящему времени успешный опыт в этом направлении имеется только в НИИЯФ МГУ.

На рисунке 1.1 приведены энергетические спектры пучков электронов, характерные для промышленных ускорителей, использующихся в радиационной обработке. В обозначенной области энергий преобладающим каналом потери энергии электронов при распространении в биологических тканях, для которых зарядовое число $Z < 10$, являются ионизационные потери, количественно описываемые формулой [83]:

$$\left(-\frac{dE}{dx}\right)_{\text{иониз}} = \frac{2\pi}{\beta^2} n_e r_0^2 m_e c^2 \left[\ln \left(\frac{m_e c^2 E}{\bar{I}^2} \frac{\beta^2}{2(1-\beta^2)} \right) - (2\sqrt{1-\beta^2} - 1 + \beta^2) \ln 2 + 1 - \beta^2 \right] \quad (1.2)$$

где m_e — масса электрона ($m_e c^2 = 511$ кэВ — энергия покоя электрона); c — скорость света; $\beta = v/c$; v — скорость электрона; E — кинетическая энергия электрона; n_e — плотность электронов вещества; $\bar{I}$ — средний ионизационный потенциал атомов вещества среды, через которую проходит частица: $\bar{I} = 13,5 \cdot Z$ эВ, где Z — заряд ядер вещества среды

в единицах заряда позитрона; $r_0 = e^2/m_e c^2 = 2,818 \cdot 10^{-13}$ см — классический радиус электрона.

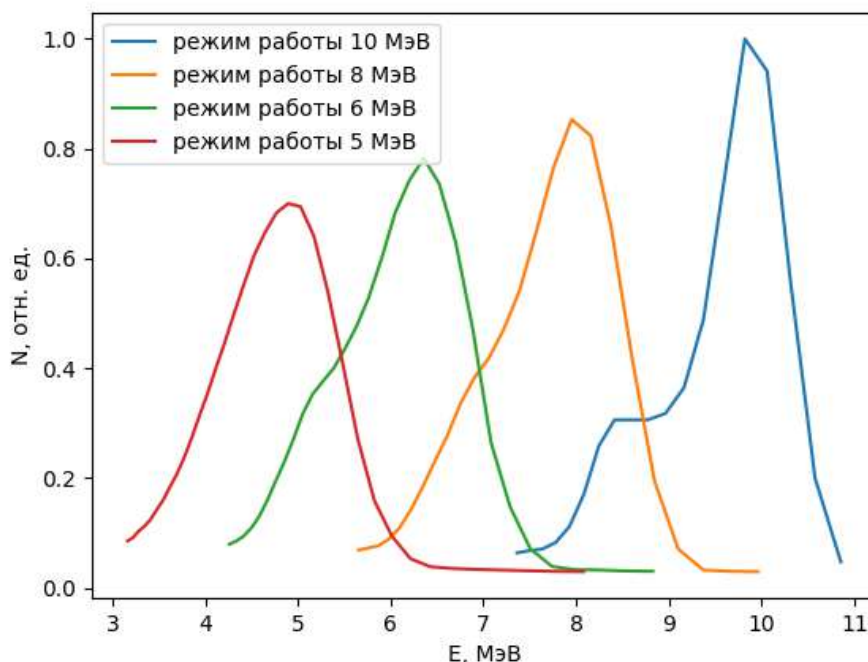


Рисунок 1.1 — Характерный энергетический спектр пучка промышленного ускорителя электронов [84].

Распределение поглощенной дозы по глубине объекта зависит от количества электронов, которые достигнут глубины x . Из-за малой массы электроны претерпевают сильное рассеяние в поле атомов среды. При этом не исключено и рассеивание в обратном направлении относительно первоначального. Из-за этого максимум распределения электронов по глубине объекта смещается с поверхности на некоторую глубину. Также в результате взаимодействия с атомами среды возникает поток вторичных частиц, сдвигающий максимум поглощенной дозы от поверхности. Глубина максимума зависит от энергии первичного электронного пучка и состава среды, через которую проходят электроны. Чем больше плотность и средний заряд среды, тем ближе к поверхности находится максимум. Чем больше энергия электронов, тем глубина залегания максимума, наоборот, дальше. На рисунке 1.2 представлено нормированное на максимум глубинное распределение поглощенной дозы, создаваемое ускоренными электронами с энергией 9 МэВ.

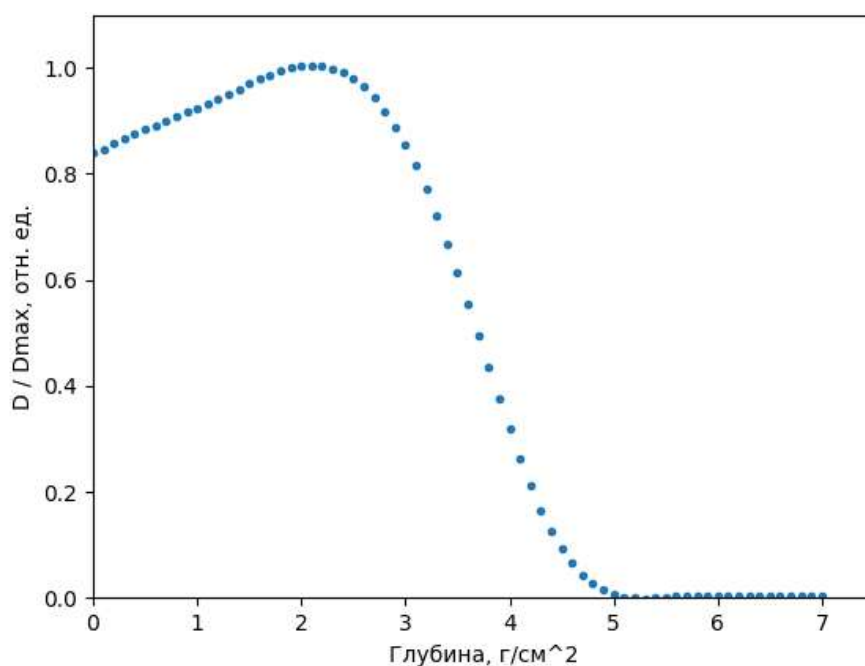


Рисунок 1.2 —Зависимость величины поглощенной дозы от глубины проникновения электронов в глубину вещества [85].

Как видно из рисунка 1.2, доза распределена по глубине объекта неравномерно. Значение относительной дозы увеличивается по мере удаления от поверхности с выходом на максимум на глубине 21 мм. На глубине 27 мм значение поглощенной дозы сравнивается с поверхностной, после чего быстро спадает до нуля, и на глубинах более 52 мм доза отсутствует. Из-за этой особенности глубинных дозовых распределений, создаваемых электронами, в промышленной радиационной обработке прибегают к двусторонней схеме облучения (рисунок 1.3 а). Контроль количества отпускаемой объекту дозы осуществляется регулированием скорости конвейера и тока пучка ускорителя.

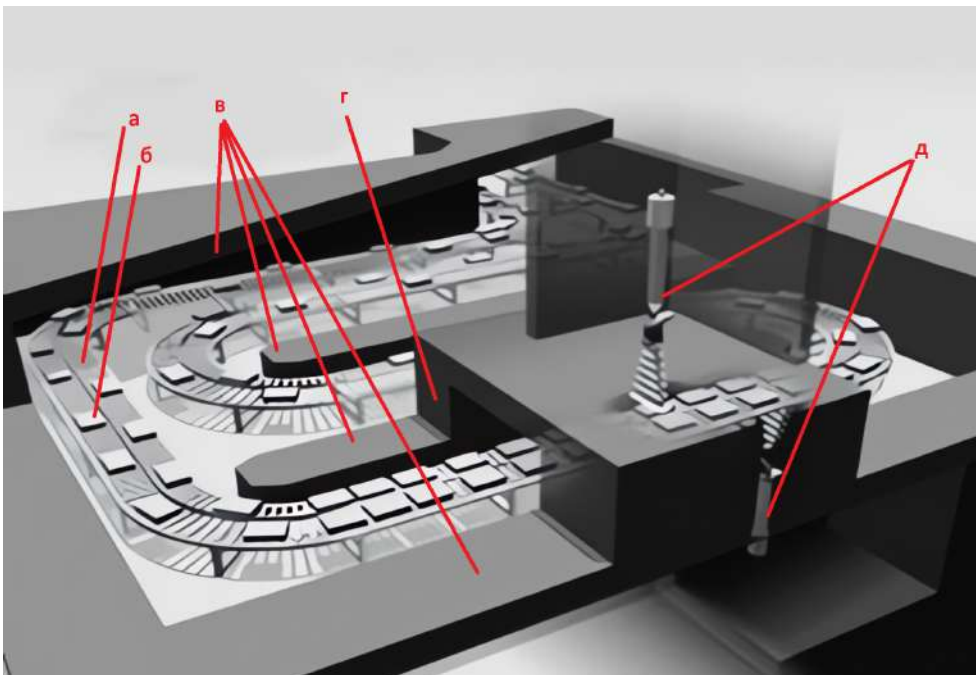


Рисунок 1.3 — Схема радиационной обработки объектов с использованием ускорителя электронов [86]. По конвейерной ленте (а) упакованный объект (б) въезжает в лабиринт радиационно-технической установки (в). Внутри дополнительной радиационной защиты (г) по обе стороны от конвейерной ленты располагаются ускорители электронов (д).

Ускорители электронов в радиационной обработке могут выступать источником не только электронов, но и тормозного излучения. Характерный энергетический спектр такого излучения приведен на рисунке 1.4. Важно отметить, что хоть максимальная энергия тормозных фотонов и совпадает с энергией первичных электронов, наиболее вероятная и средневзвешенная энергия фотонов будет значительно меньше. Так, при облучении танталовой мишени электронами с энергией 7.5 МэВ наиболее вероятная энергия фотонов будет составлять 0.3 МэВ, а средневзвешенная — 1.24 МэВ [87].

Интенсивность и эффективность преобразования рентгеновского излучения возрастают с увеличением энергии электронов и атомного номера материала мишени [87]. Из всех доступных человечеству материалов для производства мишеней наиболее подходящими являются: тантал ($Z = 73$), вольфрам ($Z = 74$) и золото ($Z = 79$). При этом вольфрам — хрупкий, трудный для обработки металл, а использование золота экономически неэффективно. В то же время тантал одновременно обеспечивает высокую (порядка 15%) конверсию электронного излучения в тормозное [87], удобен в обработке, и слабо активируется фотонами с разрешенном для радиационной обработки энергиями. Порог фотоядерной реакции $^{181}\text{Ta}(\gamma, n)^{180}\text{Ta}$ составляет 7.58 МэВ, а образующиеся в ходе реакций $^{181}\text{Ta}(\gamma, n)^{180}\text{Ta}$ и $^{181}\text{Ta}(n, \gamma)^{182}\text{Ta}$ изотопы ^{180}Ta и ^{182}Ta не вносят значительного вклада

в величину поглощенной обрабатываемым объектом дозы и не создают в нем опасной наведенной активности [77,87,88].

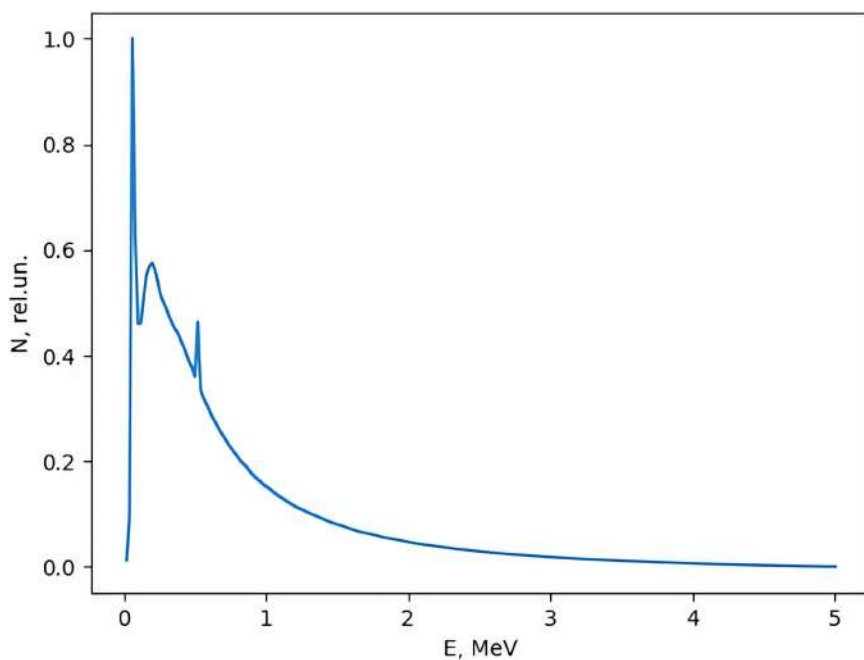


Рисунок 1.4 — Энергетический спектр тормозного излучения [83].

Для фотонов в области энергий до 7.5 МэВ преобладающим механизмом взаимодействия со средами с зарядовым числом $Z < 10$ является комптоновское рассеяние [89], в результате которого по всей глубине вещества образуются вторичные электроны с энергией, достаточной для ионизации среды. По мере увеличения глубины распространения в среде энергия фотонов и электронов уменьшается, и вместе с тем уменьшается значение поглощенной дозы. Характерное распределение поглощенной дозы, создаваемое тормозным излучением в среде, представлено на рисунке 1.5.

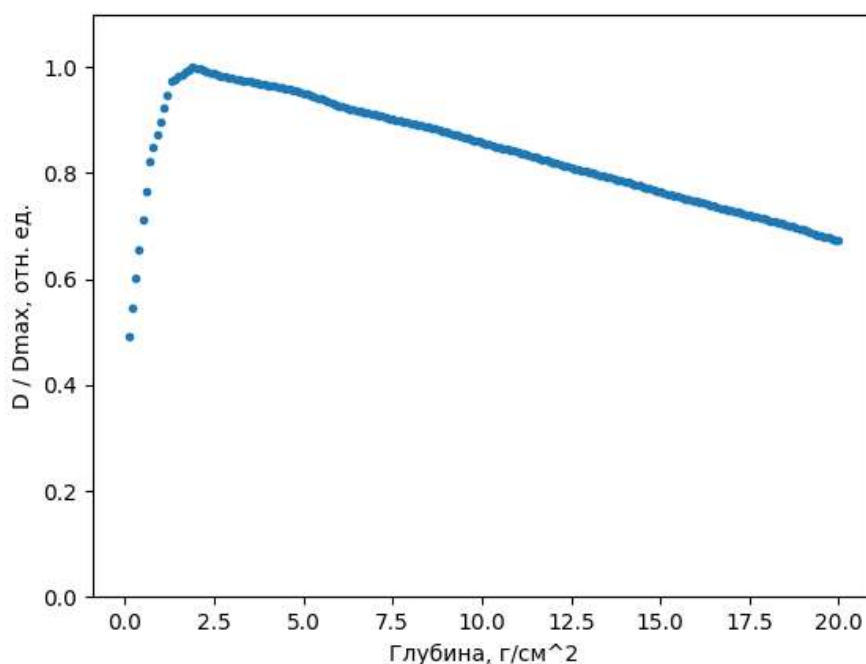


Рисунок 1.5 — Зависимость относительной поглощенной дозы от глубины проникновения тормозного излучения в глубину вещества [90].

Как видно из рисунка 1.5, при радиационной обработке фотонами доза также распределена по глубине объекта неравномерно: поверхностная доза составляет ~50% от максимальной и монотонно увеличивается, достигая максимального значения на глубине 23 мм. Затем доза монотонно убывает. Однако в отличие от электронов, фотоны способны преодолевать в среде значительные расстояния. Так, на глубине 200 мм поглощенная доза равна ~67% от максимальной. За счет этого для радиационной обработки с использованием тормозного излучения достаточно одного ускорителя электронов для покрытия дозой всего объема объекта (рисунок 1.6).

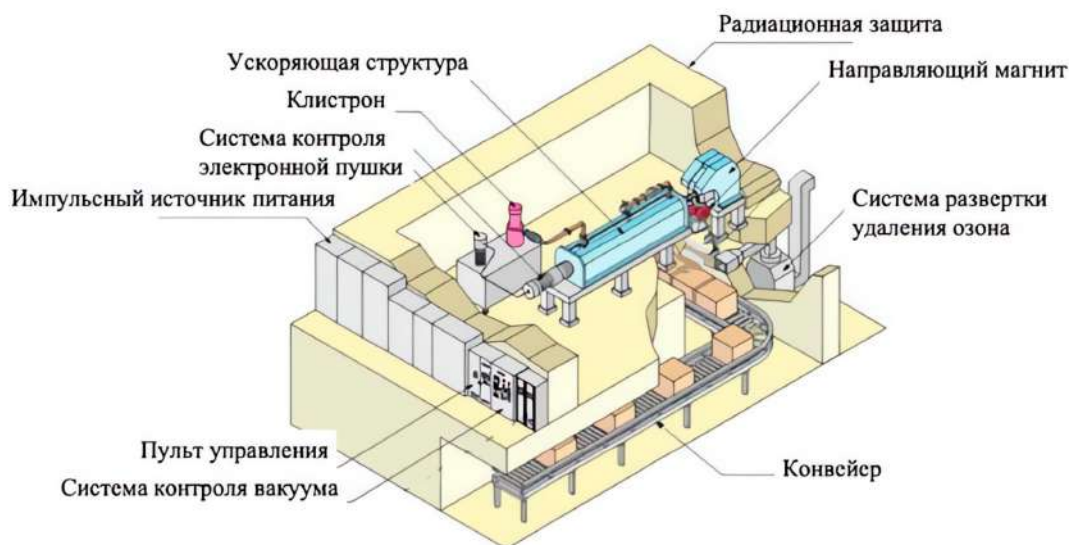


Рисунок 1.6 — Схема радиационной обработки объектов на конвейере с использованием ускорителя электронов, работающего в режиме тормозного излучения [68].

Излучения ^{60}Co и ^{137}Cs обладают такой же высокой проникающей способностью (рисунок 1.7), как и тормозное, однако схема радиационной обработки с их использованием (рисунок 1.8) значительно отличается от уже представленных.

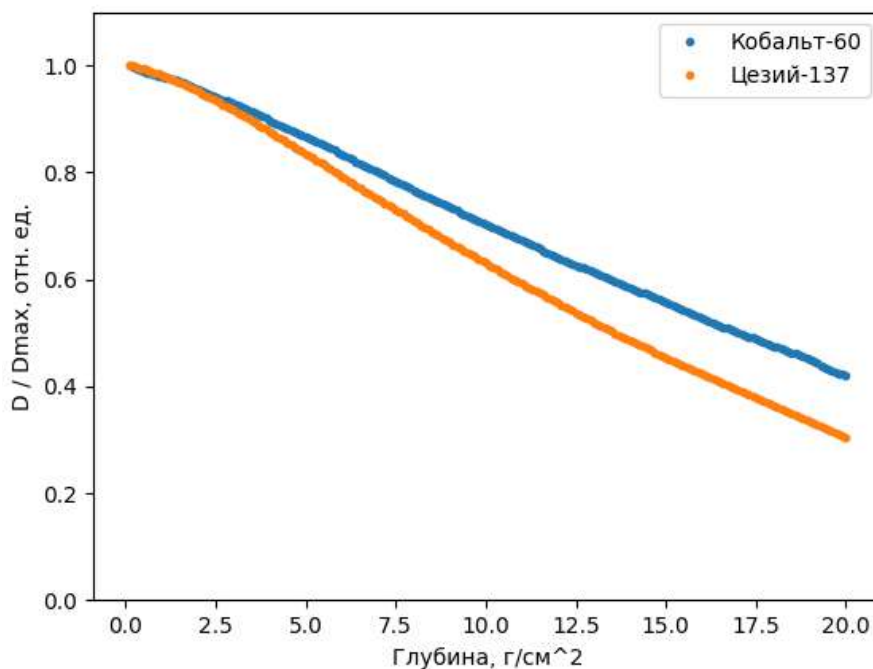


Рисунок 1.7 — Глубинное дозовое распределение, создаваемое излучением ^{60}Co [91] и ^{137}Cs [92].

В первую очередь это обусловлено направленностью излучения: если направление тормозного излучения преимущественно совпадает с направлением первичных электронов (рисунок 1.9), то излучение ^{60}Co и ^{137}Cs — изотропно. Из-за этого обрабатываемые объекты проезжают на конвейерной ленте не под источником излучения, а вокруг него. Во-вторых, гамма-излучение радиоактивных источников, в отличие от ускорителя, невозможно отключить. Поэтому в периоды, когда установка не задействована в радиационной обработке, источники необходимо изолировать. Современные системы предусматривают специальный механизм, перемещающий источники в контейнер с дополнительной радиационной защитой либо бассейн с водой [93].

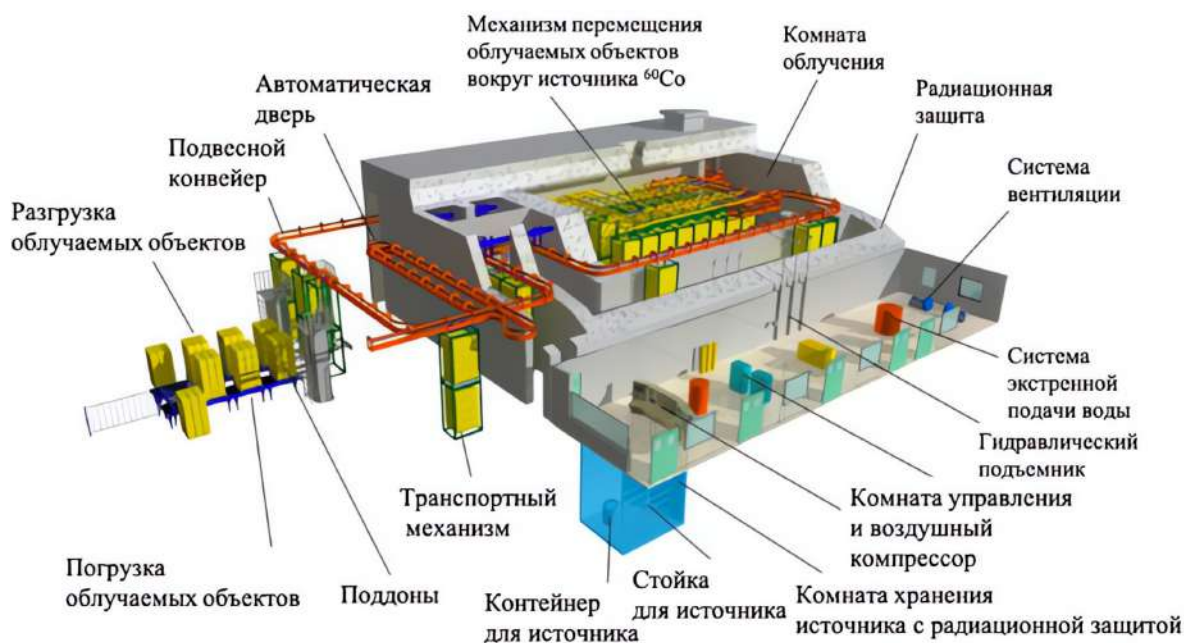


Рисунок 1.8 — Схема радиационной обработки объектов на конвейере с использованием паллетного гамма-облучателя (^{60}Co , ^{137}Cs) [68].

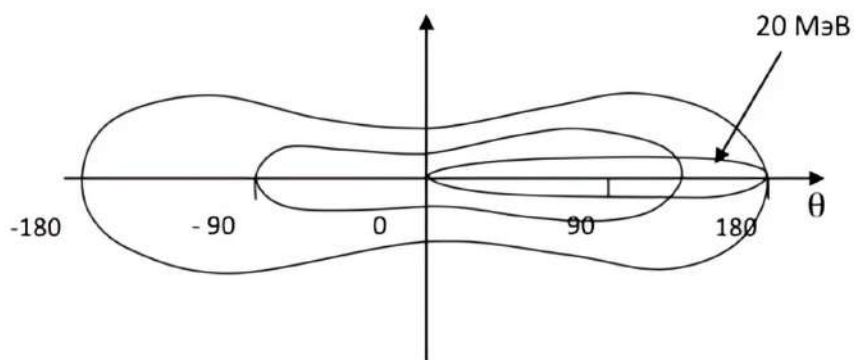


Рисунок 1.9 — Диаграмма направленности тормозного излучения [83].

Несмотря на то, что радиоизотопы легко использовать для получения гамма-излучения, зачастую их бывает сложно купить, транспортировать и утилизировать. В 2021 году проект координированных исследований МАГАТЭ показал целесообразность использования низкоэнергетических электронных пучков и мягкого рентгеновского излучения [94]. Также исследование отмечает более простой процесс встраивания установок, генерирующих низкоэнергетическое излучение, в объекты пищевого производства.

Дозиметрический контроль

Без точного измерения дозы невозможно провести эффективную радиационную обработку. В таблице 1.4 приведены используемые в современной практике методы дозиметрического контроля радиационной обработки.

Таблица 1.4 — Дозиметрические системы, методы их анализа и рекомендуемые дозы [69].

Дозиметрическая система	Метод анализа	Рабочий диапазон доз, Гр	Погрешность	Стандарт
Дозиметр Фрике	УФ-спектрофотометрия	$2 \cdot 10^1 - 4 \cdot 10^2$	1%	ASTM E 1026 [95]
Цериевый дозиметр	УФ-спектрофотометрия	$5 \cdot 10^2 - 5 \cdot 10^4$	3%	ISO/ASTM 51205 [96]
Дихромат серебра	УФ- или оптическая спектрометрия	$2 \cdot 10^3 - 4 \cdot 10^4$	1%	ISO/ASTM 51401 [97]
Этанол-хлорбензол (RECB-дозиметр)	Цветовое титрование, ВЧ-осциллометрия	$10 - 2 \cdot 10^6$	3%	ISO/ASTM 51538 [98]
L-аланин	ЭПР-спектрометрия	$1 - 1,5 \cdot 10^5$	0.5%	ISO/ASTM 51607 [99]
Полиметилметакрилат (ПММА)	УФ- или оптическая спектрофотометрия	$10^3 - 5 \cdot 10^4$	4%	ISO/ASTM 51276 [100]
Радиохромная пленка FWT-60	Оптическая спектрофотометрия	$10^3 - 10^5$	3%	ISO/ASTM 51275 [101]
Радиохромная пленка ВЗ	Оптическая спектрофотометрия	$10^3 - 10^5$	3%	ISO/ASTM 51275 [101]
Калориметрия	Измерение сопротивления/температуры	$10^2 - 5 \cdot 10^4$	2%	ISO/ASTM 51631 [102]
Триацетат целлюлозы	УФ-спектрофотометрия	$10^4 - 3 \cdot 10^5$	3%	ISO/ASTM 51650 [103]
Термолюминесцентный дозиметр (TLD)	Термолюминесцентное датирование	$1 - 10^4$	2%	ISO/ASTM 51956 [104]
LiF (литий-фтор) пленочный дозиметр	Оптически-стимулированная люминесценция	$50 - 3 \cdot 10^5$	3%	ASTM E 2304 [105]

При выборе и использовании дозиметрических систем важно учитывать диапазон доз, тип излучения, а также такие факторы, как мощность дозы, требуемый уровень погрешности измерений и пространственное разрешение. Дозиметры, используемые во время

радиационной обработки, должны быть откалиброваны в соответствии со стандартом ISO/ASTM 51261:2013, используя специальную калибровочную функцию с поглощенной дозой в качестве аргумента.

Сегодня в РФ при работе на радиационно-технических установках используются разработанные во ФГУП «ВНИИФТРИ» дозиметрические пленки (сополимер с 4-диэтиламиноазобензоловым красителем) [106,107]. Эти пленки позволяют проводить измерение поглощенных доз высокоинтенсивного излучения в диапазоне от 1 до 200 кГр. В таблице 1.5 представлены стандартные типы утвержденных стандартных образцов поглощенной дозы (СО ПД) на основе пленок для фотонного и электронного излучений «СО ПД (Э)» и «СО ПД(Ф)» [108] с указанием диапазона доз и погрешности измерений.

Таблица 1.5 — Серийно выпускаемые стандартные образцы поглощенной дозы (СО ПД) утвержденного типа [69].

СО ПД	Диапазон, кГр	Вид излучения	Погрешность, %
СО ПД(Ф)Э-5/50 ГСО 7904-2001 МСО №1757:2012	5–50	γ , β , e-	3–7
СО ПД(Ф)Р-5/50 ГСО 7865-2000 МСО №1735:2011	5–50	γ , β , e-	7–12
СО ПД(Ф)Р-30/200 ГСО 7903-2001	30–200	γ , β , e-	7–15
СО ПД(Э)-1/10 ГСО 8916-2007 МСО №51:2017	1–10	γ , β , e-	7–15
СО ПД (ДТС)-0,05/10 ГСО 9447-2009	0,05–0,6 1–10	γ	3–7 7–15

Перечисленные методы дозиметрии позволяют измерить поверхностную дозу, но не дают информацию о распределении поглощенной дозы по объему объекта. Последние исследования [69,109,110] показывают: биологические объекты чувствительны

к распределению дозы, и для проведения успешной радиационной обработки его необходимо контролировать. Экспериментальное измерение распределения поглощенной дозы по объему реального объекта зачастую невозможно. Поэтому для получения глубинных распределений поглощенной дозы и предсказания эффекта радиационного воздействия сегодня используется численные методы, среди которых компьютерное моделирование методом Монте - Карло многие годы является золотым стандартом [111].

Под методом Монте-Карло принято понимать группу численных методов решения вычислительных задач при помощи моделирования случайных величин [112]. Моделирование методом Монте-Карло представляют собой расчет совокупности отдельных событий, в которых переменные (например, энергия, импульс, длина свободного пробега) генерируются случайным образом по заданной функции плотности вероятности [113]. В области физики функции распределения вероятностей могут быть результатом соответствующей теории, физической модели или быть построены по экспериментальным данным. Точность моделирования зависит от количества рассчитанных событий N как $\frac{1}{\sqrt{N}}$. Достоинством метода является его простота и возможность выполнять моделирование параллельно на большом количестве вычислительных узлов. Сегодня существует множество инструментариев для моделирования распространения ионизирующего излучения через вещество, построенных на методе Монте-Карло. Основные из них приведены в таблице 1.6.

Таблица 1.6 — Сравнение транспортных кодов для моделирования распространения ионизирующего излучения через вещество.

Название транспортного кода	Моделируемые частицы	Диапазон энергий частиц (эВ)	Лицензия программного кода	Поддержка параллельных вычислений
EGSnrc [114]	электроны, фотоны	$10^3 - 10^9$	EGSnrc License Agreement (открытая)	Нет
PENELOPE [115]	электроны, фотоны	$10^3 - 10^9$	GNU General Public License (открытая)	Нет
MCNPX [116]	электроны, фотоны, нейтроны	$10^3 - 10^{11}$	LA-CC-02-38 (частично открытая)	Да

GEANT4 [117-119]	электроны, фотоны, протоны, нейтроны, мюоны	$10-10^{15}$	Geant4 Software License (открытая)	Да
GATE [120]	электроны, фотоны, протоны, нейтроны, мюоны	$10-10^{15}$	Lesser General Public License (открытая)	Да
SHIELD-HIT [121]	протоны, тяжелые ионы	10^6-10^{15}	Коммерческая, с ограниченной бесплатной версией	Да
IM3D [122]	электроны, фотоны, протоны, нейтроны, мюоны	$10-2 \cdot 10^9$	GNU General Public License (GPL) (открытая)	Да
McRay [123]	фотоны, электроны	10^3-10^6	Коммерческая (закрытая)	Да
PenRed [124]	фотоны, электроны	10^3-10^9	GNU General Public License (открытая)	Нет
FLUKA [125]	адроны, тяжелые ионы, электроны, фотоны	$10-10^{15}$	FLUKA License Agreement (закрытая)	Да

Транспортный код EGSnrc, разработанный в Стэнфордском центре линейных ускорителей (SLAC) [126-128], представляет собой инструментарий для моделирования взаимодействия фотонов и электронов с энергиями от 1 кэВ до 10 ГэВ с гомогенными средами. На базе EGSnrc построена система BEAMnrc [129], предназначенная для моделирования в области медицинской физики.

Система PENELOPE (сокращение от «Penetration and Energy Loss of Positron and Electrons») предназначена для моделирования прохождения электронов и фотонов с энергиями в диапазоне 1 кэВ – 1 ГэВ в произвольных средах [130,131]. Пакет геометрии

PENGEOM расширяет возможности PENELOPE и позволяет моделировать электрон-фотонные ливни в однородных объектах в форме параллелепипеда, цилиндра и сферы.

Транспортные коды EGSnrc и PENELOPE достаточно просты в освоении, однако они содержат в себе только физические модели взаимодействия электронов и фотонов, а также отсутствует возможность задания точных параметров геометрии облучения (сложная форма и неоднородность облучаемых объектов, варьирование плотности и т.д.), что существенно ограничивает область их применения. Более полными инструментами, содержащих в себе большее количество физических процессов описывающих взаимодействия электронов, фотонов, протонов и нейтронов являются транспортные коды MCNPX и GEANT4.

MCNPX — это универсальный код переноса излучения на базе метода Монте-Карло для моделирования взаимодействия излучения с большим разнообразием частиц. Помимо фотонов и электронов включает транспорт нейтронов, однако отсутствует взаимодействие протонов и других тяжелых заряженных частиц. MCNPX расшифровывается как Monte Carlo N-Particle eXtended, разработан и поддерживается Лос-Аламосской национальной лабораторией. MCNPX используется в ядерной медицине, радиационной безопасности, разработке ускорителей и для моделирования промышленного облучения. Благодаря своим ядерно-физическим возможностям он хорошо подходит для изучения взаимодействия ионизирующих излучений с веществом [132,133].

Geant4 — в настоящее время это наиболее полный набор инструментов, применяемый для моделирования прохождения частиц через вещество. Geant4 применяется в физике высоких энергий, ядерной физике и физике ускорителей частиц, физике космических лучей, а также в медицинских исследованиях.

Так как Geant4 — это набор инструментов, то не существует отдельной программы, в которую пользователь может вводить входные параметры для расчета взаимодействия излучения с веществом. В отличие от других пакетов, пользователь должен написать свой собственный код на языке C++ для определения геометрии облучения, источника ионизирующего излучения и заданных физических процессов.

Поэтому GEANT4 чрезвычайно гибок и имеет наиболее широкую область применения из всех перечисленных реализаций метода Монте-Карло. Однако, пользователь Geant4 должен обладать достаточно высокими навыками и компетенциями не только в области ядерной физики, но и в области программирования на языке C++. Geant4 поддерживается в операционных системах Linux / Unix. Программное обеспечение доступно для загрузки на веб-сайте Geant4 [134] в виде исходного кода или предварительно скомпилированных библиотек.

Одним из преимуществ Geant4 является активное сотрудничество с CERN, благодаря чему физические модели, лежащие в основе работы транспортного кода регулярно дополняются и подтверждаются экспериментальными данными [135]. Также важным преимуществом Geant4 является наличие физических моделей описывающих взаимодействие частиц в области низких энергий (от 10 эВ до 1 кэВ).

Программное обеспечение GATE было создано в 2004 году группой исследователей, сотрудничающих с Центром медицинской физики и биомедицинской инженерии (Centre de Physique des Particules de Marseille, CPPM) во Франции. GATE (Geant4 Application for Tomographic Emission) — это построенное на базе GEANT4 программное обеспечение для моделирования и анализа медицинских изображений и дозиметрических данных, разработанное для молекулярной и радиофармацевтической томографии. GATE используется для исследований в области медицинской физики, радиобиологии, радиохимии и молекулярной медицины, позволяя проводить виртуальные эксперименты и оптимизировать дозы облучения в рамках медицинских процедур.

SHIELD - HIT позволяет моделировать взаимодействия тяжелых заряженных частиц, таких как протоны и ионы тяжелых элементов, с биологическими тканями [136]. SHIELD - HIT применяется в медицинской физике, радиобиологии и других областях науки, где важно понимание воздействия ионизирующего излучения на биологические системы и ткани. К преимуществам SHIELD - HIT относятся:

- возможность проводить детальные моделирования взаимодействия частиц с тканевыми эквивалентами на различных уровнях энергии и глубины проникновения;
- гибкость и настраиваемость. SHIELD – HIT позволяет настраивать параметры моделирования в соответствии с конкретными потребностями исследования.

IM3D — это открытый параллельный 3D Monte Carlo код, разработанный для исследования трехмерных пространственных распределений первичных радиационных дефектов в наноструктурированных материалах. IM3D был разработан исследователями из Института физики твердого тела Китайской академии наук (Institute of Solid State Physics, Chinese Academy of Sciences) в Китае. IM3D предоставляет возможность рассчитывать первичные радиационные повреждения в произвольно сложных материалах и демонстрирует новые трехмерные эффекты, такие как нано-энергетический эффект, нано-геометрический эффект, эффект затенения и т. д.

MCRay — это программное обеспечение для симуляции радиографии на основе метода Монте - Карло. В отличие от стандартных программных кодов, реализующих метод Монте - Карло, которые используют простые геометрические формы для описания объектов, MCRay комбинирует метод Монте-Карло с миром компьютерного проектирования (CAD),

позволяя описывать объекты с использованием триангулированных поверхностей в формате STL. Это делает возможным более реалистичное моделирование сложных объектов и сценариев для радиографических симуляций. MCRay также обеспечивает интерфейс к CAD, что позволяет создавать виртуальное представление части или конструкции для радиографической симуляции. Это позволяет гибко генерировать и позиционировать дефекты внутри сложных объектов. Программа использует параллельную обработку с помощью MPI для повышения эффективности вычислений и может быть запущена на кластерах вычислительных узлов. Используя MCRay, исследователи и инженеры могут проводить детальные и реалистичные симуляции радиографического контроля, оценивать воздействие рассеянного излучения и анализировать влияние дефектов на внутреннюю структуру объектов.

PenRed — это гибкий, объектно-ориентированный, параллельный и универсальный фреймворк для проведения Монте-Карло симуляций переноса излучения в веществе на основе физики PENELOPE. Важной особенностью PenRed является то, что он обеспечивает высокую скорость симуляции без ущерба для гибкости и эффективности. Основные характеристики и возможности PenRed:

- возможность воспроизведения физических моделей PENELOPE и кросс-секций, а также результатов для полного набора примеров PENELOPE;
- поддержка моделирования с использованием воксельной геометрии и изображений DICOM, что делает его подходящим для проведения Монте-Карло симуляций медицинских процедур;
- реализация параллельной обработки с использованием как распределенной, так и общей памяти через MPI и стандартную библиотеку потоков C++, соответственно. PenRed обеспечивает хорошие ускорения для обоих типов параллелизма и включает встроенную систему балансировки нагрузки для оптимизации выполнения на разнородных средах;
- модульная структура PenRed позволяет разработчикам внедрять новые пользовательские компоненты (источники частиц, геометрии, измерения и т. д.), которые могут быть включены без изменения исходного кода PenRed и автоматически использоваться в параллельных вычислениях без предварительного знания параллельного программирования;
- в будущих версиях PenRed планируется внедрение новых измерений и моделей источников, а также улучшение реализации параллелизма для ускорения времени выполнения и адаптации к проведению общих симуляций на специфических аппаратных ускорителях, таких как GPGPU и FPGA.

FLUKA — это общецелевой программный код, реализующий методы Монте-Карло для моделирования прохождения заряженных частиц в произвольных материалах. FLUKA был разработан Европейской Лабораторией по Физике Частиц (CERN) и Итальянским Институтом Ядерной Физики (INFN) и продолжает активно развиваться в наше время. FLUKA широко используется в области физики элементарных частиц, в физике ускорителей, в области радиационной защиты и дозиметрии. FLUKA обеспечивает возможности моделирования различных типов детекторов, включая большие калориметры, нейтронные и радиационные мониторы.

Несмотря на разнообразие транспортных кодов и готовых решений для расчета распределений поглощенной дозы по объему объектов, среди них отсутствуют инструменты, специализирующиеся на радиационной обработке. Такие системы, как например, MCNPX, PENELOPE и GEANT4, подразумевают наличие у пользователя компетенций в области ядерной физики и разработки программного обеспечения. Кроме того, для получения точных результатов требуется моделирование большого числа первичных событий, на которое может уйти от нескольких часов до нескольких дней в зависимости от расчетной мощности используемого компьютера. В связи с этим представляется интересным разработка системы планирования радиационной обработки, позволяющей получать распределение поглощенной дозы по объему объекта за сравнительно небольшое время, и не требующей от пользователя специальной подготовки.

1.3 Определяющие физические параметры излучения для подавления микроорганизмов в биологических тканях

Микробиологическая загрязненность биологических объектов, таких как продукты питания, компоненты крови для переливания и объекты трансплантологии, представляет серьезную угрозу для человека, поскольку это может стать источником разнообразных заболеваний и развития инфекций. Этот тип загрязнения обусловлен наличием различных видов микроорганизмов, включая бактерии, вирусы и грибки, которые могут размножаться в биообъектах и стать причиной инфекционных процессов у потребителей, получателей трансфузий или пациентов после имплантации. Биологические объекты подвержены естественному заражению на всех этапах производства, а также при некорректной обработке или хранении. К распространенным микроорганизмам, встречающимся в пище, относятся такие бактерии, как *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*; грибы из родов *Aspergillus* и *Penicillium* [137,138]. Кровь может содержать патогенные микроорганизмы, передаваемые от донора к пациенту, что может привести к серьезным инфекционным заболеваниям и даже летальным исходам. Самыми

распространенными микроорганизмами, представляющими опасность при донорстве и трансфузии крови являются *Staphylococcus*, *Streptococcus*, а также *Escherichia coli* и *Bacillus cereus* [139,140]. Объекты трансплантологии, в частности имплантаты, вводимые в организм для медицинских целей, также могут быть заражены, что потенциально влечет к развитию инфекции и отторжению самого имплантата. К распространенным микроорганизмам, которые могут населять имплантаты, относятся *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* и различные виды грибов, такие как *Candida albicans* [141,142].

Биофизические параметры микроорганизмов, населяющих биологические объекты, могут значительно различаться в зависимости от их биологического типа/штамма, а также окружающих условий. Рост и активность микроорганизмов в основном описываются и изучаются в зависимости от химических и физических параметров среды, таких как температура T , кислотность pH , активность воды a_w , влажность и т.д. [143-149].

Большинство микроорганизмов имеют оптимальные значения pH и температурные условия для размножения, при которых наблюдается максимальная скорость роста бактерий (табл. 1.7).

Таблица 1.7 — Оптимальные параметры температуры и кислотности среды для размножения микроорганизмов

Вид микроорганизма	Где встречаются	Температура роста / оптимальная T	Кислотность среды / оптимальная pH	Ссылка
<i>Staphylococcus aureus</i>	Продукты Кровь Имплантаты	7°–48,5°С / 30°–37°С	4,0–10,0 / 6,0–7,0	[143]
<i>Escherichia coli</i>	Продукты Кровь Имплантаты	4°– 45° / 37°С	3,6–9,0 / 7,0	[144]
<i>Streptococcus</i>	Кровь	4°– 46° / 40°С	/ 6,5	[145]
<i>Lactobacillus</i>	Продукты	2°– 41° / 44°С	3,4–8,8 / 5,8	[146]
<i>Salmonella</i>	Продукты	6°– 46° / 37°С	4,1–9,0 / 6,5–7,5	[147]
<i>Bacillus</i>	Кровь	4°– 48° / 30–40°С	4,5–9,5 / 6,0–7,0	[148]
<i>Listeria monocytogenes</i>	Продукты	1°– 45° / 30–37°С	4,5–9,6 /	[149]

Как правило, кривая роста (зависимость числа клеток от времени наблюдения) для популяции бактерий в среде с оптимальными параметрами для размножения (температура, pH , содержание питательных веществ) содержит несколько фаз (рис.1.10).

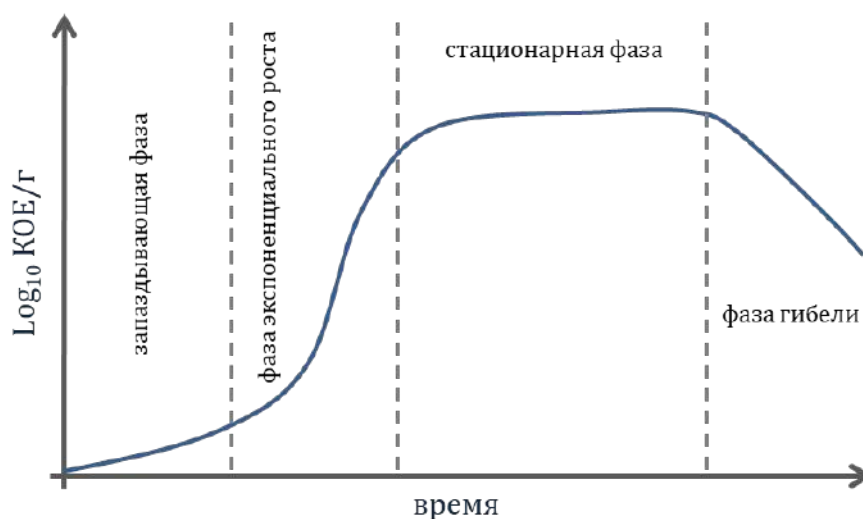


Рисунок 1.10 — Кривая роста популяции бактерий от времени хранения.

Первая фаза — запаздывающая фаза, при которой скорость роста практически равна нулю; вторая фаза — фаза экспоненциального роста; третья — стационарная фаза, определяющаяся как состояние отсутствия чистого роста; конечной фазой является фаза гибели — уменьшение числа клеток в течении последующего времени наблюдения [150]. Скорости роста популяции для каждой фазы различны.

Ряд исследователей сообщают о сигмоидальной зависимости числа бактерий в различных биологических объектах, в частности пищевых продуктах, от времени хранения, что соответствует кривой роста популяции бактерий [151,152].

Одной из серьезных проблем здравоохранения и пищевой промышленности является увеличение устойчивости микроорганизмов к внешним негативным воздействиям. Микробиологическая резистентность приводит к осложнениям при лечении инфекций, в некоторых случаях, отсутствие эффективных антибиотиков может привести к угрозе жизни. В пищевой промышленности химическая обработка с применением пестицидов и антибиотиков может приводить к повышению устойчивости микроорганизмов и патогенов, что увеличивает риск пищевого отравления или токсикоинфекции. Для борьбы с этими проблемами необходимо развивать новые методы обеззараживания пищевых продуктов, а также принимать меры по рациональному использованию антибиотиков и химических веществ в медицине и пищевой промышленности [153].

Радиационная обработка может представлять собой эффективный способ борьбы с проблемой устойчивости микроорганизмов к антибиотикам и химическому воздействию в пищевой промышленности. Обеззараживание мяса и других пищевых продуктов с помощью радиации может уменьшить необходимость применения антибиотиков в животноводстве, что в свою очередь может помочь снизить риск развития антимикробной резистентности.

Главная цель при облучении биологических объектов заключается в возможности инактивации различных микроорганизмов, включая патогенные бактерии, паразиты и вирусы, для пролонгирования сроков хранения и сохранения качества и безопасности продукции [65]. Для эффективного воздействия ионизирующего излучения на микроорганизмы с целью их ингибирования необходимо учитывать различные факторы, включая виды микроорганизмов, их возраст и количество, а также условия окружающей среды, такие как температура, активность воды, *pH* и химический состав биообъекта. На сегодняшний день активно облучаются сухие продукты и специи, с целью их дезинсекции, в дозах до 1 кГр; фрукты и овощи при 1–3 кГр для подавления насекомых и вредителей; охлажденная мясная и рыбная продукция, а также мясо птицы в дозах от 1 до 7 кГр [154,155]. Известно, что радиационная устойчивость бактерий значительно выше при низких температурах хранения, что также способствует уменьшению негативного влияния от окисления биомакромолекул [156]. Таким образом, для обеспечения эффективного уничтожения патогенных бактерий и продления срока годности продукта необходим учет множества факторов.

Зависимость концентрации микроорганизмов в биологических объектах от дозы облучения и времени хранения является сложным процессом, который может различаться в зависимости от типов микроорганизмов, условий облучения и хранения. Для большинства микроорганизмов при увеличении дозы облучения наблюдается нелинейное уменьшение их концентрации [155,157-160]. Это связано с тем, что ионизирующее излучение повреждает клеточные структуры и молекулы, что приводит к их гибели или инактивации.

Классическая популяционная модель [157] предсказывает снижение концентрации жизнеспособных клеток от дозы облучения по экспоненциальному закону. Ряд работ подтверждают такой характер поведения концентрации жизнеспособных клеток различных бактерий от дозы облучения [158,161]. Однако существуют работы, в которых наблюдается более резкое снижение концентрации микроорганизмов от дозы облучения, которое в десятичном логарифмическом масштабе представляет собой прямую линию зависимости концентрации от дозы облучения [155,159,160].

Помимо этого, в [156] показано, что микроорганизмы, выжившие после облучения, проявляют более высокую чувствительность к различным внутренним и внешним факторам (*T*, *a_w*, *pH*) по сравнению с организмами, которые не были подвергнуты облучению, что необходимо учитывать при планировании и подборе условий хранения биологических объектов с целью эффективного продления срока годности.

Важно отметить, что концентрация микроорганизмов в биологических объектах может изменяться в зависимости от различных физических параметров облучения (тип излучения, доза и мощность дозы), а также от условий среды при последующем хранении. Сразу после

облучения различных видов микроорганизмов в разных биологических средах наблюдается снижение их общей численности, за счет полной инактивации или различных мутаций, нарушающих их последующее деление [162]. При этом нелинейное распределение микроорганизмов по объему облучаемого объекта, цикл их биологических фаз, степень «старости» клеток, а также умение некоторых бактерий уходить в лаг-фазу при внешних стрессовых воздействиях в большинстве случаев не позволяет полностью стерилизовать обрабатываемые биологические объекты [163]. В связи с чем при дальнейшем хранении наблюдается рост концентрации выживших микроорганизмов, даже для объектов, подвергшихся обработке, который также носит сигмоидальный характер от времени хранения [151,152,164].

При этом важны условия последующего после облучения хранения. Если условия не являются оптимальными для размножения определенных видов микроорганизмов, то может происходить как сохранение числа выживших клеток с их последующим ростом [165,166], так и дальнейшее подавление оставшихся после облучения жизнеспособных клеток [167].

Таким образом, полное уничтожение всех микроорганизмов в биологических объектах является сложной задачей из-за различных факторов. Некоторые виды бактерий обладают высокой устойчивостью к неблагоприятным условиям, включая экстремальные температуры, уровни pH и даже к облучению. Кроме того, бактерии обладают различными механизмами выживания, такими как образование спор или образование биопленок, которые защищают их от вредных факторов окружающей среды и методов обработки, включая радиационное воздействие [163,168,169].

Размер и распределение микроорганизмов по объему биообъекта также усложняют процесс их эффективного подавления, что делает их недоступными для определенных методов стерилизации или дезинфекции [170]. Различные виды и штаммы бактерий демонстрируют разную степень чувствительности к радиационной обработке [171].

Факторы окружающей среды такие, как температура, влажность и доступность кислорода, тоже могут влиять на рост и выживание микроорганизмов. Изменения этих условий во время хранения могут способствовать росту остаточных бактерий, которые остались жизнеспособными после облучения. Кроме того, существует риск повторной загрязненности продукта, бактерии из внешних источников могут вновь привести к микробному загрязнению продукта.

Из-за этих сложностей достижение полного уничтожения всех бактерий в биологическом объекте на практике часто оказывается тяжело осуществимой задачей. Вместо этого представляется возможным проведение радиационной обработки биологических

объектов с целью снижения популяций бактерий до безопасных уровней, регламентируемых Техническим регламентом таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [172], который сводит к минимуму риск пищевых отравление и порчу продукта.

Для численной оценки влияния ионизирующего излучения на бактериальные клетки в биологических объектах используется значение дозы D_{10} — доза, необходимая для сокращения популяции жизнеспособных клеток в 10 раз. Работы по исследованию влияния ионизирующего излучения на микробиологические показатели биологических объектов с целью изучения радиочувствительности различных микроорганизмов в разных средах и при разных условиях, ведутся по всему миру [65, 173-175].

Выбор источника ионизирующего излучения зависит от требуемого воздействия на обрабатываемый объект. Например, гамма-излучение, рентгеновское излучение и электронные лучи имеют различные энергии и глубины проникновения в биологический объект, поэтому необходимо выбирать источник ионизирующего излучения в зависимости от требуемого эффекта. Кроме того, необходимо учесть тип продукта, его физические и химические свойства, такие как плотность, влажность, текстура, содержание жиров и белков, чтобы определить, какой тип излучения будет наиболее эффективен.

В таблице 1.8 представлены значения доз D_{10} для различных микроорганизмов в разных питательных средах при различной температуре хранения [169,176].

Таблица 1.8 — Значения доз D_{10} для микроорганизмов на различных питательных средах при разных температурных условиях

Бактерии	Питательная среда	$T, ^\circ\text{C}$	$D_{10}, \text{кГр}$
<i>E. coli</i>	Говядина	0	0,241–0,251
		-16	0,178–0,235
		-30	0,315
	Твердая питательная среда (NB agar)	0-2	0,27
		-30	0,293
	Индейка	0-2	0,47
<i>Salmonella</i>	Говядина	18-20	0,55–0,78
		4	0,618–0,661
		-16	0,675–0,800
	Курица	4	0,436–0,662
		-20	0,45–0,79
<i>Staphylococcus</i>	Курица	4	0,371–0,419
		0	0,26–0,36
	Говядина	-	0.387
		4	0,437–0,453

Также, в таблице 1.9., проводятся исследования по оценке степени подавления микроорганизмов в пищевых продуктах различными источниками ионизирующего излучения [155,159,177].

Таблица 1.9 — Значения доз D_{10} для микроорганизмов на различных питательных средах, облученных разными источниками ионизирующего излучения

Бактерии	Питательная среда	Источник излучения	D_{10} , кГр
<i>Salmonella</i>	Свинина	Гамма-излучение (^{137}Cs)	0,56–0,62
		Ускоренные электроны	0,42–0,43
	Рис	Гамма-излучение	0,234–0,266
		Рентгеновское излучение	0,377
<i>E. coli</i>	Копченая индейка	Гамма-излучение (^{60}Co)	0,41
		Ускоренные электроны	0,39
	Рис	Гамма-излучение	0,228–0,367
		Рентгеновское излучение	0,403
<i>Staphylococcus aureus</i>	Копченая индейка	Гамма-излучение (^{60}Co)	0,52
		Ускоренные электроны	0,49
<i>Enterococcus faecalis</i>	Копченая индейка	Гамма-излучение (^{60}Co)	0,63
		Ускоренные электроны	0,57
<i>Listeria monocytogenes</i>	Копченая индейка	Гамма-излучение (^{60}Co)	0,58
		Ускоренные электроны	0,54
	Рис	Гамма-излучение	0,232–0,236
		Рентгеновское излучение	0,302

Различия в значении дозы D_{10} для разных видов бактерий, различных продуктов и при различных условиях могут быть обусловлены несколькими факторами, такими как тип микроорганизма, среда облучения, условия облучения. Так, разные виды бактерий и микроорганизмов имеют разную чувствительность к радиации. Некоторые могут быть более устойчивыми к облучению, чем другие, что требует различных доз облучения для достижения одинакового эффекта [178]. Состав и структура различных продуктов могут влиять на чувствительность микроорганизмов к радиации. Например, продукты с большим содержанием влаги требуют более высоких доз облучения для обеззараживания, чем сухие продукты [179]. Разные условия облучения, такие как тип используемого источника радиации, время облучения, мощность дозы и окружающая среда, могут оказывать влияние на эффективность облучения и требуемую дозу D_{10} [155].

Таким образом, важно проводить тщательные исследования и оптимизировать процессы радиационной обработки для обеспечения эффективной обработки различных продуктов и материалов.

Точно определение количества микроорганизмов в биологических объектах является важной задачей для контроля за процессами, связанными с микробной загрязненностью.

Существует множество методов подсчета концентрации микробных клеток. Самыми эффективными являются методы прямого подсчета, к ним относятся непосредственный подсчет под микроскопом количества колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл суспензии в счетной камере [180], а также подсчет клеток на мембранных фильтрах [181].

К непрямым методам определения концентрации микробных клеток относятся визуальные методы, использующие светопоглощение (турбидиметрия), светорассеяние (нефелометрия), электропроводность микробных суспензий (кондуктометрия) и другие, основанные на изменении мутности образцов [182-186]. Для оценки концентрации бактерий в жидких культурах также может использоваться метод, основанный на определении оптической плотности, измеряемой на спектрофотометре [187].

1.4 Физико-химические изменения в биологических объектах после радиационной обработки

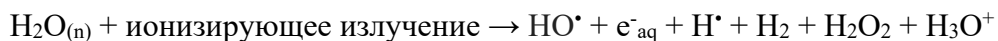
Химические изменения свойств биообъекта после облучения

Химические изменения свойств облученных биообъектов связаны с химическими превращениями компонентов объектов, таких как биомакромолекулы (жиры, белки и углеводы), витамины, вода и др. [188]. Облучение может оказывать как желательные химические изменения в биологических объектах, так и нежелательные в зависимости от дозы и конкретных соединений в продукте [189].

Одним из наиболее значительных изменений, наблюдаемых в облученных биологических объектах, является образование свободных радикалов. Свободные радикалы, образующиеся в результате первичной ионизации, когда заряженные частицы проходят через вещество и вступают в прямую реакцию с молекулами или атомами вещества, представляют собой высокореакционные, нестабильные короткоживущие соединения, способные вызывать дальнейшие химические изменения в объеме вещества.



Поскольку вода присутствует во всех биообъектах, то при облучении происходит следующая общая реакция (радиолиз воды):



где $HO\cdot$ (гидроксильный радикал), $H\cdot$ (атом водорода) и e^-_{aq} (гидратированный электрон) обладают высокой реакционной способностью и могут реагировать со многими веществами. Эта реакция происходит во всех биообъектах и составляет значительную часть побочных эффектов радиационной обработки. Однако в объектах с пониженным содержанием влаги (семена, крупы и т.д.) или замороженных продуктах вторичные эффекты радиолиза воды

ограничены из-за ее ограниченного количества и отсутствии диффузии. В этих случаях за химические изменения в основном будет ответственна первичная ионизация вещества.

Свободные радикалы повреждают клеточные компоненты биологических объектов и вызывают окислительный стресс [190]. Наиболее чувствительными молекулами являются липиды, окисление которых приводит к образованию большого количества разных высокомолекулярных и низкомолекулярных соединений, в частности летучих органических соединений (ЛОС). Высокая концентрация определенных ЛОС способствует появлению неприятных привкусов и запахов, а также к снижению качества продукции из-за потери незаменимых жирных кислот и других питательных веществ [191]. Так, в работах [8-11] отмечается, что окисление липидов в пищевых продуктах происходит при дозах облучения от 1-3 кГр за счет снижения уровня пероксидов и других активных веществ, однако только при дозах свыше 5-7 кГр происходят существенные изменения внешнего вида и запаха мясной и рыбной продукции.

Помимо липидов облучение оказывает влияние на белковые молекулы, приводя к изменению состава аминокислот, структуры белка и его усвояемости [192]. Эти изменения имеют потенциально как положительные, так и отрицательные последствия, в основном влияя на пищевую ценность биообъектов, которые зависят от конкретных белков и поглощенной дозы. К положительным эффектам облучения относится тот факт, что образовавшиеся свободные радикалы, могут вызывать образование ковалентных связей между аминокислотами в белковых молекулах. Такое сшивание может изменить структуру белка и сделать его более устойчивым к ферментативным перевариваниям микроорганизмами. С другой стороны, облучение также может вызвать денатурацию белковых молекул, что представляет собой открытие структуры белка, приводящее к увеличению доступности пищеварительных ферментов различных микроорганизмов к молекулам белка [193]. Помимо этого, облучение в больших дозах может также вызывать побочные эффекты; а именно, распад или изменение аминокислотных соединений в молекулах белка, что приводит к снижению общего содержания аминокислот и, как следствие, снижение усвояемости белка [194].

При воздействии ионизирующего излучения на углеводы, которые состоят из ряда простых сахаров, в основном происходит окисление и разрушение гликозидных связей, что влечет к расщеплению сахара и сложных углеводов [195]. Химические изменения в сложных углеводах могут иметь как положительные, так и отрицательные последствия. Например, облучение может положительно влиять на крахмал и целлюлозу, повышая их восприимчивость к ферментному гидролизу. Примерами отрицательных эффектов являются потеря пектином желирующих свойств, снижение вязкости крахмала и размягчение

фруктов и овощей. Однако, в ряде работ показано, что облучение в дозах до 4 кГр, не приводит к существенным изменениям качественных характеристик углеводов [196-198].

Облучение также влияет на содержание витаминов в биологических объектах органического происхождения, причем некоторые витамины оказываются более чувствительны к излучению, чем другие [13,199]. Например, облучение приводит к потере витамина С в дозах свыше 3-4 кГр, в то время как концентрация других витаминов, таких как витамин А и Е, остается практически неизменной [13,200]. При этом витамины С и Е могут действовать как антиоксиданты против химических изменений, вызванных облучением, что обеспечивает защитный эффект для других компонентов пищи от воздействия излучения и свободных радикалов.

Таким образом, облучение изменяет окислительно-восстановительную способность биологических объектов, ускоряя окисление основных биомакромолекул биологических объектов, что может оказывать как положительный эффект на качество продукции, так и отрицательный [201,202].

Физические изменения свойств биообъектов после облучения

К основным физическим изменениям, происходящим с биологическими объектами после облучения, можно отнести изменения цвета и текстуры, а также водоудерживающей способности [10].

Цвет представляет собой одно из наиболее заметных изменений в облученных биообъектах и является важным показателем в определении свежести продукции у потребителей [203]. При облучении цвет большинства продуктов мясного происхождения становится светлее или бледнее, что объясняется распадом миоглобина и образованием метмиоглобина, коричневатого пигмента [204,205]. При этом для облученной продукции из белого мяса птицы цвет, наоборот, становится более красноватым [206]. На цвет облученных биообъектов влияют несколько факторов, включая концентрацию гема-пигмента (особенно миоглобина), степень окисления, образование лигандов и физические характеристики (доза облучения, мощность дозы, рН, температура и время хранения) [203]. В работе [207] показано, что УФ-облучение снижает значения a^* (степень покраснения) у говядины, но не влияет на значения L^* (степень светлости) и b^* (степень желтизны). Похожие результаты были получены в работе [208], где значение a^* уменьшалось по мере увеличения дозы облучения сырого говяжьего фарша. При этом гамма-облучение куриной грудки в дозе 4 кГр привело к увеличению значений a^* , но также не повлияло на значения L^* и b^* [209].

Текстура — еще одно важное физическое свойство биологических объектов, которое может изменяться при воздействии ионизирующего излучения. В случае органических объектов высокие дозы излучения 3-7 кГр вызывают разрушение соединительной ткани мяса, что приводит к более мягкой текстуре [210]. Однако облучение также может приводить к ужесточению органических объектов из-за денатурации белковых молекул [211,212]. Так, в работе [213] твердость, эластичность и вязкость образцов пряного вяленого мяса уменьшались при увеличении дозы гамма-облучения. Напротив, в работах [214,215] показали, что облучение ускоренными электронами в дозах 3–5 кГр и гамма-облучения в дозе 9 кГр улучшило текстуру и нежность мяса.

Водоудерживающая способность относится к способности пищевых продуктов удерживать воду во время приготовления или обработки [216]. Облучение может влиять на водоудерживающую способность мясных продуктов, вызывая изменения структуры белка, тем самым увеличивая потерю влаги при хранении [217].

Как правило, физические свойства облученного мяса являются важным фактором при сохранении его качества и приемлемости для конечного потребителя. Понимание изменений физических свойств вследствие облучения необходимо для разработки эффективных методов обработки и повышения качества биологических объектов органического происхождения.

Показатели качества биообъектов после облучения

Облучение биообъектов, как отмечалось выше, может оказывать значительное влияние на физико-химические свойства объектов, что в конечном счете может сказаться на органолептических показателях, а именно изменение цвета, текстуры и вкуса, которые могут повлиять на принятие и восприятие продуктов потребителями [218,219].

Команда экспертов ФАО, ВОЗ и МАГАТЭ в 1980 году заключили, что облучение до 10 кГр не влияет на безопасность пищевых продуктов, что было подтверждено многочисленными исследованиями [188]. Однако, облучение ускоряет окислительные процессы биологических молекул, что и вызывает органолептические изменения [220]. Органолептические свойства облученных биологических объектов являются важным фактором при реализации пищевой продукции, поэтому необходимо тщательно продумывать процесс проведения облучения с целью сохранения качества и пищевой ценности продукта.

Химические, физические и органолептические изменения облученных биологических объектов зависят от различных факторов, включая дозу облучения, конкретные соединения в самом объекте, а также условия обработки и хранения. Для оценки химических изменений активно используются методы хроматографии [221-223]. такие как газовый и жидкостной хромато-масс спектрометрический анализ (ГХ-МС и ВЭЖХ-МС), оптические методы (фото-

и спектрофотометрия) [224,225] метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [226-228], метод оценки тиобарбитуровой кислоты (TBARS) и определение титруемой кислотности (pH) [229,230], а для оценки физических изменений используются методы определения влаги (теплофизические, дистилляционные и пр.), плотности (колориметрия), оптические методы оценки изменения цвета и структуры волокон (колориметрия, рефрактометрия, спектроскопия) и др. [231-234].

Методы идентификации факта проведения радиационной обработки облученных биологических объектов

Помимо необходимой оценки физико-химических и органолептических изменений в пищевых продуктах, прошедших радиационную обработку, существует потребность в аналитических методах идентификации факта проведения такой обработки из-за отсутствия соблюдения требований к маркировке и регулирования международной торговли. Официальный контроль облученных пищевых продуктов должен осуществляться аналитическими методами, утвержденными в соответствии с Решением Комиссии ЕС 657/2002 [235]. В настоящее время не существует единого аналитического метода, который можно было бы использовать для контроля всех типов пищевых продуктов, а существующие методы по разделению облученных биообъектов от необлученных не являются универсальными, поскольку большинство химических соединений, образующихся в результате облучения, не являются уникальными радиолитическими продуктами, а значит не являются биохимическими маркерами для выявления использования именно ионизирующего излучения. Европейский комитет по стандартизации (CEN) утвердил десять методов анализа биологических объектов органического происхождения, основанных на физических, химических или биологических изменениях, вызванных ионизирующим излучением. Четыре из них являются скрининговыми методами:

1. метод прямого эпифлуоресцентного фильтра/аэробного подсчета чашек (EN 13783 2001 [14]);
2. метод на основе фотостимулированной люминесценции (EN 13751 2009 [15]);
3. метод на основе определения лизата амебоцитов *Limulus*/грам-отрицательные бактерии (EN 14569 2004 [16]);
4. метод ДНК-комет на основе микроэлектрофореза в одном геле (EN 13784 2001 [17]).

Эти методы не являются специфичными для продуктов, прошедших радиационную обработку, поскольку любой положительный результат, полученный с помощью этих методов скрининга, может являться результатом других видов воздействий. Поэтому данные методы необходимо использовать только в сочетании с эталонными методами идентификации.

Шесть других методов являются эталонными и основаны на анализе первичных радиолитических продуктов:

1. метод термолюминесценции, основанный на физических изменениях силикатных минералов, присутствующих в продукте (EN 1788 2001 [18]);
2. метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), основанный на обнаружение парамагнитных частиц в биологических системах, содержащих целлюлозу (EN 1787 2001 [19]), кости (EN 1786 1996 [20]) и сахара (EN 13708 2001 [21]);
3. метод анализа вторичных продуктов радиолиза жирных кислот с использованием ГХ-МС анализа, а именно углеводов (EN 1784 1996 [22]) и 2-алкициклобутанонов (EN 1785 2003 [23]).

Долгоживущие сигналы, обнаруживаемые методом термолюминесценции, возникают из-за небольшого количества минеральной пыли, которая обычно обнаруживается на таких продуктах как травы, специи, луковицы, клубнеплоды, овощи, крупы, моллюски и фрукты. Метод термолюминесценции является быстрым и простым, а его чувствительность зависит от количества минералов и способа их извлечения из облученной пробы, а также выбранного для анализа интервала температур свечения. Однако, существует ряд работ, которые показывают неприменимость данного метода в отношении мясной и рыбной продукции, устанавливая уменьшение интенсивности сигнала с течением времени хранения [24,25].

Применение метода ЭПР в анализе пищевых продуктов является очень распространенными, благодаря своей специфичности, скорости и простоте обнаружения радикалов в облученных пищевых продуктах. Однако, обнаружение радиолитических продуктов в пищевых продуктах с высоким содержанием влаги является затруднительным, поскольку свободные радикалы, образующиеся в процессе облучения, исчезают очень быстро. В продуктах с костями, семенами, скорлупой и т. д. при пониженном содержании влаги радикалы остаются достаточно стабильными и легко обнаруживаются ЭПР методом [26,27].

Газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) является одним из наиболее точных методов распознавания летучих органических соединений в образцах, позволяющий определить малейшие изменения концентраций химических изменений, вызванных воздействием ионизирующего излучения. Метод позволяет очень точно определять концентрации летучих органических соединений [28,221] что делает его высокочувствительным. Обнаружение в продукте специфичных биохимических маркеров в виде углеводов и 2-алкициклобутанонов является гарантом воздействия облучения на продукт, но при этом данный метод требует больших затрат времени и использования значительных количеств органических растворителей из-за длительной и сложной подготовки

проб [29]. Также ГХ-МС анализ не позволяет выявить данные биохимические маркеры в продукции с пониженным содержанием жира, таких как диетическая мясо птицы.

В связи с чем, не смотря на уже созданные аналитические методы обнаружения некоторых облученных продуктов, Европейская комиссия способствует разработке новых методов и созданию новых протоколов, направленных на упрощение или улучшение уже существующих процедур, чтобы гарантировать, что методы обнаружения применимы для широкого спектра биологических объектов. Чувствительность существующих эталонных методов может оказаться недостаточной для обработки низкими дозами облучения (менее 1 кГр) биообъектов или пищевых ингредиентов. Обнаружение небольших количеств химических соединений как в облученных, так и необлученных продуктах питания, по-прежнему остается проблемой из-за возможного разбавления радиолитических продуктов. Более того, некоторые из существующих аналитических методов не позволяют идентифицировать радиационную обработку после длительного периода хранения продукции и при некоторых условиях упаковки [29].

Улучшение аналитических методов и разработка новых методов анализа облученных биологических объектов

В работе [236] была проведена предварительная обработка облученных образцов семян лиофилизацией, спиртовым экстрагированием и экстракцией азотной кислотой (5, 10 и 15%) с последующим измерением радиационно-индуцированных сигналов методом ЭПР, в соответствии с эталонным методом EN 1787 2001. Обработка образца 5%-ным раствором азотной кислоты привела к получению более четких и улучшенных спектральных характеристик ЭПР [236]. Предлагаются и другие подходы по усилению нестабильных и относительно слабых сигналов, основанные на дополнительной термической обработке и микроволновой обработке и насыщении ЭПР сигналов, которые позволяют хорошо отличать облученные образцы от необлученных в течении длительного периода хранения [237,238].

Эталонный метод анализа облученных продуктов питания EN 1785 2003, основанный на определении 2-АСВ, не может надежно обнаружить факт проведения облучения биообъектов дозами ниже 0,5 кГр, или облученных ингредиентов, смешанных в низких пропорциях с необлученными пищевыми продуктами [239]. В работах [240-242] предложены новые подходы обнаружения 2-АСВ с меньшим временем обработки проб, затрат на растворители и отходов в сочетании с улучшенной очисткой, которая обеспечивает увеличение соотношения сигнал/шум на хроматограммах, тем самым повышая предел обнаружения данного соединения при дозах до 0.01 кГр.

Твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ) в свободном пространстве (HS) в сочетании с ГХ-МС анализом была предложена в качестве быстрого, недорогого и не содержащего растворителей метода определения 2-ДХБ в говяжьем фарше [243] и нарезанном сухими ломтиками копченой ветчине [244]. В работе [245] также оптимизировали процедуру HS-SPME-GC-MS и использовали для количественного определения 2-ДХБ калибровочную кривую, соответствующую матрице, выполненную с использованием внутреннего стандарта. Предложенный метод частично апробирован и применен для оценки содержания 2-ДХБ в охлажденных котлетах из говяжьего фарша, облученных в диапазоне 0,5–8 кГр. Также предложен метод анализа 2-ДХБ с использованием жидкостной хроматографии с детектированием тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС), который был разработан и оптимизирован для максимальной чувствительности, позволяющей обнаруживать 2-ДХБ при облучения в дозе 0,3 кГр модельных систем, состоящих из пальмитиновой кислоты, глицерилтрипальмитата и 1,3-дипальмитоил-2 гамма-излучением и пучками ускоренных электронов [246].

В качестве биохимического маркера идентификации облученных продуктов, богатых белковыми молекулами, предлагается использовать о-тирозина, который образуется в результате реакции между радиолитически полученными гидроксильными радикалами и ароматическим кольцом фенилаланина и фенилаланинсодержащих белков в пищевых продуктах. Однако недостатками большинства опубликованных методов являются недостаточная селективность и относительно высокие значения о-тирозина в необлученных образцах [247]. В работе [248] разработали эффективную предварительную обработку свободного о- и м-тирозина в облученном мясе, основанную на простой экстракции 0,1% водным раствором муравьиной кислоты и осаждении белка ацетоном. Оптимизацию хроматографии проводили на системах ВЭЖХ-ФЛ и ВЭЖХ-МС/МС для получения полного разделения м- и о-тирозина от п-тирозина и других матричных соединений. Результаты показали очевидную дозовую зависимость между количеством м- и о-тирозина в образцах курицы, свинины и говядины [248].

Также существуют работы, посвященные определению дозо-зависимых маркеров радиационной обработки мясных продуктов. Так в работе [249] среди 101 обнаруженных летучих соединения 25 оказались коррелирующими с дозой. На основании измерений через 30 и 120 дней после облучения были выявлены наиболее стабильные во времени соединения. Дальнейший анализ данных показал, что по соотношению площадей пиков трех дозовых маркеров 1-нонена, 1-ундецена и октана можно реконструировать как дозу облучения, так и время, прошедшее после облучения.

В последние годы в научном сообществе широко исследуется применение комбинации различных методов, например спектроскопических и многомерного анализа данных, для улучшения информации об исследуемых биологических объектах. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и ближнего инфракрасного диапазона (БИК) в сочетании с хеометрическими методами широко применяется для определения характеристик и контроля несоответствия качества пищевых продуктов [250-252]. Более того, хеометрические инструменты обеспечивают распознавание закономерностей в наборе данных и способствуют разработке математических моделей для прогнозирования или мониторинга состава и других характеристик, связанных с пищевыми продуктами [253,254].

В настоящее время исследования в области пищевой промышленности направлены на разработку новых продвинутых подходов к анализу биологических объектов, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения, основанных на измерении различных биофизических и биохимических изменениях в течении длительного периода хранения. Оптимизация и усовершенствование аналитических подходов изучения состава пищевых продуктов на молекулярном уровне, позволяет определить радиационный «отпечаток пищевого продукта», необходимый для оценки качества, безопасности и общей ценности продукта. Комплексный подход к исследованию химических, физических, биологических и органолептических характеристик биологических объектов состоит в выборе передовых аналитических методов анализа, в сочетании с методами бionформатики и машинного обучения для получения более широких знаний о качестве и безопасности биологических объектов.

1.5 Физические параметры излучения для обработки сельскохозяйственной продукции с целью продления сроков хранения и обработки семенного материала

Стабильность сельскохозяйственного сектора является одним из залогов благополучия государства [255]. В условиях урбанизации вопрос поддержания продовольственной безопасности становится особенно важным [256]. В сфере растениеводства объём и качество полученной продукции зависит от успешности выращивания культуры — её урожайности и состояния здоровья — и методов хранения полученного урожая.

К методам повышения урожайности культур можно отнести выведение эффективных сортов, прогнозирование погодных факторов, повышение плодородия почв и их предпосевная обработка. Помимо этого, сокращение потерь урожая из-за поражения культур патогенами является одним из существенных резервов повышения эффективности производства [257].

Климат рассматриваемых для выращивания культур регионов может поддаваться прогнозированию, но не контролю. По мере накопления доказательств того, что концентрация

парниковых газов приводит к потеплению мирового климата, исследования все больше сосредотачиваются на оценке последствий, которые могут произойти при различных сценариях потепления [258,259]. Для сельскохозяйственного сектора изменение климата может приводить не только к смене температур, но и к засолению почв, нехватке водных ресурсов, изменению динамики и распространения популяций насекомых вредителей и росту географического ареала и адаптивных способностей патогенных грибов [260-264].

Заболевания, вызванные фитопатогенными бактериями, вирусами и грибами могут более чем в половину снизить урожайность культур. В сфере растениеводства существует множество методов защиты растений, однако не все из них лишены негативных последствий. Так, использование химических реагентов — фунгицидов, пестицидов и антибиотиков — не только приводит к появлению более устойчивых видов фитопатогенов и негативно влияет на состояние почвы, но и может представлять угрозу здоровью человека. Агротехнические и биологические методы отличаются высокой трудоёмкостью, а селекционные — недостаточной скоростью [265,266].

Перспективной альтернативой является метод радиационной обработки сельскохозяйственных культур, способный оказать как положительное влияние на рост растений, так и подавить развитие фитопатогенных организмов. Ионизирующее излучение находит применение в деле предпосевной обработке семенного материала и повышения сроков хранения полученного урожая. Помимо этого, следует брать в расчёт используемый в селекционных методах стимулированный излучением мутагенез [267-270].

Обработка семенного материала для повышения его качества

На протяжении всего жизненного цикла растения стадия прорастания является наиболее чувствительным периодом к окружающей среде и уязвима для ряда внутренних и внешних ограничительных факторов, которые приводят к замедлению физиологической активности, задержке роста и застою [271,272]. Применение ионизирующего излучения при обработке семенного материала ускоряет прорастание семян, улучшает качество рассады, повышает её стрессоустойчивость и урожайность.

Семенной материал подвержен заражению фитопатогенными грибами [273]. Таким образом, при облучении влияние будет оказываться не только на активные центры прорастания или кожуру семени, но и на находящиеся на семенах фитопатогены.

Предпосевная радиационная обработка требует подбора эффективного дозового диапазона для каждого вида семян, а также учёта условий хранения посадочного материала [274,275]. В таблице 1.10 представлены данные об эффективных дозах обработки различными видами ионизирующего излучения некоторых сельскохозяйственных культур, которые

вызывают определенный положительный эффект в отношении устойчивости семенного материала к внешнему негативному воздействию из почвы, качества и общей урожайности [267,276-293]

Таблица 1.10 — Дозовые диапазоны обработки семенного материала.

Культура	Доза, Гр	Эффект
<i>Рентгеновское излучение</i>		
Бамя	0,25-5	Увеличение высоты и веса растений, а также общего количества пигментов.
Паслён	0,3-50	Увеличение высота растений, количества и площади листьев растений.
Кофейные зерна	50-100	Увеличение всхожести, повышение жизнеспособности рассады и роста гипокотилия.
<i>Гамма-излучение</i>		
Рис сорта Св-2233 и урд	50 Гр для риса и 200 Гр для урда	Увеличение высоты и количества побегов и метёлок, количества семян с растения.
Пшеница сорта Амби	50-100	Благоприятное влияние на метаболическую и пролиферативную активность клеток, изменение экспрессии генов.
Резуховидка Таля из семейства капустных	25-75	Увеличение длины корешков и сырой массы растения, рост коэффициента прорастания семян на 15-36%
Ячмень сорта Грейс и Нур	16-20	Ускорение сроков развития растений, увеличение длины корешков и проростков, увеличение урожайности на 38%.
Картофель сортов Леди Розетта, Диаманте, Голд и Сантана	20	Повышение выработки антиоксидантных ферментов и устойчивости растений к солевому стрессу, увеличение сырой массы растений.
<i>Электронное излучение</i>		
Чечевица	8000 Гр, Электронный пучок с энергией 180 кэВ.	Ускорение прорастания семян.
Ячмень	1000-5000 Гр, Электронный пучок с энергией 160 кэВ.	Увеличение всхожести семян.
Пшеница сорта Ирен	15 000 Гр, Электронный пучок с энергией 100 кэВ.	Увеличение высоты и массы растений.

Полевица побегообразующая	1000-5000 Гр, Электронный пучок с энергией 160 кэВ.	Увеличение всхожести семян и длин проростков и корешков.
<i>Протонное излучение</i>		
Ячмень	3 Гр, Протонный пучок с энергией 150 МэВ.	Повышение устойчивости к солевому стрессу и скорости роста.
Рис сорта CSR27	20-40 Гр, Протонный пучок с энергией 14,52 МэВ.	Увеличение высоты растений и длины корней.
Рис японского и индийского типов	50 и 100 Гр, Протонный пучок с энергией 45 МэВ.	Увеличение высоты растений и длины корней.
<i>Пучки ионов углерода</i>		
Резуховидка Таля	50 Гр	Стимуляция всхожести, увеличение длины корней и сырой массы проростков. Увеличение сопротивляемости растения низким температурам.
Рис сорта MR219	10 Гр	Увеличение высоты растения, длину корней и сырой массу проростков.
Люцерна	200 Гр	Увеличение всхожести, повышение жизнеспособности семян, высоты растений и скорости их прорастания.

Можно отметить, что использование пучков ускоренных электронов отличается высокими значениями используемых доз, однако, в силу низкой энергии частиц — от 100 до 180 кэВ — их ожидаемая проникающая способность представляется очень низкой. Таким образом большая часть энергии электронов оказывает влияние лишь на поверхностные слои семенного материала, в которых чаще всего располагаются различные бактерии и вредители, а также развиваются заболевания растений [294].

Из-за видимых отличий результатов использования разных видов излучения, возникает вопрос о влиянии факторов радиационной обработки — полученной дозы и её объёмного распределения, используемого типа излучения и его проникающей способности — на её итоговый эффект. При этом, так как с увеличением дозы возрастает негативное влияние радиационного воздействия, предпочтение будет отдаваться обработке в низких дозах.

К настоящему времени физиологические и молекулярные механизмы гормезиса до конца не раскрыты, однако, исходя из приведённых в таблице 1 исследований, причинами могут служить изменения в активности антиоксидантных ферментов и неферментативных антиоксидантов, концентрации фитогормонов, а также смачиваемости поверхности семян.

Немаловажно отметить влияние повреждения ДНК и экспрессии генов на дальнейшее развитие растений.

Продление сроков хранения сельскохозяйственных культур

На сегодняшний день остро стоит задача сокращения экономических потерь продукции, вызванных порчей биологического материала, а также необходимость снижения вспышек заболеваний пищевого происхождения. К порче сельскохозяйственной продукции могут привести ненадлежащие условия хранения, ведущие к перезреванию или прорастанию, и заражение вредоносными грибами, бактериями или насекомыми вредителями [295]. Для решения данных проблем применяются различные методы сохранения пищевых продуктов.

Так, применение низких температур является простым, эффективным и широко распространённым методом хранения сельскохозяйственной продукции после сбора урожая, однако замороженные продукты подвержены потере качества при их последующем размораживании, также существуют виды микроорганизмов, которые уходят в лаг-фазу при экстремально низких температурах, но с последующим выходом из нее, способны активно развиваться, что не решает проблему обработки продукции [296,297]. Помимо этого, данный метод является весьма энергозатратным из-за необходимости поддержания температурного режима [298]. Термические методы консервирования являются надёжным способом борьбы со многими видами болезнетворных микроорганизмов, однако данный способ не применим для сохранения свежести и качества урожая [299]. Нетермические методы обработки, такие как обработка химическими реагентами или импульсным электрическим полем также имеют ряд недостатков, к которым можно отнести опасность для здоровья конечного потребителя от употребления не экологически чистых продуктов или низкая эффективность воздействия данных методов в отношении спор грибов [300-302]. Отличной альтернативой приведённым методам является радиационная обработка урожая, проводимая с целью снижения фитопатогенной нагрузки и потерь при хранении, вызванных естественной убылью массы, прорастанием или гниением [303-305].

Для продления сроков хранения используются большие дозы излучения, чем для облучения посевного материала. Исследования показали, что при облучении с целью хранения дозовый диапазон может варьироваться от сотен до нескольких тысяч Грей (таблица 1.11) [306-317].

Таблица 1.11 — Дозовые диапазоны обработки урожая в целях продления сроков его хранения.

Культура	Доза, Гр	Эффект
<i>Рентгеновское излучение</i>		
Клубника	400-1000	Снижение потери массы плодов и частоты их гниения, замедление ухудшения цвета и твёрдости. Уменьшение микробной обсеменённости.
Шпинат	150-300	Ингибирование развития патогенных микроорганизмов на листьях.
Мандарин	500	Ингибирование роста фитопатогенных грибов, снижение потери массы и скорости гниения плодов.
Пшеница	1500	Полное ингибирование роста фитопатогенных грибов, снижение прорастания зерна.
<i>Гамма-излучение</i>		
Картофель	100-150	Снижение потери массы клубней, первоначальное снижение содержания аскорбиновой кислоты, выравнивающееся до контрольных показателей при длительном хранении.
Лук	120	Снижение потери массы и твёрдости луковиц, уменьшение частоты их гниения и прорастания.
Голубика	1000-2500	Снижение интенсивности выработки этилена и проницаемости клеточных мембран, снижение генерации активных форм кислорода, продление сроков хранения.
Сорго зерновое	500-5000	Улучшение качества зерна за счёт ингибирования роста патогенных грибов и уменьшение содержания свободных жирных кислот.
<i>Электронное излучение</i>		
Картофель	500-1000, Электронные пучки с энергией 5 и 10 МэВ	Полное ингибирование прорастания, снижение потери массы и твердости клубней при длительном хранении
Мандарин	400, Электронный пучок с энергией 5 МэВ	Ингибирование развития патогенных микроорганизмов (бактерий, дрожжей и плесени), задержка созревания плодов.
Манго	500 Электронный пучок с энергией 10 МэВ	Увеличение выработки перекиси водорода и защитных ферментов, снижение потери твёрдости плода.
Капуста татсой и мангольд	500-3000 Электронный пучок с энергией 2,5 МэВ	Ингибирование развития патогенных микроорганизмов.

Так как целью обработки является гарантированное ингибирование развития фитопатогенов и замедление роста хранимых культур, облучение может проводиться в более высоких, чем необходимо, дозах. При этом, чем выше полученная доза, тем больше

химических изменений происходит в продукте — это приводит к изменению содержания влаги, витаминов, сахаров, белков и иных элементов, снижению питательной ценности. Повышение эффективности обработки требует грамотного планирования облучения: нахождения эффективных дозовых диапазонов, при которых подавления роста грибов и прорастания урожая не приведёт к снижению его качества; подбора используемого типа и энергии излучения исходя из нахождения мишеней облучения.

Дезактивация фитопатогенных грибов

Определение нижних границ дозовых диапазонов обработки затрудняется различиями в радиоустойчивости большой вариативности фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания у исследуемых культур. Так, наиболее распространенными видами заболеваний на картофеле являются ризоктониоз, фитофтороз, порошистая парша и рак клубней [318,319], для семян — фузариоз, мучнистая роса, септориоз, бурая, жёлтая и стеблевая ржавчина [320], а для овощей и фруктов — фитофтороз, белая ржавчина, мукормикоз и парша [321]. При хранении культур также возможно их поражение различного вида плесневыми грибами и гнилью [322,323].

Облучение фитопатогенных культур способно ингибировать их развитие или снижать выработку грибами токсинов. Устойчивость фитопатогенов к обработке может различаться не только между семействами, но и варьироваться от штамма к штамму [324-328]. В таблице 1.12 приведены данные исследований воздействия радиационной обработки на различные грибные фитопатогены. Можно отметить, что применимые для ингибирования роста грибов дозы измеряются в тысячах Грей, что выше применяемых дозовых диапазонов для сельскохозяйственных культур.

Таблица 1.12 — Дозы излучения, необходимые для ингибирования фитопатогенных грибов.

Культура	Доза ингибирования, Гр
<i>Рентгеновское излучение</i>	
<i>Botrytis cinerea</i>	4000
<i>Penicillium expansum</i>	2000
<i>Rhizopus stolonifer</i>	2000
<i>Гамма-излучение</i>	
<i>Botrytis cinerea</i>	4000
<i>Penicillium expansum</i>	2000
<i>Rhizopus stolonifer</i>	3000
<i>Alternaria alternata</i>	2000
<i>Aspergillus flavus</i>	2000
<i>Penicillium digitatum</i>	1000
<i>Электронное излучение</i>	
<i>Botrytis cinerea</i>	4000

<i>Penicillium expansum</i>	1000
<i>Rhizopus stolonifer</i>	2000

Помимо влияния ионизирующего излучения на отдельно выделенный фитопатоген интерес представляет обработка заражённых фитопатогеном образцов урожая, так как влиянию подвергается сразу два объекта: гриб и культура, на субстрате которого он существует. Исходя из данных в таблице 1.13 можно сказать, что необходимые для подавления произрастающих на культуре грибов дозы могут быть как ниже, так и намного выше изначальных значений для семейств грибов, выращенных в чистом виде [329-334]. Наличие организма с собственными внутренними процессами в качестве субстрата, предположительно, создаёт отмеченную разницу в дозах.

Таблица 1.13 — Дозы излучения, необходимые для ингибирования фитопатогенных грибов на культурах.

Носитель	Культура	Доза ингибирования, Гр
<i>Рентгеновское излучение</i>		
Пшеница	<i>Alternaria spp.</i>	1500
	<i>Helminthosporium spp.</i>	1500
	<i>Fusarium spp.</i>	1500
Конопля	<i>Aspergillus niger</i>	2000
	<i>Aspergillus flavus</i>	2500
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2500
	<i>Aspergillus terreus</i>	2000
<i>Гамма-излучение</i>		
Кукуруза	<i>Fusarium moniliforme</i>	30000
Персик	<i>Monilinia fructicola</i>	1000
	<i>Botrytis cinerea</i>	1000
Лотос	<i>Mucor plumbeus</i>	5000
	<i>Curvularia prasadii</i>	2500
	<i>Aspergillus terreus</i>	5000
<i>Электронное излучение</i>		
Лотос	<i>Fusarium moniliforme</i>	5000
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	10000
	<i>Mucor plumbeus</i>	7500
	<i>Aspergillus candidus</i>	2500
	<i>Aspergillus terreus</i>	5000
Кукуруза	<i>Penicillium spp.</i>	1700
	<i>Fusarium spp.</i>	2500
	<i>Aspergillus spp.</i>	4800

Принимая во внимание особенности взаимодействия излучений разного типа с веществом и полученные в исследованиях данные, можно сделать вывод, что эффект и дозовые диапазоны обработки для электромагнитных и корпускулярных ионизирующих

излучений отличаются [335]. Следовательно, важной частью процесса обработки сельскохозяйственной продукции, будь то фитопатоген, семенной материал или полученный урожай, является его оптимизация под выбранную культуру — учёт строения объекта, взаимодействия его вещества с излучением и расположения критических структур. Моделирование процесса облучения с включением указанных параметров способно удовлетворить данный запрос [336].

По результатам проведенного анализа современных исследований в области радиационной обработки биообъектов, в приложении 1 приведены химические и физические методы дозиметрии, методы прямого и непрямого микробиологического анализа, химические и физические методы выявления биохимических изменений, а также физические принципы, лежащие в основе методов, даны ссылки на соответствующие российские и международные стандарты, регламентирующие применение методов, используемых при радиационной обработке биообъектов.

Глава 2. Методология диссертационного исследования

2.1 Объекты исследования

В качестве объектов исследования биохимических изменений, протекающих в биологических объектах после воздействия ионизирующего излучения, были выбраны следующие виды продукции органического происхождения: мясо птицы (филе индейки и курицы), говядина (цельные образцы и фарш), красная рыба (форель и семга). Объекты покупались в охлажденном состоянии на специализированном рынке (Усачевский рынок, Москва) с момента забоя/вылова не более 2х суток, и хранились при температуре 2-4°C до момента облучения.

Для оценки влияния ионизирующего излучения на всхожесть, урожайность, рост и последующее прораствание при хранении сельскохозяйственных культур были выбраны следующие образцы: семена льна, пшеницы, подсолнечника, рапса и сои, клубни картофеля сорта Невский, Жуковский ранний, Лина, Агата, Gala, Фиолетовый.

В данной работе были также исследованы модельные образцы для анализа протекания пострадиационных механизмов, происходящих в биообъектах после их облучения. В качестве модельных биохимических образцов были выбраны следующие соединения:

- альдегиды — 2-метилбутаналь, пентаналь, гексаналь; кетоны — бутанон-2, пентанон-2; спирты — пентанол-1, гексанол-1 (Sigma Aldrich, USA) для оценки химических превращений летучих органических соединений;
- белок бычий сывороточный альбумин (BSA фракция V, BioClot) для оценки деструкции белковых молекул.

В качестве модельных биологических образцов было изучено влияние излучения на условно-патогенные бактерии *Escherichia coli* (референтный штамм Американской коллекции типовых культур (ATCC) — *E.coli* ATCC 25922), грибы рода *Fusarium*, *Alternaria* и *Aspergillus fumigatus* и ряд фитопатогенов: *Rhizoctonia solani*, *Bipolaris sorokiniana*, *Septoria nodorum*.

2.2 Схема и параметры облучения образцов биологической ткани рентгеновским излучением и пучками электронов

Для проведения радиационной обработки биообъектов были использованы следующие источники ионизирующего излучения:

1. ускоритель электронов УЭЛР-1-25-Т-001 на энергию 1 МэВ и средней мощностью пучка 25 кВт (НИИЯФ МГУ имени Д.В. Скобелыцина, Москва, Россия);

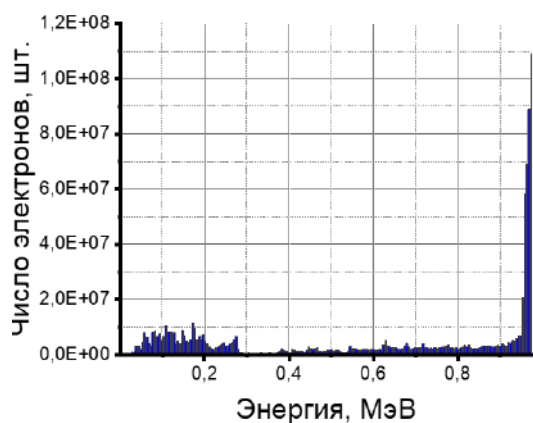
2. ускоритель электронов УЭЛР-10-15-С на энергию 10 МэВ и средней мощностью 15 кВт (НИИЯФ МГУ имени Д.В. Скобелецкина совместно с ООО НПП «Торий», Москва, Россия);
3. источник рентгеновского излучения: рентгеновский аппарат ДРОН УМ-2 с рентгеновской трубкой типа БСВ 23, материал анода — медь, молибден (Физический факультет МГУ, Москва, Россия);
4. источник рентгеновского излучения: рентгеновский аппарат 1БПВ 23-100 с рентгеновской трубкой типа РАД-100, материал анода — молибден (ФМБЦ им. Бурназяна, Москва, Россия).

В таблице 2.1 представлены основные физико-технические параметры каждой радиационной установки.

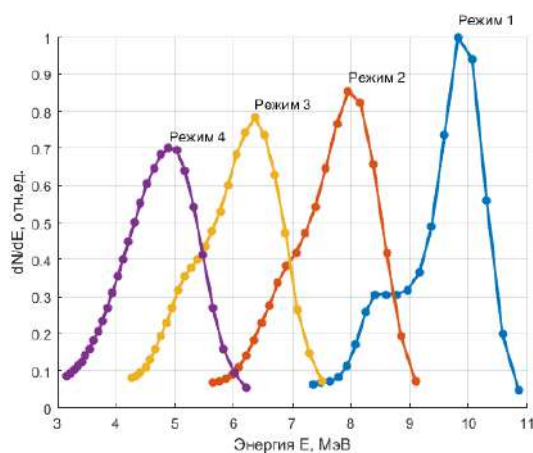
Таблица 2.1 — Параметры источников ионизирующего излучения.

Источник	$E_{\max}$, эВ	$I_{\max}$, мА	P , кВт	$U_{\max}$, кВ	Материал анода
УЭЛР-1-25-Т-001	1 МэВ	25	25	15	—
УЭЛР-10-15-С	9,5 МэВ	800	15	50	—
ДРОН УМ-2 с БСВ 23	26 кэВ	26	0,7	30	медь
1БПВ 23-100 с РАД-100	80 кэВ	10	1,5	100	молибден

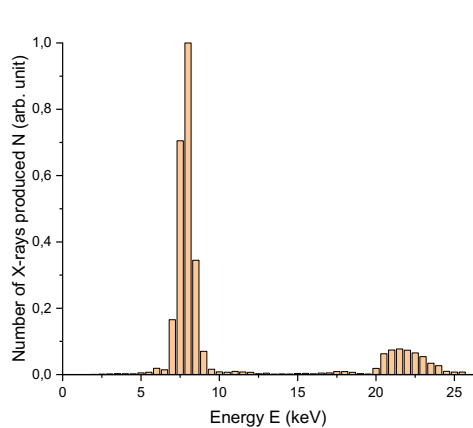
Спектры радиационных установок, использующихся в данной работе, представлены на рисунках 2.1а-г



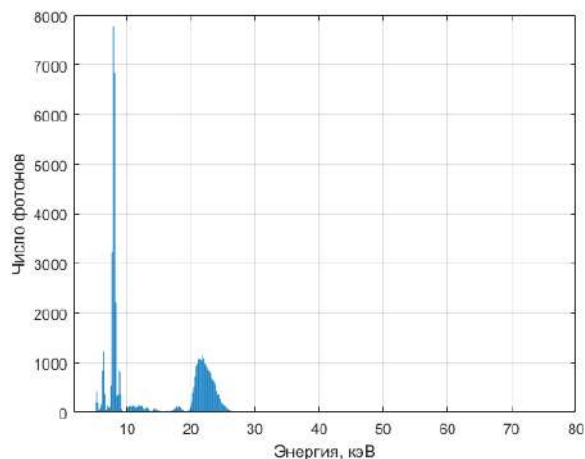
(а)



(б)



(в)



(г)

Рисунок 2.1 — Спектры ускорителей электронов УЭЛР-1-25-Т-001 (а) и УЭЛР-10-15-С (б) и рентгеновских установок ДРОН УМ-2 с рентгеновской трубкой БСВ 23 (в) и 1БПВ 23-100 с рентгеновской трубкой РАД-100 (г).

Спектры ускорителей имеют два пика: первый вблизи низких энергий, вызванных вторичной ионизацией низкоэнергетическими электронами, второй — соответствующий максимальной энергии ускоренных электронов. Спектры фотонов также имеют два пика: первый соответствует характеристическому излучению меди/молибдена, а второй — тормозному спектру рентгеновского облучения.

На рисунке 2.2 представлен ускоритель электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001. На данной установке представляется возможным варьирование тока пучка в диапазоне от 0,005 мкА до 25 мА, что позволяет варьировать мощность дозы от Гр/с до сотен Гр/с.

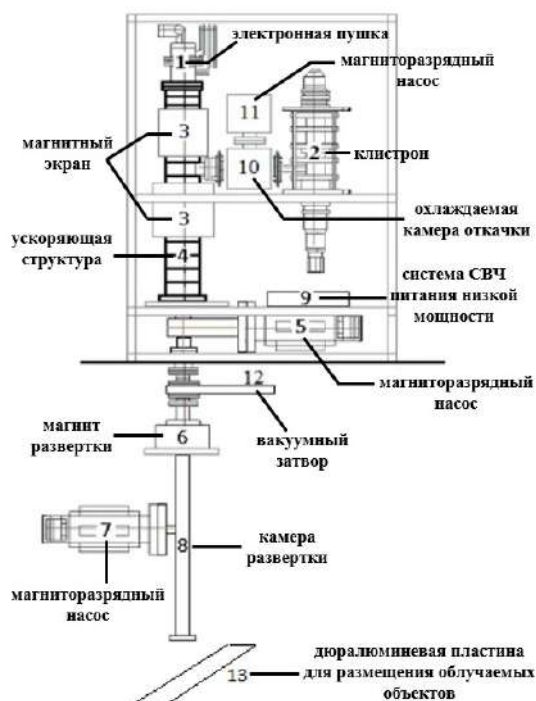


Рисунок 2.2 Фотографии и схема ускорителя УЭЛР-1-25-T-001 [337].

На данном ускорителе проводилось облучение всех исследуемых биологических объектов и стандартных модельных образцов. Типичная схема облучения на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-T-001 представлена на рисунке 2.3. Образцы выкладываются на дюралюминиевую пластину, расположенную на расстоянии 12 см от выхода пучка электронов (размеры пластины 35 см x 5,2 см). В ходе облучения были зафиксированы следующие параметры: ток пучка, суммарное время облучения, заряд, поглощенный дюралюминиевой пластиной, определяемый с помощью АЦП (ООО “Производственное объединение Овен”, Россия). Погрешность в определении заряда составляет не более 2 %.

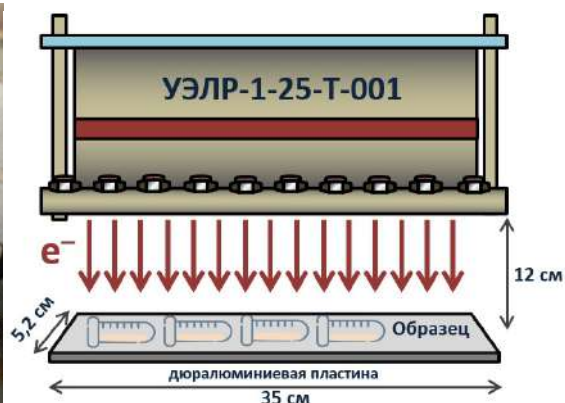


Рисунок 2.3 — Фотография и схема облучения биологических объектов на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-T-001.

На рисунке 2.4 представлен промышленный ускоритель УЭЛР 10-15-С-60 со сканирующим пучком с мощностью 15 кВт. Эффективная энергия обработки данного ускорителя может варьироваться в диапазоне от 5 МэВ до 9,5 МэВ. Ускоритель разработан сотрудниками НИИЯФ МГУ, физического факультета МГУ и АО «НПП «Торий» для промышленных целей. Данная установка располагается в Калужской области в многофункциональном центре обработки продукции ионизирующим излучением «CORAD» (бывший центр антимикробной обработки продуктов питания и стерилизации потоком ускоренных электронов ООО «Теклеор»).

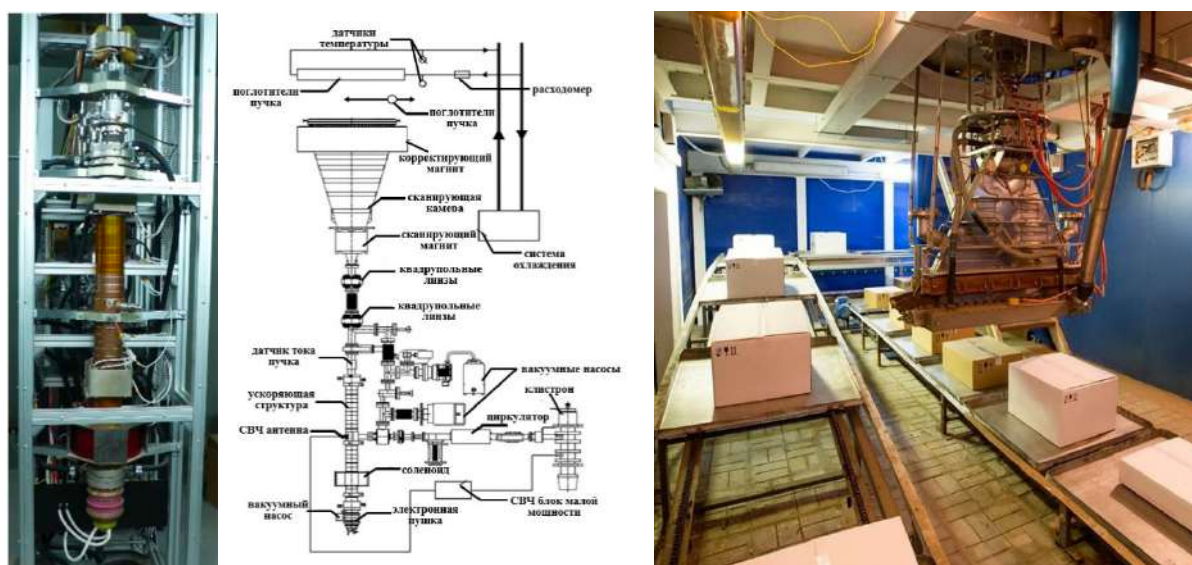


Рисунок 2.4 — Фото и схема ускорителя УЭЛР 10-15-С-60 [49].

На данном ускорителе проводилась экспериментальная проверка модуляторов пучка, позволяющих повысить однородность дозы по объему облучаемого биологического объекта. При облучении на промышленном ускорителе электронов УЭЛР 10-15-С-60 биообъекты располагались в картонных коробках и далее помещались на конвейерную ленту (рис. 2.4). При облучении устанавливались следующие параметры: максимальная энергия электронов — 9,5 МэВ, ширина развертки пучка — 50 см, мощность пучка — 12 кВт. В ходе облучения были зафиксированы следующие параметры: длительность импульса тока, частота следования импульсов, частота развертки, время облучения и скорость движения конвейерной ленты.

Аппарат ДРОН УМ-2 с рентгеновской трубкой БСВ 23 представляет собой запаянную электронную рентгеновскую трубку с медной тормозной мишенью. Рабочий ток трубки и рабочее напряжение трубки составляли 25 мА и 26 кэВ, соответственно. С использованием данной трубки облучались клубни посевного картофеля, а также продукция животного происхождения. Биологические объекты обрабатывались в микроцентрифужных пробирках

типа Эппендорф, расположенных в непосредственной близости к выходу пучка, в соответствии со схемой, приведенной на рисунке 2.5.

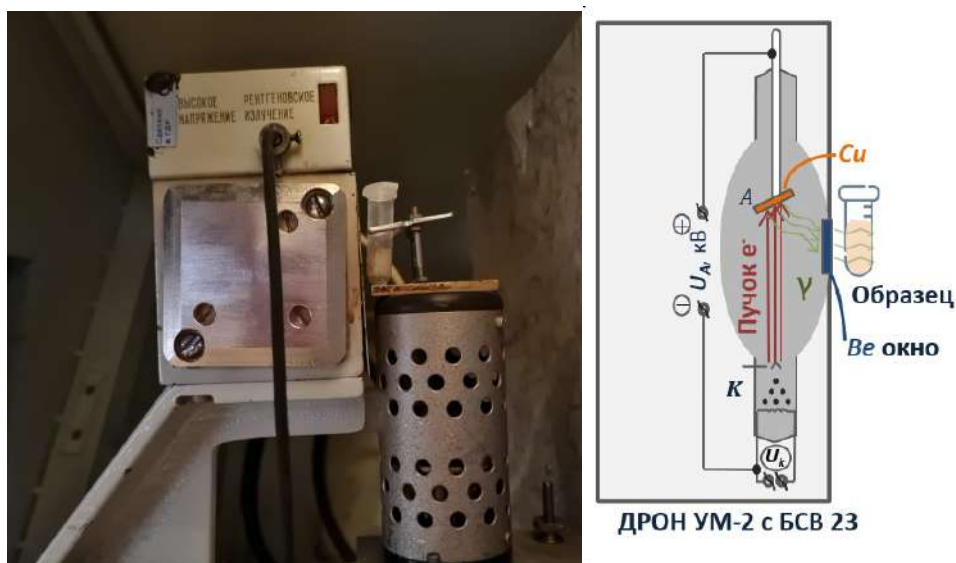


Рисунок 2.5 — Фотография и схема облучения биологических объектов на установке ДРОН УМ-2 с рентгеновской трубкой БСВ 23.

Рентгеновский аппарат РАП 100-10 оснащен рентгеновской трубкой 1БПВ23-100 с молибденовым анодом и выходным бериллиевым окном. Установка имеет водяное охлаждение и работает при анодном напряжении на рентгеновской трубке в регулируемом диапазоне 30–100 кВ. Максимальный анодный ток составляет 10 мА. Расстояние от выхода окна до облучаемых объектов регулировались в зависимости от типа биообъекта.

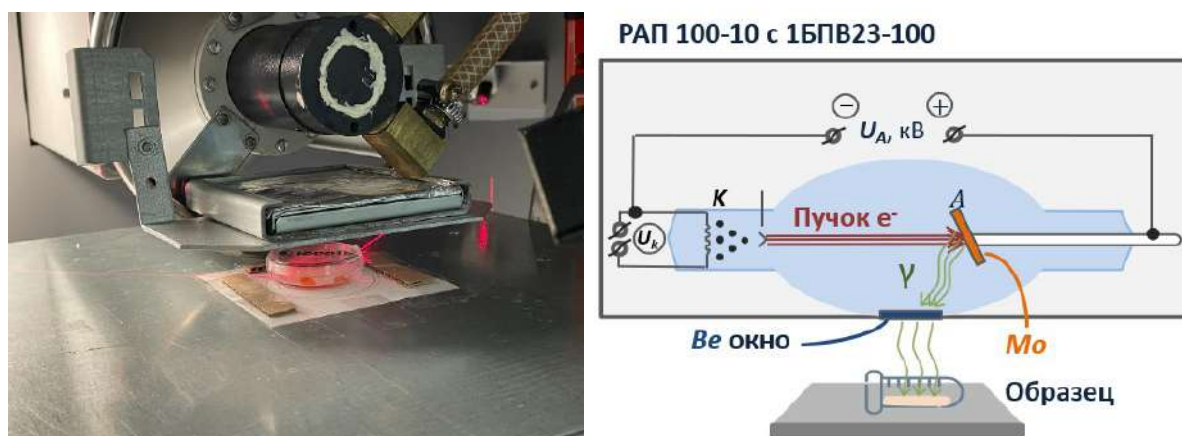


Рисунок 2.6 — Фотография и схема облучения биологических объектов на установке 1БПВ 23-100 с рентгеновской трубкой РАД-100-10.

2.3 Математическое моделирование пространственного распределения поглощенной дозы в биологическом объекте с использованием программного кода GEANT4

Дозиметрическое планирование экспериментов, а также расчет глубинных и объемных распределений поглощенной дозы осуществлялись с помощью компьютерного моделирования с использованием инструментария Geant4 [117-119,134]. В моделированиях воспроизводилась геометрия биологических объектов и схема облучения.

В случае облучения на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-Т-001 в центре мира располагалась дюралюминиевая пластина (350 x 52 x 5) мм³, на которой размещались:

- до 12 пластиковых цилиндров, имитирующих пробирки типа Эппендорф, с кубическими или полуцилиндрическими водными фантомами, имитирующими биологические объекты органического происхождения: мясную и рыбную продукцию, а также мясо птицы;
- до 8 водных фантомов в форме шара с диаметром 40 мм, имитирующих клубни посевного картофеля;
- до 180 водных фантомов в форме эллипсоида с размером осей 10 мм, 5 мм и 5 мм, имитирующих семена пшеницы и других масличных культур;

На расстоянии 12 см от пластины размещался плоский источник (350 x 52) мм², испускающий электроны параллельным пучком в соответствии со спектром, изображенным на рис. 2.1а.

На каждый фантом накладывалась виртуальная сетка-счетчик:

- размером (20 x 20 x 6) мм³, разбитая на (20 x 20 x 6) ячеек в случае моделирования облучения цельных кусков биологических объектов, помещенных в чашки Петри; объем виртуальной сетки-счетчика совпадал с объемом фантомов (рис. 2.7а);
- размером (39 x 4 x 2) мм³, разбитая на (39 x 4 x 2) ячеек в случае моделирования облучения цельных кусков биологических объектов, помещенных в пробирки типа Эппендорф; объем виртуальной сетки-счетчика совпадал с объемом фантомов (рис. 2.7б);
- размером (39 x 4 x 2) мм³, разбитая на (39 x 4 x 2) ячеек в случае моделирования облучения жидких биологических объектов и модельных образцов, помещенных в пробирки типа Эппендорф; объем фантомов был вписан в объем сетки-счетчика (рис. 2.7в);
- размером (40 x 40 x 40) мм³, разбитая на (40 x 40 x 40) ячеек в случае моделирования облучения клубней картофеля; объем фантомов был вписан в объем сетки-счетчика (рис. 2.7г);

- размером $(10 \times 5 \times 5) \text{ мм}^3$, разбитая на $(10 \times 5 \times 5)$ ячеек в случае моделирования облучения семян пшеницы и других масличных культур объем фантомов был вписан в объем сетки-счетчика (рис. 2.7д);

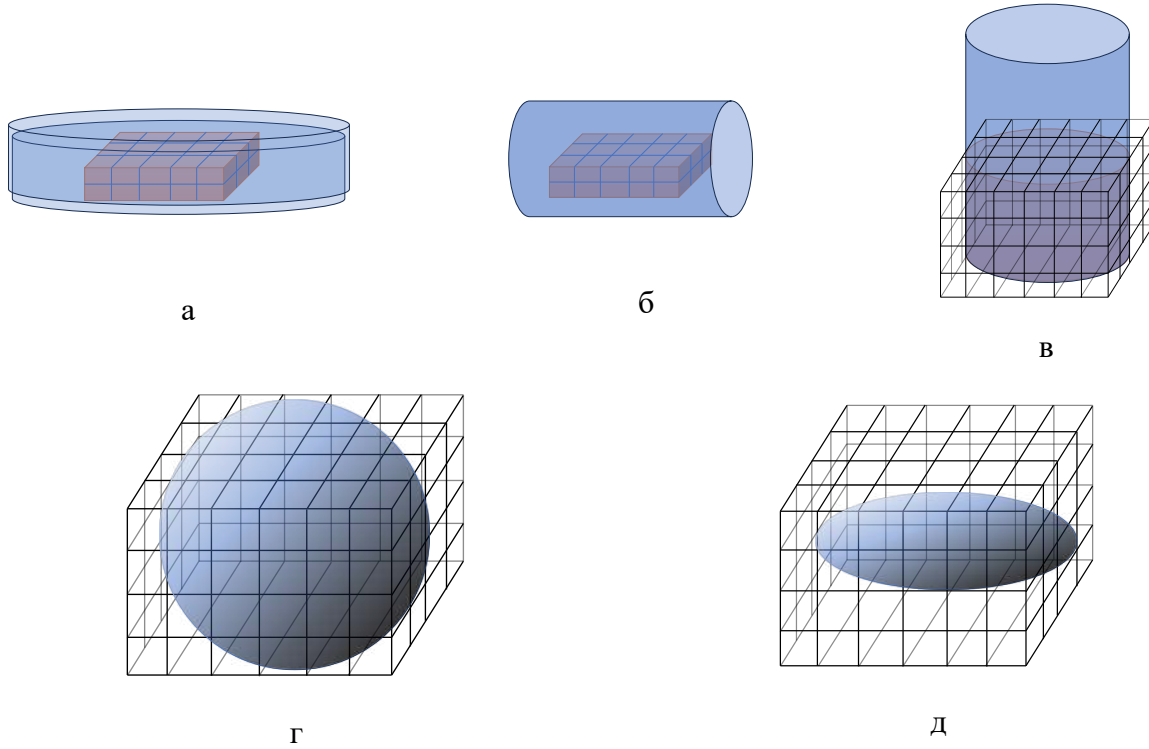


Рисунок 2.7 — Схема наложения виртуальной сетки-счетчика на фантомы.

В каждой ячейке сетки регистрировались величины $\sum_{i=1}^{N_i} D_i, \sum_{i=1}^{N_i} D_i^2, N_i$, где N_i — количество событий, произошедших в данной ячейке; D_i — доза, поглощенная в ячейке в ходе i -го события. Для расчетов выбиралась такое количество первичных частиц, чтобы погрешность (2.1) не превышала 2%.

$$S_{xyz} = \frac{N_{xyz}}{N_{xyz} - 1} \sqrt{\left(\frac{1}{N_{xyz}} \sum_{j=1}^{N_{xyz}} D_{ijxyz}^2 - \left(\frac{1}{N_{xyz}} \sum_{j=1}^{N_{xyz}} D_{ijxyz} \right)^2 \right)}, \quad (2.1)$$

где N_{xyz} — количество событий, поглощенной в ячейке с индексом xyz ; D_{ijxyz} — доза, поглощенная в ячейке с индексом xyz в ходе i -го события, произошедшего в данной ячейке.

Интегральная поглощенная доза для каждого объекта рассчитывалась по формуле (2.2):

$$D = \frac{\sum_{x=1}^{N_x} \sum_{y=1}^{N_y} \sum_{z=1}^{N_z} m_{xyz} \sum_{i=1}^{N_{xyz}} D_{ijxyz}}{\sum_{x=1}^{N_x} \sum_{y=1}^{N_y} \sum_{z=1}^{N_z} m_{xyz}} - D', \quad (2.2)$$

где N_x, N_y, N_z — количество ячеек сетки вдоль осей OX, OY, OZ соответственно; D' — доза, поглощенная в ячейках сетки, выходящих за объем фантома.

Также в ходе моделирования регистрировался поглощенный дюралюминиевой пластиной заряд $Q_{\text{пласт}}$. Эта же величина фиксировалась на экспериментальной установке

в режиме реального времени, что позволяло доставлять до объектов запланированное количество дозы.

Располагая знанием о величине заряда, поглощенного пластиной, возможно получить аналитическую оценку величины дозы, поглощенной образцом. Пусть S — площадь пластины, S_0 — площадь пластины, затеняемая одним образцом, N — количество образцов. Предположим, что ускоритель излучает электроны параллельным пучком равномерно по площади пластины, и что все электроны, попадающие в образец, им поглощаются. Тогда каждый образец поглотит объем Q_0 , который будет связан с зарядом $Q_{\text{пласт}}$ следующим соотношением:

$$\frac{NQ_0}{Q_{\text{пласт}}} = \frac{NS_0}{S-NS_0}, \quad (2.3)$$

Из соотношения (2.3) следует:

$$Q_0 = \frac{S_0}{S-NS_0} Q_{\text{пласт}} \quad (2.4)$$

Зная заряд, поглощенный образцом, можно оценить поглощенную образцом дозу D_0 :

$$D_0 = \frac{Q_0}{e} \frac{\bar{E}}{m_0} = \frac{S_0}{S-NS_0} \frac{Q_{\text{пласт}}}{e} \frac{\bar{E}}{m_0}, \quad (2.5)$$

где e — модуль заряда электрона, $\bar{E}$ — средняя по спектру энергия электронов, m_0 — масса образца.

Геометрия рентгеновской установки на базе трубки БСВ-23, смоделированная в GEANT4, представлена на рисунке 2.8. Сама трубка моделировалась в виде полого стеклянного куба, в верхней грани которого находится медная тормозная мишень в форме диска диаметра 26 мм. Выходное окно, выполненное в виде бериллиевого диска диаметра 12,6 мм и толщиной 0,15 мм, расположено в смежной грани куба. Источник электронов находился в непосредственной близости от тормозной мишени и излучал электроны, согласно спектру, изображенному на рисунке 2.1в.

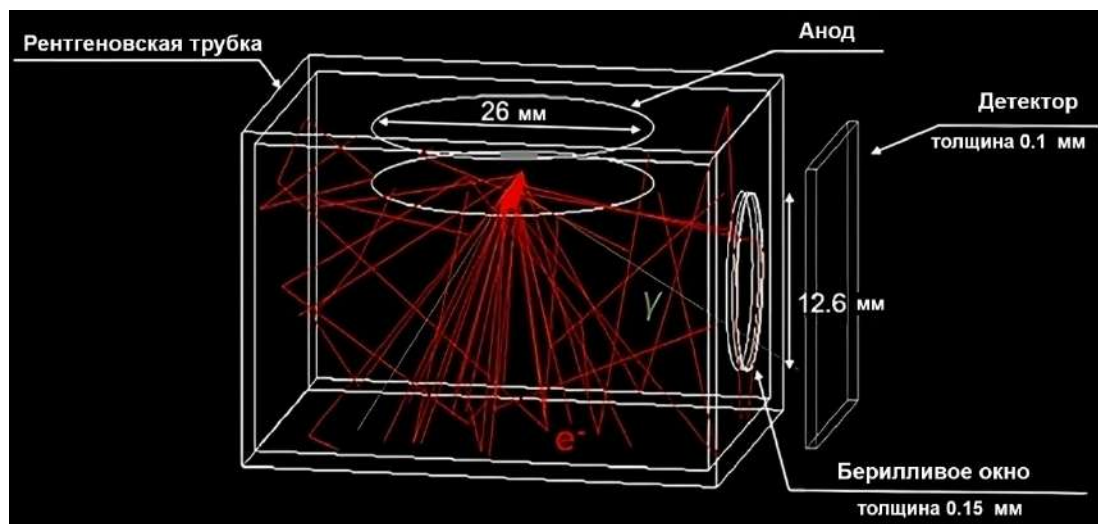


Рисунок 2.8 — Геометрия моделируемой рентгеновской установка на базе трубки БСВ-23 [338]. Красными линиями обозначены треки первичных электронов, зелеными — фотонов тормозного излучения.

Как и при моделировании экспериментов на базе ускорителя УЭЛР-1-25-Т-001, облучаемые объекты заменялись водными фантомами:

- в форме шара с диаметром 40 мм, имитирующего клубни посевного картофеля (рис. 2.7г)
- в форме цилиндра, имитирующего облучение жидких биологических объектов и модельных образцов (рис. 2.7в); при этом образцы помещались в полый пластиковый цилиндр, имитирующий пробирку типа Эппендорф.

Параметры виртуальной сетки-счетчика и регистрируемые параметры идентичны таковым в моделировании экспериментов на базе ускорителя УЭЛР-1-25-Т-001. Предполагая, что облучаемый объект поглощает всю энергию тормозного излучения, аналитическая оценки величины поглощенной дозы представим в виде:

$$D = \frac{\alpha I_0 t}{e} \overline{E_\gamma}, \quad (2.6)$$

где α — коэффициент конвертации энергии первичных электронов в тормозное излучение, I_0 — ток рентгеновской трубки, t — время облучения, $\overline{E_\gamma}$ — средняя по спектру энергия тормозного излучения.

2.4 Дозиметрический контроль облучения биологических объектов

Для определения величины поглощенной дозы биологическими объектами были проведены аналитические расчеты, а также использовались стандартные дозиметрические системы: ферросульфатная дозиметрия (дозиметр Фрикке) [95] и дозиметрические пленки (сополимер с 4-диэтиламиноазобензоловым красителем) — СО ПД(Э)-1/10 и СО ПД(Ф)Э-5/50 [101,108].

Аналитический расчет поглощенной дозы

В качестве примера аналитического подхода в расчете дозы, поглощенной биологическим объектом, приведены вычисления для сферических объектов, имитирующих клубни картофеля.

Толщина слоя полусферы, с декартовой системой координат с началом в центре полусферы, на расстоянии $r = \sqrt{x^2 + y^2}$ от начала координат равна $l = \sqrt{R^2 - r^2} = R \sqrt{1 - \left(\frac{r}{R}\right)^2}$. Флюенс, или число электронов, падающих на кольцо радиусом r и толщиной dr , равен $F * 2\pi r dr$.

Предполагая, что электрон теряет энергию $E(E_0, l)$ при прохождении через слой толщиной l без рассеяния в среде, энергия E_{dep} выделяющаяся в полусфере, можно оценить следующим образом:

$$E_{dep} = \int_0^R FE \left(E_0, R\sqrt{1 - \left(\frac{r}{R}\right)^2} \right) 2\pi r dr. \quad (2.7)$$

Если предположить, что потеря энергии электронов прямо пропорциональна пути электрона, то потеря энергии ΔE при прохождении пути l может быть описана формулой:

$$\Delta E = \begin{cases} E_0, l \geq S_{max}, \\ E_0, l < S_{max}. \end{cases} \quad (2.8)$$

где S_{max} — максимальный пробег электронов в объекте. Поскольку, максимальный пробег электронов с энергией 1 МэВ составляет примерно 5 мм, что меньше радиуса R картофельных клубней равных порядка 2-4 мм. Формула (2.7) преобразуется к следующему виду с учетом (2.8):

$$E_{dep} = \int_0^{R\sqrt{1 - \left(\frac{S_{max}}{R}\right)^2}} FE_0 2\pi r dr + \int_{R\sqrt{1 - \left(\frac{S_{max}}{R}\right)^2}}^R FE_0 \frac{R\sqrt{1 - \left(\frac{r}{R}\right)^2}}{S_{max}} 2\pi r dr \quad (2.9)$$

Таким образом, энергия, поглощенная полусферой, равна

$$E_{dep} = FE_0 \frac{\pi}{3} (3R^2 - S_{max}^2), \quad (2.10)$$

а средняя доза, поглощенная клубнем при одностороннем облучении, составляет:

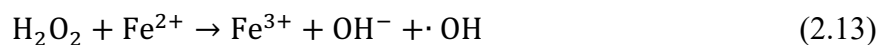
$$D = \frac{E_{dep}}{m} = \frac{FE_0 \frac{\pi}{3} (3R^2 - S_{max}^2)}{\frac{2}{3}\pi R^3 \rho} = \frac{FE_0 (3R^2 - S_{max}^2)}{2R\rho}, \quad (2.11)$$

где m — масса полусферы, а ρ — плотность биологического объекта.

Аналогичные аналитические расчеты поглощенной дозы проводились для всех биологических систем.

Ферросульфатная дозиметрия (дозиметр Фрикке)

Принцип работы дозиметра Фрикке основан на протекании реакции окисления продуктами радиолиза воды ионов Fe^{2+} до ионов Fe^{3+} , вызванных ионизирующим излучением [339,340]:



При этом поглощенная доза D прямо пропорциональна концентрации ионов $M(\text{Fe}^{3+})$ [341]:

$$D = k \frac{M(\text{Fe}^{3+})}{\rho G(\text{Fe}^{3+})}, \quad (2.15)$$

которую возможно определить по изменению оптической плотности раствора по формуле:

$$M(\text{Fe}^{3+}) = \frac{\Delta S}{l \varepsilon(\text{Fe}^{3+})}, \quad (2.16)$$

где $k = 9,65 \cdot 10^6$ — безразмерный коэффициент, ΔS — оптическая плотность раствора относительно необлученного дозиметра, $l = 1$ см — длина оптического пути, $\varepsilon(\text{Fe}^{3+}) = 2160$ л/моль·см — коэффициент экстинкции ионов Fe^{3+} , который характеризует ослабление интенсивности световых потоков, проходящих через раствор, $\rho = 1,024$ г/см³ — плотность дозиметрического раствора, $G(\text{Fe}^{3+})$ — радиационно-химический выход ионов Fe^{3+} в растворе FeSO_4 , составляющий 15,6 ион/100 эВ и 14,4 ион/100 эВ при воздействии ускоренных электронов с энергией до 10 МэВ и рентгеновского излучения соответственно, [342].

В зависимости от схемы эксперимента, для которого проводился дозиметрический контроль, раствор Фрикке помещался в объеме 0,5 мл в пробирки типа Эппендорф объема 2 мл, либо в объеме 1 мл в чашки Петри диаметра 37 мм. Для расчета мощности дозы фиксировалось время каждого сеанса облучения.

Измерение оптической плотности раствора проводилось на длине волны $\lambda = 304$ нм; контроль поглощенной дозы ферросульфатным методом осуществлялся для диапазона доз от 40 Гр до 400 Гр, в котором сохраняется линейный отклик химического дозиметра. Дополнительно проводились компьютерные моделирования с использованием инструментария Geant4, воспроизводящие геометрию экспериментов. В моделированиях фиксировались значения дозы, поглощенной ферросульфатным раствором и водными фантомами; в случае моделирования экспериментов на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-Т-001 также регистрировалась величина заряда, поглощенного пластиной. В таблице 2.2 приведена связь времени облучения с зарегистрированным зарядом и поглощенной ферросульфатным раствором дозой. Где $D_{\text{эф}}$ — экспериментальная доза во Фрикке, $D_{\text{Гф}}$ — доза, моделированная на GEANT4 во Фрикке, $D_{\text{Гв}}$ — доза, моделированная на GEANT4 в воде (эквивалент биологического объекта).

Таблица 2.2 — Данные параметров облучения дозиметрического раствора Фрикке на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-Т-001.

№	$t_{\text{обл.ч}}, \text{с}$	$Q, \text{нКл}$	$S, \text{отн.ед}$	$D_{\text{ф}}, \text{Гр}$	$D_{\text{Гф}}, \text{Гр}$	$D_{\text{Гв}}, \text{Гр}$
1	34 ± 1	2390 ± 70	$0,146 \pm 0,013$	$40,8 \pm 4,2$	46 ± 1	46 ± 1
2	59 ± 1	4790 ± 140	$0,283 \pm 0,025$	$79,2 \pm 6,9$	92 ± 2	93 ± 2

3	78 ± 1	7380 ± 220	$0,43 \pm 0,04$	$120 \pm 13,0$	142 ± 3	143 ± 3
4	104 ± 1	9834 ± 295	$0,569 \pm 0,061$	$159 \pm 16,0$	190 ± 4	191 ± 4
5	130 ± 1	12410 ± 370	$0,71 \pm 0,06$	$198 \pm 23,0$	239 ± 5	241 ± 5
6	201 ± 1	20020 ± 580	$1,164 \pm 0,09$	$325 \pm 40,0$	385 ± 8	389 ± 8

Дозы, посчитанные с помощью GEANT4 в ферросульфатном растворе и водном фантоме, показали практически идентичные зависимости от заряда на дюралюминиевой пластине (рис. 2.9а).

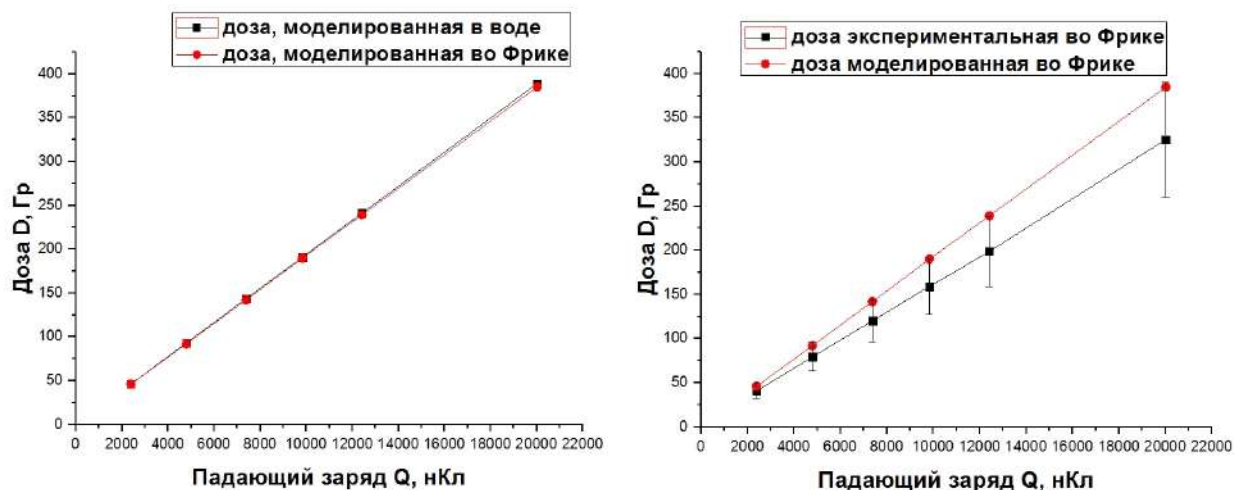


Рисунок 2.9 — (а) Зависимость дозы, поглощенной дозиметрическим раствором и водой, рассчитанной с помощью программного кода GEANT4, от заряда, падающего на пластину. (б) Зависимость дозы, измеренной и моделированной в дозиметрическом растворе Фрикке, от заряда, падающего на пластину

Экспериментально измеренные значения поглощенной дозы во Фрикке и результаты моделирования также показали совпадение кривых в пределах допустимых погрешностей (рис. 2.9б). Исходя из того, что схемы облучения биологических объектов и дозиметрических растворах совпадали, а плотность раствора Фрикке (1,024 г/мл) близка к плотности биологических объектов, можно считать, что дозы, поглощенные дозиметрическим раствором, совпадают с дозами, поглощенными опытными образцами.

Также были определены мощности дозы для используемых радиационных установок, представленных в таблице 2.3.

Таблица 2.3 — Мощность дозы, измеренная с помощью дозиметра Фрикке на различных радиационных установках

Источник	$E_{\max}$, эВ	I, мА	U, кВ	P_D , Гр/с
УЭЛР-1-25-Т-001	1 МэВ	50 нА	15	$1,2 \pm 0,1$
		500 нА		$10,1 \pm 0,9$
		1000 нА		$19,5 \pm 1,3$
ДРОН УМ-2 с БСВ 23	26 кэВ	30	26	$1,1 \pm 0,04$
1БПВ 23-100 с РАД-100	80 кэВ	2	80	$0,93 \pm 0,04$

		4	80	$1,86 \pm 0,06$
--	--	---	----	-----------------

Пленочная дозиметрия (радиоохромные пленки)

Для осуществления дополнительного дозиметрического контроля одновременно с исследуемыми образцами облучались радиоохромные дозиметрические пленки государственного стандартного образца СО ПД(Э)-1/10 и СО ПД(Ф)Э-5/50 [106,107]. Пленки, помещенные в индивидуальные упаковки по 3 штуки, длиной 10–12 мм и шириной 43–45 мм, помещались на дюралюминиевую пластину вместе с биологическими объектами при облучении на ускорителе УЭЛР-1-25-Т-001 и между модуляторами и внутри биологических объектов при облучении на ускорителе УЭЛР 10-15-С-60.

При воздействии ионизирующего излучения на плёнку происходит изменение цвета в следствии поглощения энергии в чувствительном слое, глубина которого зависит от величины поглощенной дозы. После облучения поглощенную дозу в пленке измеряли по изменению её оптической плотности с использованием спектрофотометра ПЭ-5400ВИ на длине волны 560 нм. Поглощенные дозы определялись по формуле:

$$D = m \times \left(\frac{A}{A_0}\right)^n, \quad (2.17)$$

где D — поглощенная доза; A , A_0 — оптическая плотность пленки, измеренная перед и после эксперимента соответственно; m , n — постоянные, указанные в технических паспортах пленок.

Поглощенная доза, рассчитанная при помощи моделирования на GEANT4, отличалась от измеренной экспериментально с использованием радиоохромных пленок не более чем на 15%. Различия в дозах могут быть связаны с погрешностью в измерении заряда при облучении, относительной погрешностью аттестации пленок, а также с приближениями при моделировании, такими как однородность облучаемого объекта и вылетающие под одним углом электроны.

2.5 Исследование эффективности подавления микробиологических показателей биологических объектов

Влияние облучения на выживаемость бактерий *E.coli*, *A.fumigatus* и микроорганизмов в биологических объектах

Для модельных исследований влияния ионизирующего излучения на микробиологические показатели чистых биологических культур Всероссийским НИИ лекарственных и ароматических растений были предоставлены коллекции бактерий *Escherichia coli* (*Escherichia coli* ATCC 25922), выращенные на агаризованной тиогликолевой

среде в течение суток при 37°C, и споры грибов *Aspergillus fumigatus*, выращенные в течение 3 суток при (25-27)°C на агаризованной среде Сабуро в стерильных условиях.

Отбор бактерий и грибов осуществляли следующим образом: с помощью жидкой тиогликолевой среды производился смыв бактерий и грибов с поверхности агара. Затем суспензии разбавляли до требуемой концентрации в соответствии со стандартом мутности МакФарланда [343]. Разведенные суспензии бактерий и грибов по 0,5 мл разливали в стерильные пробирки типа Эппендорф объемом 2 мл для последующего облучения ускоренными электронами в дозах от 100 до 6000 Гр и рентгеновского излучения в дозах 200-10000 Гр.

После проведения облучения образцы бактерий и грибов разводили с физиологическим раствором в 1:2, 1:10, 1:100, 1:1000 и 1:10000 для получения изолированных клеточных колоний (рис. 2.10). Далее по 0,1 мл суспензии наносили на твердую питательную среду (агаризованная тиогликолевая среда для бактерий, модифицированная среда, содержащая солевой фон среды Чапека-Докса с заменой сахарозы на 2% коллаген, и среда Сабуро для грибов). Состав тиогликолевой питательной среды (г/л): агар 20,0; панкреатический гидролизат казеина 15,0; дрожжевой экстракт 5,0; NaCl 2,5; D-глюкоза 5,0; натрия тиогликолят 0,5; натрий углекислый 0,8; цистеина гидрохлорид 0,75. Состав среды Сабуро: декстроза — 40,0; бактериологический агар — 10,0; смесь пептического дигеста ткани животных и панкреатического гидролизата казеина (1:1) — 10,0. Состав модифицированной среды Чапека-Докса: коллаген 30; агар микробиологический 14; калий азотнокислый 2,0; дигидрофосфат калия 1,0; натрия хлорид 0,5; магния сульфат 0,5; железа сульфат 0,01.



Рисунок 2.10 — Методика микробиологического анализа

После двухдневной инкубации клеточных колоний в питательной среде при оптимальной для роста температуре 37°C определяли количество жизнеспособных клеток в КОЕ/г в объеме суспензии. Подсчет бактерий производился на счетчике колоний микроорганизмов, с использованием стандартного метода, описанного в ОФС.1.2.4.0002.15 [344]. Концентрация жизнеспособных микроорганизмов в облученных и необлученных

образцах была выражена в количестве колониеобразующих единиц на грамм (КОЕ/г). Все измерения и посев проводились в стерильных условиях при температуре 23 °С.

Для исследования влияния излучения на рост и выживаемость суспензии бактерий *E.coli* в тиогликолевой питательной среде в течении 18 дней хранения, подсчет КОЕ/г проводился каждые три дня согласно методике описанной выше, хранение происходило при температуре 20С.

В исследовании по влиянию излучения на грибы *Aspergillus fumigatus*, высевание микроорганизмов производилось на разные питательные среды с целью сравнения выживаемости на разных питательных средах и с целью проведения гидролитического анализа грибов.

Влияние облучения на выживаемость чистых фитопатогенных грибов

Для оценки влияния ионизирующего излучения на фитопатогенные грибы, присущие сельскохозяйственной продукции, СФНЦА РАН были предоставлены коллекции чистых возбудителей:

1. склеротии фитопатогенного гриба *Rhizoctonia Solani*;
2. мицелии различных штаммов грибов родов *Fusarium* и *Alternaria*
3. фитопатогенные грибы *Rhizoctonia Solani* Kuhn, *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, *Septoria nodorum* (Berk.) Berk.

Склеротии *R.Solani* диаметром (3 ± 1) мм по две штуки помещались в стерильные микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф объёмом 2 мл для последующего облучения ускоренными электронами в дозах от 0,02 до 38 кГр. После чего облучённые и контрольные образцы высаживались на питательную среду КДА (картофельно-декстрозный агар) в чашки Петри для дальнейшего мониторинга диаметрального роста грибов спустя 24, 48, 72 и 96 часов после высадки. КДА был получен путем кипячения 200 г нарезанного ломтиками очищенного картофеля в 1 л дистиллированной воды в течение 30 минут. Далее бульон процеживали через марлю и добавляли дистиллированную воду до общего объема суспензии — 1 л. Затем добавляли 20 г декстрозы и 20 г порошка агара, после чего среду стерилизовали в автоклаве в течение 15 минут.

Образцы мицелиев, выращенные на агаре Чапека (Состав среды ЧА (г/л): 0,5 хлорида калия, 30,0 сахарозы, 0,5 глицерофосфата магния, 0,01 сульфата железа, 0,35 сульфата калия, 2,0 нитрата натрия и 12 бактериального агара) и КДА и помещенные в закрытые чашки Петри диаметром 5 см облучались с двух сторон на ускорителе электронов в дозах от 0,1 до 10 кГр. После облучения из имеющегося слоя мицелия в чашках вырезались диски диаметром 5 мм и

высеивались на питательную среду ЧА в чашки Петри диаметром 90 мм. Диаметр колоний грибов измерялся на 3, 5 и 7 сутки после посева.

2.6 Определение концентрации летучих органических соединений с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии

Анализ летучих органических соединений в модельных образцах и биологических объектах проводился по следующим схемам. Стандартные образцы ЛОС разводились в физиологическом растворе 0,9% NaCl до начальной концентрации 1 мг/мл и 50 мг/мл, после чего по 0,5 мл помещались в микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф объема 2 мл. Образцы биообъектов органического происхождения доводились до однородного состояния фарша после чего также по 0,5 г помещались в пробирки.

После проведения облучения, стандартные образцы и образцы животного происхождения подвергали ГХ/МС анализу согласно схеме, приведенной на рисунке 2.11. Предварительная экстракция не проводилась, чтобы гарантировать химический выход соединений только от биохимического состава образцов продукции без влияния химического состава раствора. Образцы из двух пробирок, облученных в одинаковой дозе, помещали в стеклянные виалы емкостью 20 мл (Shimadzu, Киото, Япония) и герметично закрывали крышкой. Виалы, которые не анализировались сразу после облучения, хранились на протяжении необходимого времени в холодильной камере при температуре 4 °С. Затем образцы термостатировали 10 минут при 95 °С, далее 1 мл паровой фазы образца вводили в хроматограф.



Рисунок 2.11 — Методика ГХ-МС анализа.

Для определения компонентов различных летучих соединений использовали газовый хромато-масс-спектрометр Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, снабженный автоматическим устройством ввода паровой фазы HT200H Headspace Autosampler.

Разделение компонентов летучих соединений проводили с помощью капиллярной колонки VF-624 (60 м × 0,32 мм × 1,8 мкм). Температурный режим разделения компонентов

подбирался автоматически, чтобы обеспечить эффективное разделение летучих соединений с близкой молекулярной массой. Начальная температура составляла — 35–40 °С, затем происходило изотермическое увеличение температуры в течение 30 минут со скоростью подъема 6 °С/мин до 220 °С, а затем проводили обнаружение летучих соединений, выделяемых образцами выдерживаем при температуре 220 °С в течение 5 мин. В качестве газа-носителя использовали гелий со скоростью потока через капиллярную колонку 1,5 мл/мин. Масс-спектрометрический детектор имел режим электронной ионизации 70 эВ с температурой квадруполя 200 °С и температурой ионного источника 230 °С. Регистрацию хроматограмм проводили в режиме сканирования всех ионов для значений m/z от 33 до 350 при скорости сканирования 3,3 скан/сек.

Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения GCMSsolution, идентификацию компонентов осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 2008 (NIST 08) с использованием программного обеспечения для ГХ/МС версии 2.70 (Shimazu, Япония).

Концентрации летучих соединений (мг/кг) в биологических объектах рассчитывали с учетом калибровочных кривых, полученных с помощью хроматографического анализа стандартных проб летучих соединений, площади пиков на хроматограмме и исходной массы пробы.

Для повышения точности данных о содержании летучих соединений в образцах использовался метод стандартных добавок. Градуировочную зависимость для определения концентрации ЛОС строили следующим образом: в виалу объемом 20 мл с контрольной необлученной пробой биологического объекта массой 1,00 г добавляли аликвоты растворов объемом от 1 до 100 мкл. Виалы плотно закрывали и хранили в течение одного часа при комнатной температуре перед проведением ГХ/МС анализа в соответствии с условиями, описанными выше. Метрологические характеристики оценивали по ISO 17025 [345]. В таблице 2.4 приведены номера CAS и чистота аликвот растворов стандартных проб ЛОС.

Таблица 2.4 — Номера CAS и чистота аликвот растворов стандартных проб ЛОС.

Соединение	CAS Number	Чистота пробы	Производитель
Acetaldehyde	75-07-0	99%	PanReac, Barcelona, Испания
Ethanol	64-17-5	Analytical standard	Sigma Aldrich, St. Louis, MO, США
Acetone	67-64-1	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Dimethyl sulfide	75-18-3	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Propanal, 2-methyl-	78-84-2	>98.0% (GC)	TCI, Tokyo, Япония
2,3-butanedione	431-03-8	99.0%	Acros Organics, Бельгия

2-butanone	78-93-3	For spectrophotometry	TCI, Tokyo, Япония
Butanal,3-methyl-	290-86-3	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Butanal,2-methyl-	96-17-3	≥95%, FG	Sigma Aldrich, США
2-pentanone	107-87-9	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Pentanal	110-62-3	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
1-pentanol	71-41-0	99%, pure	Acros Organics, Бельгия
Hexanal	66-25-1	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
1-hexanol	111-27-3	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Heptanal	111-71-7	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Octanal	124-13-0	For synthesis (99%)	Sigma Aldrich, США
Hexanol,2-ethyl	104-76-7	≥99.6%	Sigma Aldrich, США
Hexane	110-54-3	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
Heptane	142-82-5	suitable for HPLC, ≥99%	Sigma Aldrich, США
Octane	111-65-9	Analytical standard	Sigma Aldrich, США
2-butanone, 3-hydroxy-	513-86-0	For synthesis (99%)	Sigma Aldrich, США
Butanol,3-methyl-	123-51-3	ACS, 98.5%	Acros Organics, Бельгия
Butanol,2-methyl-	3391-86-4	98%	Acros Organics, Бельгия
Propanol,2-methyl-	78-83-1	99+%, For spectrophotometry	Acros Organics, Бельгия
1-octen-3-ol	3391-86-4	98%	Acros Organics, Бельгия
Nonanal	124-19-6	For synthesis (99%)	Sigma Aldrich, США

Стандартные пробы ЛОС и их концентрации подбирались таким образом, чтобы охватить весь диапазон идентифицируемых соединений в исследуемых биологических образцах органического происхождения. Чтобы повысить точность определения ЛОС, в качестве эталона использовались три различные концентрации стандартных образцов ЛОС, а измерения проводились три раза для всех концентраций для повышения точности расчетов. В результате точность определения ЛОС для подавляющего большинства соединений составила более 90 %, за исключением ацетальдегида, диметилсульфида, ацетона и пропаналя,2-метил-, имеющих низкую температуру кипения, точность которых составляла от 77 % до 85% из-за потери ЛОС при разделении.

В качестве примера, на рисунке 2.12 приведены хроматограммы необлученного контрольного образца говядины и образца с добавлением стандартных образцов летучих органических соединений.

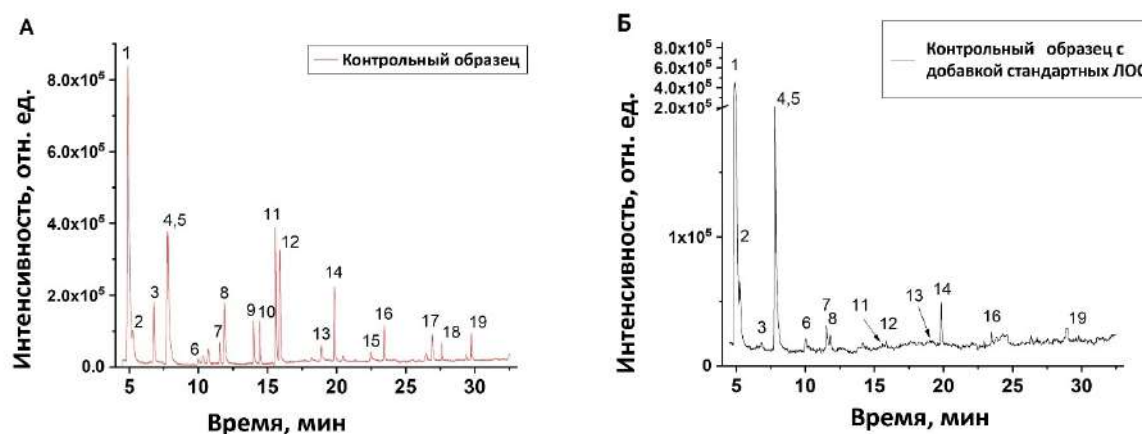


Рисунок 2.12 — Хроматограммы необлученного контрольного образца (А) и образца с добавкой стандартных образцов ЛОС (Б). Концентрация ацетальдегида — 20 мг/кг, концентрация остальных стандартных образцов — 1 мг/кг. В пробах говядины идентифицированы соединения: 1 — ацетальдегид, 2 — метантиол, 3 — этанол, 4 — ацетон, 5 — диметилсульфид, 6 — 2-метилпропаналь, 7 — 2,3-бутандион, 8 — 2-бутанон, 9 — 3-метилбутаналь, 10 — 2-метилбутаналь, 11 — 2-пентанон, 12 — пентаналь, 13 — 1-пентанол, 14 — гексаналь, 15 — 1-гексанол, 16 — гептаналь, 17 — октаналь, 18 — 1-гексанол, 2-этил, 19 — нонаналь.

2.7 Спектрофотометрический метод определения концентраций производных форм миоглобина для оценки окислительных процессов в биологических тканях

Для изучения влияния ионизирующего излучения на окислительные процессы в биологических тканях образцы говядины массой ($3,5 \pm 0,5$) г, шириной 20 мм, длиной 20 мм и толщиной 6 мм, помещали в чашки Петри (диаметр 35 мм, высота 14 мм) и облучали с двух сторон в дозах от 250 Гр до 10 кГр на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-Т-001.

Сразу после облучения проводилась подготовка образцов, согласно методике представленной на рисунке 2.13. В качестве фосфатно-буферного физиологического раствора (PBS) использовали 0,01 М NaCl с концентрацией 0,137 моль/л объемом 5 мл. Надосадочную жидкость сливали в микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф и центрифугировали на Universal 320 (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Германия). Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре Unico 2800 (United Products & Instruments, USA). Диапазон дли волн изменяли от 190 нм до 1100 нм с автоматическим шагом 2 нм. Остальные исследуемые образцы говядины хранили в Чашках Петри при температуре 4°C для проведения ежедневного измерения спектров поглощения производных миоглобина в течение 4х суток.



Рисунок 2.13 — Методика спектрофотометрического анализа.

Полученные данные оптических плотностей растворов, измеренных на соответствующих длинах волны $A_l(\lambda_l)_{\text{эксп}}$, где l — индекс длины волны, λ_l — набор измеренных длин волн, аппроксимировались функцией $A_l(\lambda_l)_{\text{теор}}$ вида [346,347]:

$$A_l(\lambda_l)_{\text{теор}} = \varepsilon_{Mb,l} C_{Mb} L + \varepsilon_{MbO_2,l} C_{MbO_2} L + \varepsilon_{MetMb,l} C_{MetMb} L + \frac{E}{\lambda^4} + K, \quad (2.18)$$

где $\varepsilon_{Mb,l}$, $\varepsilon_{MbO_2,l}$, $\varepsilon_{MetMb,l}$ и C_{Mb} , C_{MbO_2} , C_{MetMb} — молярные коэффициенты поглощения и концентрации дезоксимиоглобина, оксимиоглобина и метмиоглобина соответственно, L — толщина слоя раствора, E , K — коэффициенты рассеяния.

Спектр поглощения оксимиоглобина $\varepsilon_{MbO_2,l}(\lambda_l)$ в растворе говядины был получен, исходя из предположения, что в контрольных растворах, приготовленных из свежей говядины, присутствовал только оксимиоглобин. Спектр поглощения метмиоглобина $\varepsilon_{MetMb,l}(\lambda_l)$ был измерен в растворе, приготовленном из свежей говядины, в который добавлялся нитрат натрия для окисления оксимиоглобина до метмиоглобина. Значения молярных коэффициентов поглощения дезоксимиоглобина $\varepsilon_{Mb,l}$ от длины волны λ_l соответствовали спектру поглощения дезоксимиоглобина человека и были взяты из литературных данных [348]. С использованием алгоритма Левенберга–Марквардта рассчитывались концентрации трех производных миоглобина, а также коэффициенты рассеяния E и K .

2.8 Высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией для количественное оценки повреждений нативной структуры белка с использованием ферментативного гидролиза трипсином

Для изучения влияния излучения на белковые молекулы, присутствующие в биологических объектах, в качестве модельного образца был выбран белок бычьего сывороточного альбумина (БСА). БСА входит в состав питательных сред для выращивания клеточных культур [349], составляет 60 % всех белков в плазме крови [350] и присутствует в пищевых продуктах, содержащих коровье молоко или мясо. Данный белок является хорошо изученным [351], его аминокислотная последовательность представлена на рисунке 2.14.

1 MKWVTFISLL LLFSSAYSRG VFRDTHKSE IAHKFKDLGE EHFKGLVLIA FSQYLQCCPF
 61 DEHVKLVEL TEFKTCVAD ESHAGCEKSL HTLFGDELCK VASLRETYGD MADCCEKQEP
 121 ERNECFLSHK DDSPDLPLK PDPNTLCDEF KADEKKFWGK YLYEIARRHP YFYAPPELLY
 181 ANKYNGVFQE CCQAEDKGAC LLPKIETMRE KVLASSARQR LRCASIQKFG ERALKAWSVA
 241 RLSQKFPKAE FVEVTKLVTD LTKVHKECCH GDLLECADDR ADLAKYICDN QDTISSKLKE
 301 CCDKPLLEKS HCIAEVEKDA IPENLPPLTA DFAEDKDVCK NYQEAKDAFL GSFLYEYSRR
 361 HPEYAVSVLL RLAKEYEATL EECCAADDPH ACYSTVFDKL KHLVDEPQNL IKQNCQDFEK
 421 LGEYGFQNAL IVRYTRKVPQ VSTPTLVEVS RSLGKVGTRC CTKPESERMP CTEDYLSLIL
 481 NRLCVLHEKT PVSEKVTGCC TESLVNRRPC FSALTPDETY VPKAFDEKLF TFHADICTLP
 541 DTEKQIKKQT ALVELLKHKP KATEEQKTV MENFVAFVDK CCAADDKEAC FAVEGPKLVV
 601 STQTALA

I домен – с 1 по 230 аминокислоту в последовательности,
 II домен – с 231 по 326 аминокислоту в последовательности,
 III домен – с 327 по 607 аминокислоту в последовательности.

- Уникальные пептиды БСА, выбранные для идентификации и количественной оценки: FKDLGEEHFK (T35-44), AEFVEVTK (T249-256) и KQTALVELLK (T548-557).

Рисунок 2.14 — Аминокислотная последовательность молекулы бычьего сывороточного альбумина (БСА)

БСА объемом 0,5 мл помещался в стерильные пластиковые микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф объема 2 мл, которые облучались на ускорителе электронов УЭЛР-1-25-Т-001 и рентгеновском аппарате РАП 100-10 с рентгеновской трубкой 1БПВ23-100 в дозах 300-20000 Гр при мощностях дозы 4,0-20,0 Гр/с и 0,93-1,86 Гр/с соответственно.

Для проведения анализа структурной целостности нативной формы белка и количественной оценки его содержания использовали реактивы, перечисленные в таблице 2.5.

Таблица 2.5 — Номера CAS и чистота аликуот растворов реактивов.

Реактивы	CAS Number	Чистота пробы	Производитель
Муравьиная кислота	64-18-6	95%	Sigma Aldrich, США
Ацетонитрил	75-05-8	99%	CARLO ERBA Reagent, Франция
Хлорид натрия	7647-14-5	99%	Sigma Aldrich, США
Бикарбонат аммония	1066-33-7	99%	Sigma Aldrich, США
Стандартный образец БСА фракция V	9048-46-8	≥95%	Bioclot GmbH, Германия

Сразу после облучения проводилась подготовка образцов, согласно методике представленной на рисунке 2.15.

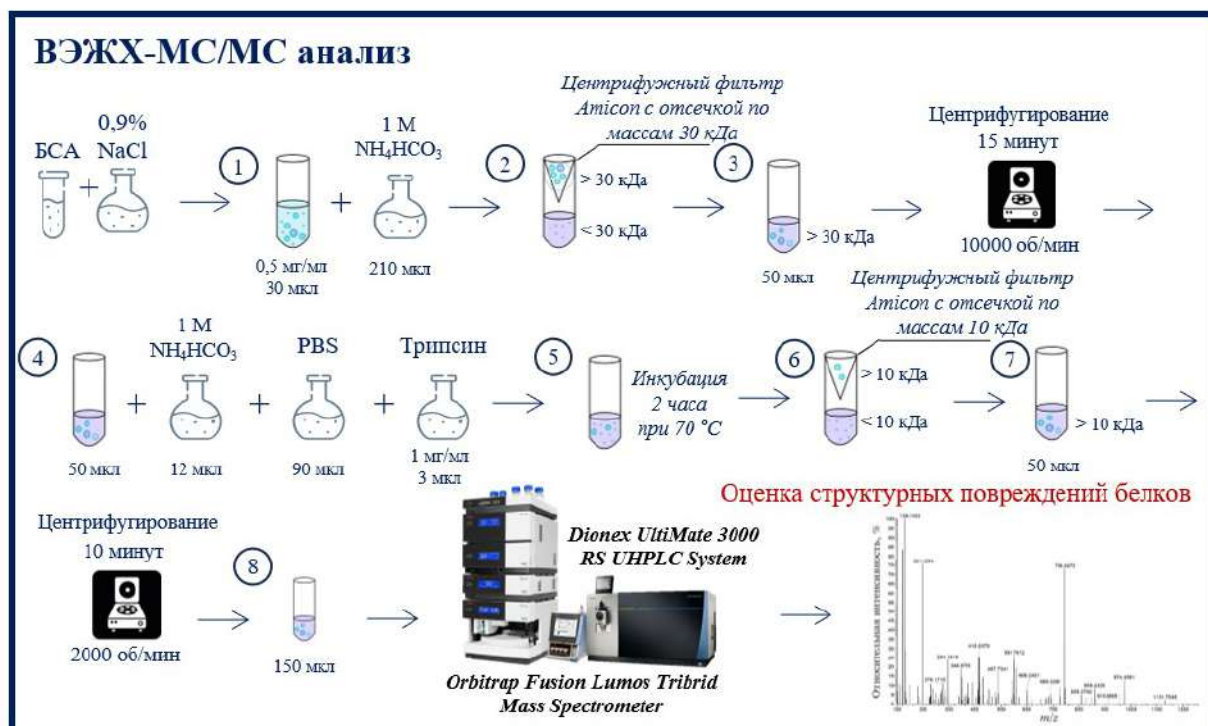


Рисунок 2.15 — Методика ВЭЖХ-МС/МС анализа.

На первом этапе из микроцентрифужных пробирок типа Эппендорф отбирали 30 мкл раствора БСА и добавляли к нему 210 мкл 1М NH_4HCO_3 . На втором этапе проводилась отсечка по массам 30 кДа с использованием центрифужного фильтра (0,5 мл, Amicon, Ирландия). На третьем этапе проводилась центрифугирование на Universal 320 (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Германия) отобранных 50 мкл раствора, состоящего из пептидов БСА с массой более 30 кДа. На четвертом этапе к раствору добавляли 12 мкл 1М NH_4HCO_3 , 90 мкл буферного раствора (PBS) из набора для трипсинолиза и 3 мкл трипсина SMART Digest Trypsin Kits (Thermo Fisher Scientific, США) в концентрации 1 мг/мл. Смесь перемешивали на вортексе, после чего на пятом этапе проводилась инкубация в термостате при 70 °C в течение 2 часов. На шестом этапе снова проводилась отсечка по массам 10 кДа с использованием центрифужного фильтра (0,5 мл, Amicon, Ирландия). После чего на седьмом этапе полученный раствор, состоящий из пептидов БСА с массой более 10 кДа, центрифугировали. На заключительном восьмом этапе полученную пробу в объеме X мкл помещали в микрофлакон для последующего ВЭЖХ-МС/МС анализа.

На аналитической станции, включающая жидкостной хроматограф Dionex Ultimate 3000 RSLC (Dionex, Германия) с системой автоматического ввода пробы, проводилась идентификация уникальных пептидов. Для анализа использовался масс-спектрометр Thermo Scientific Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher Scientific, США) высокого разрешения с источником ионов и ионизацией электрораспылением. Выделение уникальных пептидов

БСА производилось с использованием колонки Zorbax 300 SB — C18 (Agilent, США) с диаметром зерна сорбента 3,5 мкм, длиной 100 мм и диаметром 2,1 мм.

В ходе исследования были применены программные пакеты Xcalibur (Thermo Fisher Scientific, США) для обработки экспериментальных данных. Для выполнения ферментативного гидролиза использовались системы для центрифугирования MPW-352R (MPW Med. Instruments, Польша) и термостатирования MAXQ 4450 (Thermo Fisher Scientific, США). ВЭЖХ-МС/МС анализ включал использование источника ионов с электрораспылением для регистрации положительных ионных реакций. Разрешение масс-анализатора составляло не менее 30000 отн.ед., с погрешностью определения величины m/z не превышающей 3 млн-1 отн.ед. Настройки включали температуру переходного капилляра 300 °С, напряжение на распыляющем капилляре 3500 В, и давление газа для распыления подвижной фазы в источнике ионов 420 кПа.

В ходе исследования образцы были разделены путем применения градиентного элюирования. Температура термостата колонки составила 40 °С, а расход подвижной фазы был на уровне 0,30 мл/мин. Подвижная фаза А содержала 0,1% HCOOH в воде, в то время как подвижная фаза Б представляла собой ацетонитрил. Программа градиентного элюирования была следующей: с 0 по 3 минуту — 95% А; с 3 по 35 минуту — от 5% до 35% Б; с 35 по 40 минуту — от 40% до 80% Б; с 40 по 44 минуту — 80% Б; с 44 по 50 минуту — 95% А. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл.

2.9 Различение облученных и необлученных образцов биологической ткани с использованием флуорометрического метода «отпечатков пальцев»

Облучение картофеля сорта Лина проводилось на ускорителе УЭЛР-1-25-Т-001 в дозах 0,1, 1 и 10 кГр (двустороннее облучение клубней картофеля) и рентгеновском аппарате ДРОН УМ-2 (образцы нарезались на куски размерами 15 см х 5 см х 5 см и облучали в микроцентрифужных пробирках Эппендорф). Картофель сорта Агата, нарезанный на куски размерами 15 см х 5 см х 5 см и помещенный в микроцентрифужные пробирки, облучался только на рентгеновском аппарате ДРОН УМ-2 в дозах 0,1 и 1 кГр. Облучение образцов говядины и картофеля сорта Лина на рентгеновском аппарате 1БПВ23-100 в дозах 0,1 и 1 кГр проводился следующим образом. Нарезанные на пластины образцы весом 2,5 г в случае говядины и 2 г — в случае картофеля помещались в чашки петри диаметром 4 см и выкладывались на расстоянии 11 см от выхода пучка для облучения в дозах 100 и 1000 Гр. Измеренная с помощью раствора Фрикке мощность дозы составила $4 \pm 0,4$ Гр/с.

Исходя из дозового распределения, посчитанного на GEANT4, для целых клубней картофеля, обработка низкоэнергетичными электронами имела поверхностный характер.

Следовательно, для последующего физико-химического анализа картофеля очищался от кожуры и в качестве образцов брался только верхний миллиметровый слой мякоти клубней. В силу того, что облучаемые рентгеном образцы картофеля и мяса имели малые размеры и использовались в дальнейшем химическом анализе полностью, существующие неравномерности распределения дозы по их объёму на результаты эксперимента не влияли.

Анализ облучённых и контрольных образцов картофеля и говяжьего мяса производился на химическом факультете посредством флуориметрического метода «отпечатков пальцев». Методика анализа приведена на рисунке 2.16. Суть метода заключалась в выявлении различий в химическом составе образцов путем анализа поглощения видимого света и интенсивности флуоресценции смеси их растворов со специально приобретёнными (Cy7 (номер CAS 2183440–61-9), Cy5.5 (номер CAS 1449612–07-0) и гидразид 5-карбокситетраметилродамина (TAMRA) [352] или изготовленными карбоцианиновыми красителями и соответствующими реагентами [353-357].

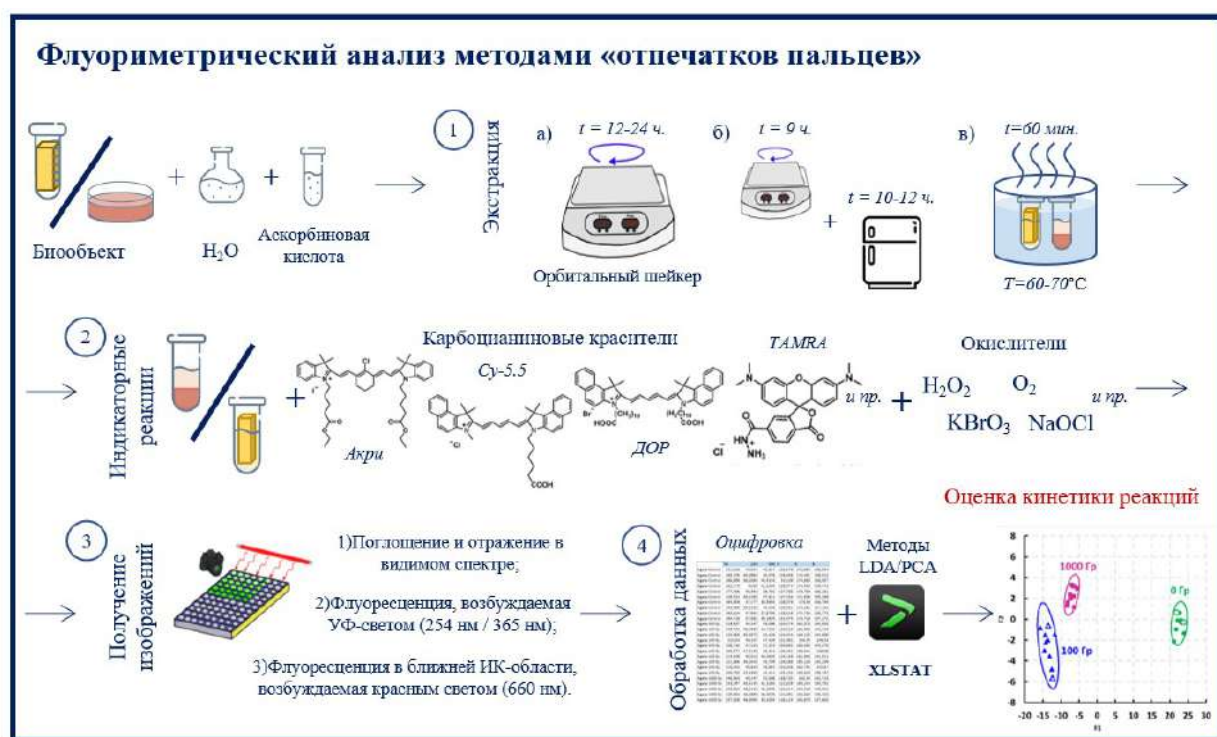


Рисунок 2.16 — Методика флуориметрического метода «отпечатков пальцев».

На первом и втором этапах проводилось приготовление растворов путём экстракции с добавлением во флаконы с образцами деионизированной воды и аскорбиновой кислоты, действующей как антиоксидант с целью предотвращения потемнения растворов при хранении. Индикаторные реакции образец-краситель окислительно-восстановительного и агрегационного типов проводились в 96-луночных полистироловых планшетах.

На третьем этапе для каждого планшета с реагентами с использованием визуализаторов получали четыре типа изображений: фотографии в видимом свете для контроля поглощения и отражения видимого света; видимые фотографии флуоресценции, возбуждаемые на длинах волн 254 и 365 нм; фотографии флуоресценции в ближней ИК-области при возбуждении красным светом на длине волны 660 нм. Реакции окислительно-восстановительного типа проходили с изменением показателей во времени, поэтому их съёмка проводилась многократно.

Посредством цифровой обработки изображений на четвертом этапе были получены числовые значения интенсивности окраски/флуоресценции лунок. Далее данные обрабатывались с использованием хемометрического метода линейно-дискриминантного анализа (ЛДА) надстройки XLSTAT для Microsoft Excel (Люмиверо, Денвер, Колорадо, США) — алгоритма классификации, ищущего линейную комбинацию признаков, которая описывала или разделяла бы две и более группы данных. Весь объём данных из цифровой обработки был разделён на два набора — обучающий и проверяющий точность работы модели. Соответствие между проверочными точками и дозовыми группами в методе определялось с использованием принципа расстояния Махаланобиса. Точность дискриминации по ЛДА оценивалась как процент правильно соотнесённых с их дозами проверочных образцов. Результатом являлись графики в координатах высчитанных факторов F1 и F2 (или F1 и F3). Эллипсы на графиках служили для наглядности различения групп.

2.10 Исследование влияния характеристик радиационной обработки на показатели роста и фитосанитарное состояние сельскохозяйственных культур, на сроки хранения клубней картофеля

Для изучения влияния ионизирующего излучения на стимулирование показателей роста сельскохозяйственной продукции и снижение на них фитосанитарной нагрузки, были выбраны клубни картофеля и семена различных сортов с естественным заражением фитопатогенным грибами, предоставленные СФНЦА РАН. Облучение проводилось на двух установках — ускорителе электронов УЭЛР-1-25-Т-001 и на рентгеновском аппарате РАП-100 с рентгеновской трубкой 1БПВ23. При облучении рентгеновским излучением образцы выкладывались на платформу рентгеновского аппарата на расстоянии 11 см от выхода пучка.

Лабораторные и полевые исследования, в которых участвовали образцы, проводились в СФНЦА РАН. При этом контрольные образцы хранились и транспортировались в тех же условиях, что и подвергшиеся облучению.

Влияние предпосадочного электронного излучения на ростовые показатели и фитопатогенное состояние картофеля в полевых условиях

Объектами 2-годичного исследования послужили клубни семенного картофеля сорта Лина диаметром (4 ± 1) см с естественным заражением грибом *Rhizoctonia solani*. Глубина залегания склеротий составила около 2 мм. В первый год исследования клубни облучались в дозах от 0,02 до 3 кГр, а во второй, с учётом полученных результатов, в дозах от 0,02 до 0,2 кГр. Чтобы добиться равномерного распределения дозы по объёму клубней проводилось двустороннее облучение — по половине необходимого времени на каждую из сторон.

Последующие полевые исследования проводились на опытном поле СФНЦА РАН «Элитное» в почвенно-климатических условиях лесостепной зоны Западной Сибири. Фиксировались сроки наступления различных стадий роста культуры, таких как всходы растений, их бутонизация и цветение, а также количество полученного урожая в размерности тонн клубней на гектар поля. Полученный урожай проходил фракционный и фитопатогенный анализ. При фракционном анализе клубни разделялись на три фракции: малую — весом до 40 граммов, среднюю — весом от 40 до 80 граммов и крупную — весом более 80 граммов. Фитопатогенный анализ включал в себя изучение урожая на предмет наличия различных форм ризоктониоза — болезни, вызванной грибом *Rhizoctonia solani* (рис. 2.17). Склероциальная форма представляла собой поражение поверхности клубней склеротиями гриба, а несклероциальная была представлена сетчатым некрозом клубней.

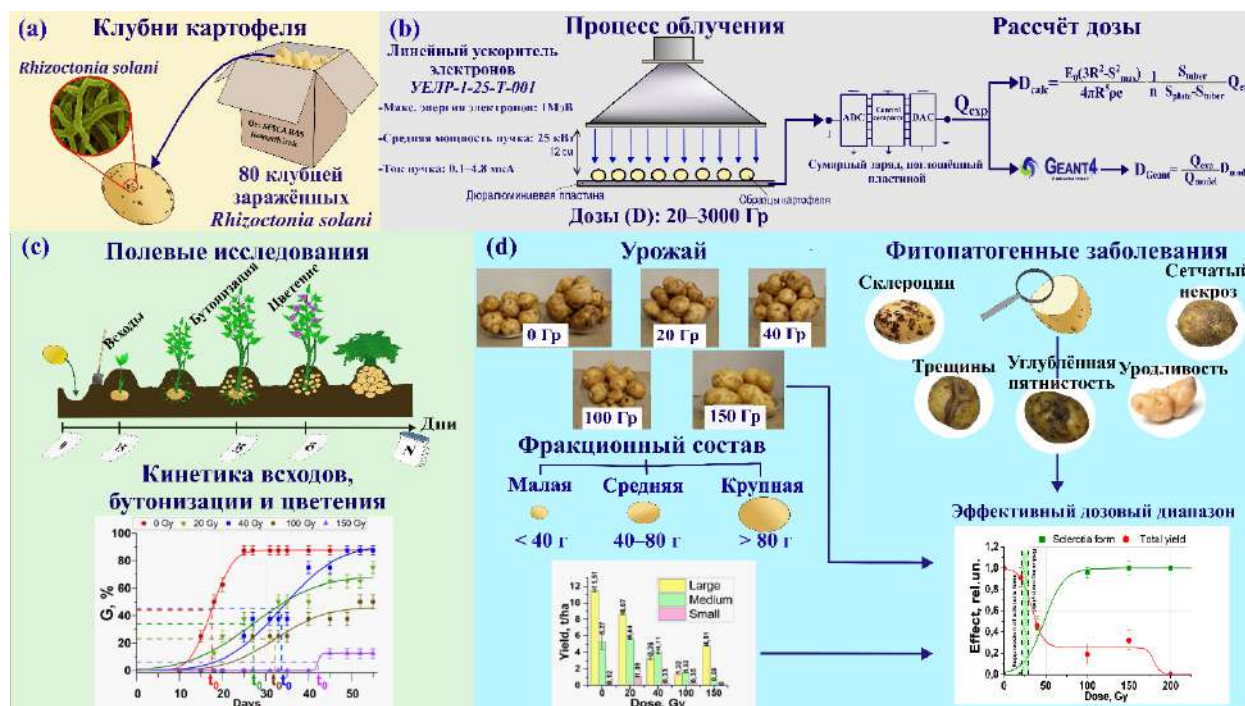


Рисунок 2.17 — Методика полевых исследований обработанных клубней картофеля.

Влияние ионизирующего излучения на ростовые показатели и фитопатогенное состояние семян зерновых и масличных культур

В исследовании влияния ионизирующего излучения на ростовые показатели зерновых и масличных культур использовались предоставленные СФНЦА РАН семена пшеницы (сорт Новосибирская 29), рапса (гибрид Билдер), льна масличного (сорт Северный) и сои (сорт СибНИИК 315) с естественным заражением фитопатогенными грибами. Обработка в дозах от 4 до 150 Гр проводилась как на ускорителе электронов, так и на рентгеновском аппарате.

Перед обработкой ионизирующим излучением семена в количестве 30 штук упаковывались в герметичные пакеты размерами 6 см х 4 см. Размер пакетов позволял семенам быть распределёнными так, чтобы при облучении располагаться без наложения друг на друга. При облучении рентгеном в дозах 4-150 Гр мощность дозы составляла 0,1 Гр/с.

После проведения облучения семена культур проращивали, высевая в чашки Петри на питательную среду ЧА (агар Чапека) и помещая в специализированный шкаф, в котором поддерживалась постоянная температура. Проводились оценка ростовых показателей и фитопатогенный анализ образцов. Оценка ростовых показателей состояла в определении процента проросших семян на 3-е и 7-е сутки после их посева. В ходе фитопатогенного анализа замерялись количество и размеры колоний фитопатогенных грибов, выросших на питательной среде вместе с семенами, которые были ими поражены.

Глава 3. Физические основы методов повышения однородности радиационной обработки биологических объектов

3.1 Эффективность радиационной обработки биологических объектов

Радиационная обработка биологических объектов предполагает снижение количества микроорганизмов до необходимого уровня за счет высоких значений энергии, поглощаемой микроорганизмами. При проникновении электронов в биологические объекты они теряют энергию при прямом взаимодействии с атомными электронами клеточных структур бактерий, что приводит к разрывам ДНК и разрушению клеточной мембраны [358-363]. Активные формы кислорода, возникающие при радиоллизе воды в биологических объектах, разрушают химические связи в молекулах клеток, что приводит к инаktivации микроорганизмов. Причем чем выше доза, поглощенная объектом, тем большее количество микроорганизмов подавляется при облучении. Однако увеличение дозы облучения ограничено необратимыми физико-химическими изменениями, происходящими в биологическом объекте. Учитывая, что каждый объект имеет свой химический состав и физические свойства, необходимо планировать радиационную обработку путем подбора оптимального диапазона доз, воздействие в котором не приводит к необратимым изменениям в объекте. Правильно подобранный диапазон доз определяет результирующую эффективность радиационной обработки.

Оптимальность радиационной обработки заключается в максимальном повреждении целевых мишеней (например, микроорганизмов) до заданного уровня (например, до 90%) при условии минимального повреждения окружающих нецелевых мишеней (например, белков, липидов). В диссертации выделены факторы, вносящие вклад в результирующую эффективность повреждения целевых мишеней (ε), например, микроорганизмов. Эффективность ε определяется как $\varepsilon = \frac{N_{\text{повр}}}{N_0}$, где N_0 – начальное количество цм в биообъекте, $N_{\text{повр}}$ – количество целевых мишеней, поврежденных в результате радиационной обработки (рис. 3.1). В работе показано, что ε определяется следующими разнородными процессами.

1) На величину ε влияет равномерность распределения поглощенной дозы $K'_1 = \frac{D_{\min}}{D_{\max}}$ ($D_{\min}$, $D_{\max}$ – минимальное, максимальное значения поглощенной дозы по объему биообъекта), а также значение дозы $D_{\text{крит}}$, необходимой для повреждения биомишеней до заданного уровня. Доля поврежденных мишеней в биообъекте, $K_1(D)$, определяется отношением объема объекта, в котором целевые мишени получают дозу $D \geq D_{\text{крит}}$, $V_{\text{крит}}$, к общему объему объекта $V_{\text{объекта}}$: $K_1(D) = V_{\text{крит}}/V_{\text{объекта}}$ (рис. 3.1а). Если $K'_1 = 1$, и при этом во всем объеме биообъекта все целевые

мишени получают дозу $D \geq D_{\text{крит}}$, или доза облучения столь велика, что поражает все мишени во всем объеме объекта, то $K_1(D) \rightarrow 1$.

2) Величина ε зависит от количества актов ионизации, производимых излучением в целевых мишенях и приводящих к их повреждению. Если для повреждения мишеней, однородных по радиочувствительности, достаточно одного акта ионизации $n = 1$, то доля поврежденных однородных мишеней описывается выражением $K_2(D) = 1 - e^{-\alpha D}$, где параметр α (Гр⁻¹) определяется размером целевой мишени. Если для повреждения однородных мишеней необходимо $n > 1$ актов ионизации, то $K_2(D)$ описывается сигмоидальной зависимостью [162] (рис. 3.1б). Если в объеме биообъекта выполняется условие $K_1 = f_1(D) \rightarrow 1$, и все мишени однородны по радиочувствительности, то $K_2 = f_2(D) \rightarrow 1$.

3) Величина ε определяется неоднородностью радиочувствительности биомишеней, зависящей от их природы. Доля мишеней, способных повредиться при воздействии в дозе D с учетом их индивидуальной радиочувствительности, $K_3(D)$, описывается сигмоидальной функцией вида $K_3(D) = \frac{1}{1 + e^{-\frac{(D-\bar{D})}{\delta}}}$ (рис. 3.1в), где $\bar{D}$ – значение дозы, приводящее к повреждению 50% мишеней, δ (Гр) – ширина области перехода функции. Если доза облучения по всему объёму объекта превышает дозу, необходимую для повреждения самых радиоустойчивых мишеней, то $K_3 = f_3(D) \rightarrow 1$.

В диссертации предложен комплексный подход к оценке эффективности повреждения биомишеней при радиационной обработке:

$$\varepsilon(D) = F[K_1 = f_1(D), K_2 = f_2(D), K_3 = f_3(D)]. \quad (3.1)$$

Величины $K_1(D)$, $K_2(D)$, $K_3(D)$ определяются разными механизмами повреждения биомишеней и, соответственно, являются разными функциями от дозы (рис. 3.1). Если $K_1 = f_1(D) \rightarrow 1$, $K_2 = f_2(D) \rightarrow 1$ и $K_3 = f_3(D) \rightarrow 1$ при $D \rightarrow \infty$, то эффективность повреждения целевых мишеней $\varepsilon(D) \rightarrow 1$.

При радиационной обработке наряду с повреждением целевых биомишеней (бактерии, микроорганизмы, грибы и др.) могут повреждаться окружающие молекулярные структуры (белки, липиды и др.) – нецелевые мишени (нцм), эффективность повреждения которых $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$ также определяется факторами (1-3) (рис. 3.1). При этом параметры функций $K_1(D)$, $K_2(D)$, $K_3(D)$ определяются соответствующими характеристиками нецелевых мишеней. Оптимальность радиационной обработки заключается в максимальном повреждении целевых мишеней до заданного уровня (например, до 90%) при условии минимального повреждения окружающих нецелевых мишеней. Зависимости $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ и $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$ позволяют выделить оптимальный диапазон доз радиационной обработки (рис. 3.1г). При воздействии в

оптимальном диапазоне доз повреждение целевых мишеней происходит на требуемом уровне при условии, что эффективность повреждения нецелевых мишеней не превышает заданного уровня. В работе найдены биомишени и установлены параметры радиационного воздействия, для которых установлены следующие варианты зависимости $\varepsilon(D)$:

- 1) если $K_3 = f_3(D) \rightarrow 1$, то $\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot K_2(D)$;
- 2) если $K_2 = f_2(D) \rightarrow 1$, то $\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot K_3(D)$.

Коэффициенты $K_1(D)$, $K_2(D)$, $K_3(D)$ являются функциями от дозы, в основы которых лежат соответствующие механизмы повреждения целевых мишеней (рис.3.1).

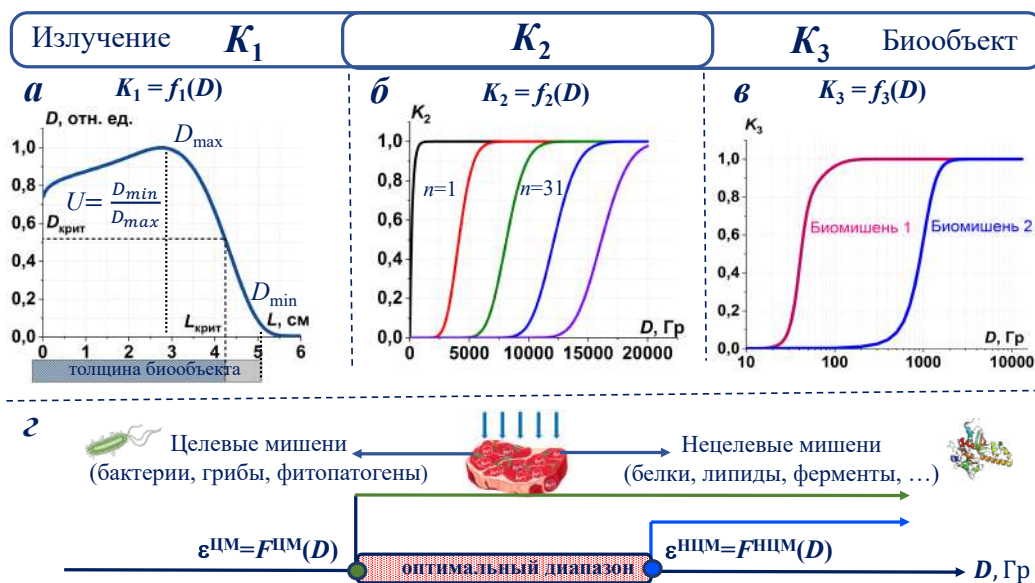


Рисунок 3.1 — Комплексный подход к оценке результирующей эффективности радиационной обработки биологических объектов: *a* – равномерность распределения поглощенной дозы в биообъекте; *b* – доля однородных поврежденных мишеней; *v* – неоднородность радиобиологической чувствительности мишеней; *z* – оптимальный диапазон доз.

Предложенный комплексный подход к оценке эффективности повреждения мишеней позволяет учитывать любые возможные сочетания $K_1(D)$, $K_2(D)$, $K_3(D)$ при планировании радиационной обработки биологических объектов.

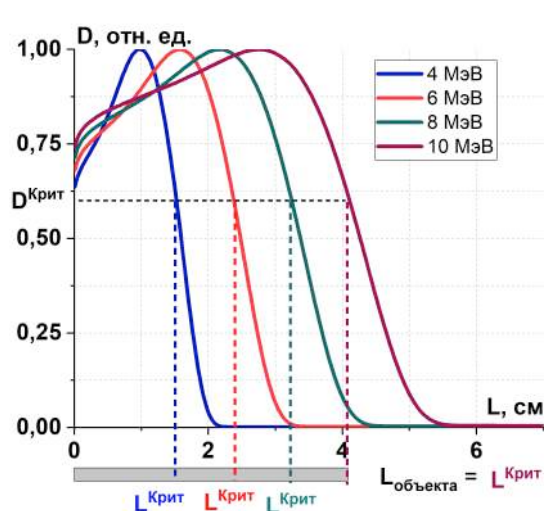
3.2 Характеристики источников излучения и объектов, влияющие на однородность распределения поглощенной дозы

При обработке ионизирующим излучением неравномерность облучения неизбежна из-за характера взаимодействия излучения с веществом, потерь энергии излучения на поглощение и рассеяние в объекте. Для различных категорий биологических объектов, таких как объекты трансплантологии, лекарственные препараты, пищевые продукты, требуется высокая равномерность облучения, что является сложной технологической задачей, при этом на распределение поглощенной дозы в биологических объектах влияют такие факторы, как неравномерность заполнения упаковки, геометрия, структура, химический состав и плотность облучаемых объектов. Далее будут рассмотрено влияние спектра излучения и физических характеристик объекта на характер распределения поглощенной дозы при облучении ускоренными электронами, тормозным излучением и гамма-излучением, генерируемым радиоактивными источниками ^{60}Co , ^{137}Cs .

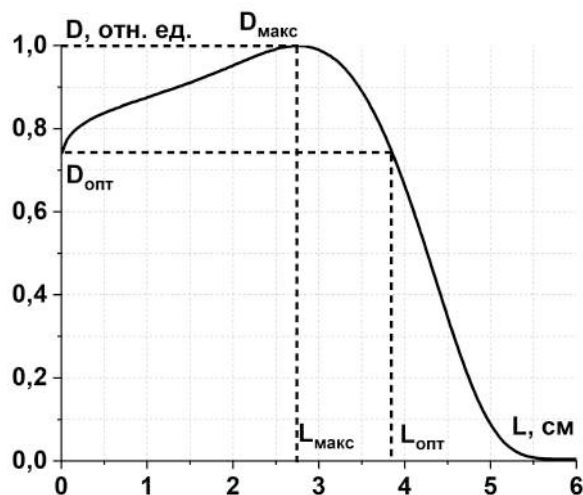
3.2.1 Ускоренные электроны

Энергия электронов

Одним из ключевых факторов, приводящих к неравномерности облучения электронным пучком, является энергия электронов, влияющая на характер распределения дозы по глубине. На рис. 3.2 показана зависимость относительной поглощенной дозы от глубины проникновения в водном параллелепипеде, облученном электронами с энергией E_e , равной 4 МэВ, 6 МэВ, 8 МэВ и 10 МэВ, рассчитанная с помощью инструментария GEANT4. Начальное количество электронов $N_0 = 10^6$.



(а)



(б)

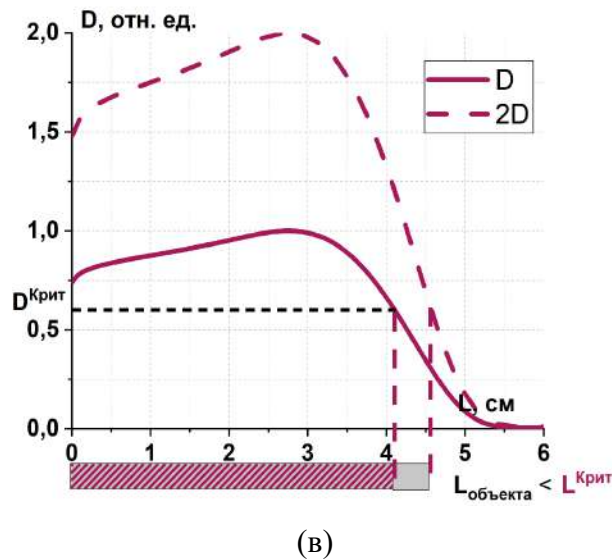


Рисунок 3.2 — а — Распределение относительной поглощенной дозы, нормированной на максимальное значение дозы по глубине объекта из воды, при облучении электронами с энергией $E_e = 4$ МэВ (синяя кривая), $E_e = 6$ (красная кривая), $E_e = 8$ МэВ (зеленая кривая) и $E_e = 10$ МэВ (бордовая кривая); б — Параметры распределения поглощенной дозы при облучении электронами; в — распределение относительной поглощенной дозы при облучении электронами с энергией $E_e = 10$ МэВ в дозе D (сплошная кривая) и $2D$ (штрихованная кривая). Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Из рис. 3.2 видно, что чем выше энергия электронов, тем глубже электроны проникают в объект, и тем выше значение поверхностной дозы по отношению к максимальному значению дозы в объекте. Пусть для целевых мишеней значение критической дозы, необходимой для их повреждения, равно $D_{\text{цм}}^{\text{крит}} = 0,6$ (рис. 3.2). Тогда с увеличением энергии частиц увеличивается однородность распределения поглощенной дозы K'_1 и глубина $L_{\text{крит}}$, на которой все целевые биологические мишени получают дозу $D \geq D_{\text{цм}}^{\text{крит}}$ (рис.3.2). Так, для заданной толщины объекта $L_{\text{объекта}}$ при облучении электронами с энергией 10 МэВ все целевые мишени получают дозу $D \geq D_{\text{цм}}^{\text{крит}}$. Для энергий электронов 4, 6 и 8 МэВ только доля целевых мишеней получают дозу, необходимую для их повреждения, и чем выше энергия электронов, тем больше доля поврежденных целевых мишеней.

На рисунке 3.2б проиллюстрированы параметры распределения поглощенной дозы: L_{max} — расстояние от поверхности объекта до глубины, на которой достигается максимальное значение поглощенной дозы; L_{opt} — оптимальное расстояние от поверхности объекта, на котором значение дозы равно поверхностной дозе. Как видно из рис. 3.2б, для воды при облучении электронами с энергией 10 МэВ L_{max} составляет 28,0 мм, L_{opt} — 38,75 мм, коэффициент однородности облучения $K'_1 = 0,72$. При увеличении энергии электронов с 4 МэВ до 10 МэВ L_{max} возрастает с 10,25 мм до 27,5 мм, а L_{opt} — с 15 мм до 38,75 мм (рис. 3.2а).

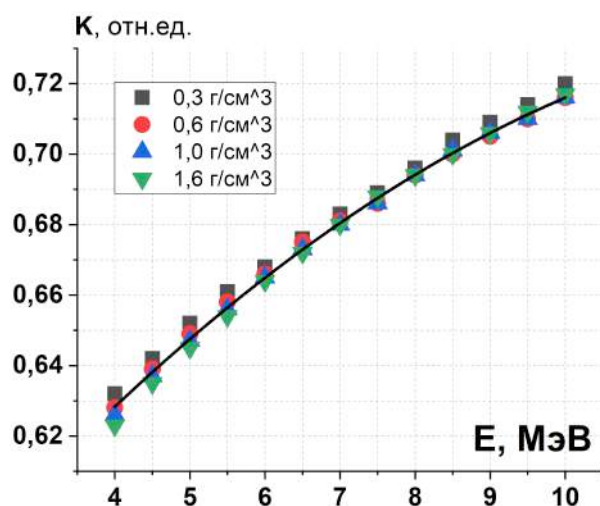
Таким образом, варьирование энергии пучка позволяет изменять равномерность облучения объекта и параметры распределения поглощенной дозы. Чем выше энергия, тем выше однородность распределения дозы по глубине.

Расчеты показывают, что если толщина биообъекта $L_{\text{объекта}} > L^{\text{крит}}$, то путем увеличения поглощенной дозы при неизменном энергетическом спектре и однородности облучения K'_1 возможно увеличить $L^{\text{крит}}$ до полной толщины $L_{\text{объекта}}$ (рис. 3.2в), при этом окружающие молекулярные структуры (липиды, белки и т.д.) получают дозу $D \geq D^{\text{крит}}_{\text{мол.стр.}}$, что влияет на показатели качества радиационной обработки биообъекта.

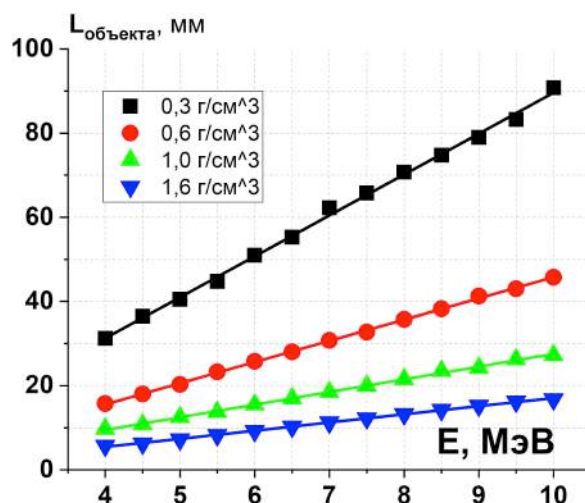
Плотность объекта

Учитывая, что биологические объекты различаются по плотности и распределению плотности по объему, важно исследовать влияние плотности объекта на параметры распределения поглощенной дозы K'_1 . Поскольку биологические объекты облучаются, в основном, электронами с энергией 4-10 МэВ, можно оценить параметры распределения дозы по глубине для облучаемых в этом диапазоне доз объектов, имеющих плотность от 0,3 г/см³ до 1,6 г/см³, что соответствует плотности биологических объектов, обрабатываемых на промышленных радиационных установках. На рис. 3.3а показано, что равномерность дозы K'_1 изменяется от 0,62 до 0,72 и практически не зависит от плотности облучаемого объекта для воды с плотностью от 0,3 г/см³ до 1,6 г/см³.

Примем толщину объекта $L_{\text{объекта}} = L_{\text{opt}}$. На рис. 3.3б показана зависимость толщины объекта $L_{\text{объекта}}$ от энергии электронов при облучении воды с плотностью 0,3 г/см³, 0,6 г/см³, 1,0 г/см³ и 1,6 г/см³ электронами с энергией от 4 до 10 МэВ. Как видно из рисунка, чем выше энергия электронов, тем больше $L_{\text{объекта}}$, а это значит, что при более высоких энергиях можно достичь большей равномерности дозы для объектов большей толщины. В то же время, чем меньше плотность облучаемого объекта, тем больше скорость роста $L_{\text{объекта}}$ с увеличением энергии электронов.



(a)



(б)

Рисунок 3.3 — *а* — Зависимость равномерности дозы K'_1 в воде с плотностью от 0,3 г/см³ до 1,6 г/см³ от энергии электронов и функция, аппроксимирующая расчетную зависимость; *б* — Зависимость $L_{\text{объекта}}$ от энергии электронов для воды с различной плотностью и функции, аппроксимирующие расчетные зависимости. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

На основании результатов численных экспериментов и расчетов с использованием программ Origin и MathLab были получены аналитические зависимости, позволяющие спланировать и найти оптимальные параметры радиационной обработки для биообъекта с заданными физическими параметрами. Для заданной плотности $\rho_{\text{объекта}} \left(\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right)$ и толщины $L_{\text{объекта}}$ (см) рассчитаны энергия электрона E_e (МэВ), при которой значения поглощенной дозы на поверхности объекта и на глубине $L = L_{\text{объекта}}$ равны, т.е. $L_{\text{объекта}} = L_{\text{opt}}$, а также коэффициент K'_1 . Для диапазона плотностей $\rho_{\text{объекта}}$ от 0,6 г/см³ до 1,3 г/см³ эти зависимости имеют вид:

$$E_e [\text{МэВ}] = \frac{L_{\text{объекта}} [\text{см}] \rho_{\text{объекта}}^{0.96} \left[\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right]}{4} + \frac{159}{400} \sqrt{\rho_{\text{объекта}} \left[\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right]}, \quad (3.2)$$

$$K'_1 = 0.01 [\text{МэВ}^{-1}] \times E_e [\text{МэВ}] + 0.57. \quad (3.3)$$

Эти зависимости получены с максимальной погрешностью интерполяции не более 2%. Таким образом, зная толщину объекта и его плотность, зависимости (3.2, 3.3) позволяют рассчитать оптимальную энергию электронов, при облучении в которой $L_{\text{объекта}} = L_{\text{opt}}$, а также рассчитать K'_1 , т.е. провести предварительное планирование радиационной обработки биообъекта [364].

Материал объекта

Материал облучаемого объекта влияет на распределение поглощенной дозы по объекту. Это объясняется различием в количестве электронов на электронных оболочках атомов, что определяет характер взаимодействия ускоренных электронов с веществом. На рис. 3.4 приведены зависимости распределения относительной поглощенной дозы от глубины проникновения электронов с энергией 10 МэВ в алюминии, графите, воде и полипропилене, имеющих различный эффективный заряд Z_{eff} .

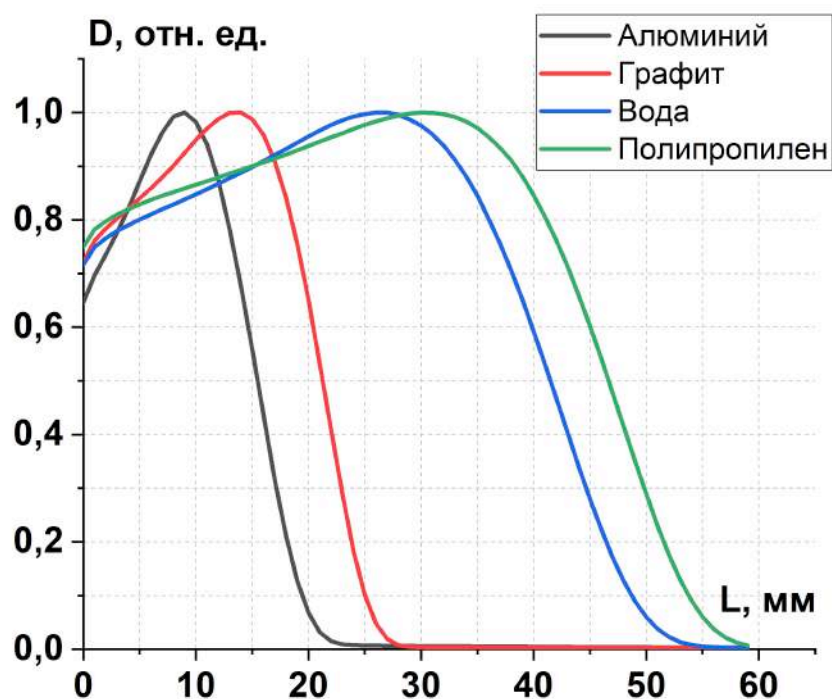


Рисунок 3.4 — Глубинное распределение относительной поглощенной дозы, нормированной на максимальное значение дозы, в алюминии (Al, $Z_{\text{eff}} = 13$), графите (C, $Z_{\text{eff}} = 6$), воде (H_2O , $Z_{\text{eff}} = 7,4$) и полипропилене (C_2H_4 , $Z_{\text{eff}} = 5,4$), облученных электронами с энергией 10 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

В таблице 3.1 представлены данные о оптимальной толщине объекта $L_{\text{объекта}}$, которая совпадает с расстоянием, на котором значение поверхностной дозы совпадает со значение дозы на этом расстоянии, для объекта из алюминия, графита, воды и полипропилена, облучаемого электронами с энергией 10 МэВ, а также значение коэффициента K_1' , которая определяется для оптимальной толщины $L_{\text{объекта}}$. Значения Z_{eff} для сложных веществ рассчитаны по фотоэффекту по формуле [46]:

$$Z_{\text{eff}} = \sqrt[3]{\sum_i \alpha_i \cdot Z_i^3}, \quad (3.4)$$

где α_i — доля каждого химического элемента от полного числа электронов сложного вещества в единице массы.

Таблица 3.1 — Параметры распределения поглощенной дозы в различных материалах.

Материал	$\rho_{\text{объекта}} \text{ (г/см}^3\text{)}$	Z_{eff}	$\rho_{\text{объекта}} \cdot Z_{\text{eff}} \text{ (г/см}^3\text{)}$	K'_1	$L_{\text{объекта}} \text{ (мм)}$
Алюминий	2,7	13	35,1	0,65	14
Графит	1,7	6	10,2	0,72	19
Вода	1,0	7,4	7,4	0,72	37
Полипропилен	0,9	5,4	4,9	0,75	42

Электроны с энергией до 10 МэВ, которая является максимально разрешенной при радиационной обработке биологических объектов, теряют свою энергию за счет ионизационных потерь. Как видно из рис. 3.4 и согласно формуле Бете-Блоха (1.2), чем выше эффективный заряд Z_{eff} и плотность, тем больше энергии теряет электрон на единицу длины пробега. Кроме того, с увеличением эффективного заряда Z_{eff} уменьшается максимальная глубина проникновения электронов в объект, а также уменьшается поверхностная поглощенная доза по сравнению с максимальным значением дозы в объекте. Поэтому материал с большей плотностью электронов имеет тенденцию к меньшей равномерности облучения по сравнению с материалом с меньшей плотностью электронов, что видно из табл. 3.1. Поскольку биологические объекты моделируются в виде водных фантомов с плотностью в диапазоне от 0,6 г/см³ до 1,3 г/см³, и поскольку в этом диапазоне плотностей однородность облучения K'_1 объектов из воды не зависит от плотности, то однородность K'_1 определяется только величиной Z_{eff} (4) для различных биологических тканей. Для мягких биологических тканей, имеющих элементный состав, $(\text{C}_5\text{H}_{40}\text{O}_{18}\text{N})_x$, $Z_{\text{eff}} = 7,2$, что близко по значению к эффективному порядковому номеру воды $Z_{\text{eff}} = 7,4$, поэтому для биологических объектов влиянием химического состава на параметры распределения дозы в объекте можно пренебречь.

Геометрия объекта

Биологические объекты, подвергающиеся воздействию ускоренных электронов, такие как пищевые продукты и материалы, используемые в трансплантологии, могут иметь сложную геометрию, которая может кардинально отличаться от параллелепипеда. Параллелепипед считается идеальной формой для облучения, поскольку его простая геометрия позволяет электронам проникать в объект перпендикулярно его поверхности. Однако облучение электронными пучками объектов более сложной геометрии, таких как сфера, эллипсоид или цилиндр, не позволяет электронам перпендикулярно проникать в поверхностный слой, что делает распределение дозы по глубине неравномерным и менее предсказуемым. На рис. 3.5 представлено трехмерное цветное изображение распределения

поглощенной дозы по параллелепипеду с ребром 6 см, сфере $\varnothing$ 6 см и цилиндру $\varnothing$ 6 см из воды при одностороннем облучении их электронами с энергией 10 МэВ.

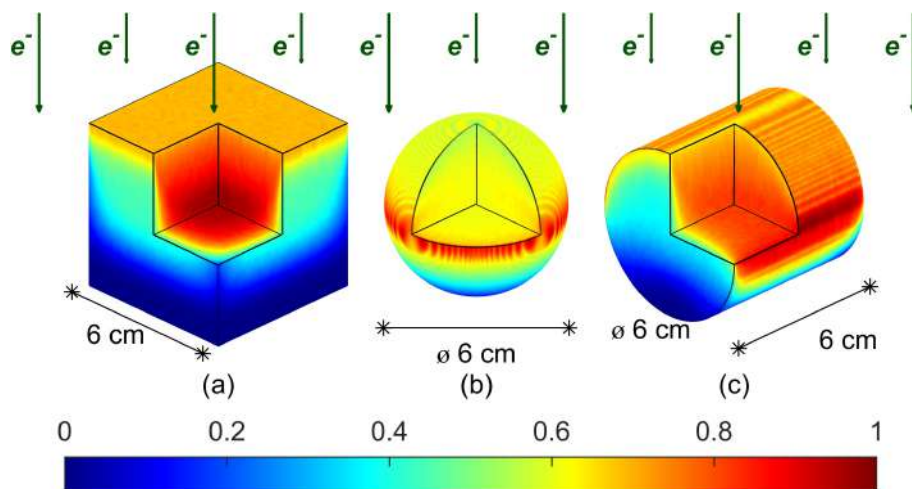


Рисунок 3.5 — Цветная 3D-карта распределения относительной поглощенной дозы, нормированной на максимальное значение дозы в по водных фантомах:

(а) параллелепипеде с ребром 6 см, (б) сфере $\varnothing$ 6 см и (с) цилиндре $\varnothing$ 6 см с высотой 6 см при одностороннем облучении электронами с энергией 10 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Как видно из рис. 3.5, расстояние, на котором поглощенная доза достигает максимума, меняется с изменением формы объекта. В случае параллелепипеда, когда электроны начинают проникать в объем, доза немного увеличивается, но когда глубина превышает 2 см, доза спадает до нуля на расстоянии 5 см от поверхности (рис. 3.5а). Интересно, что слои параллелепипеда, расположенные ближе к граням, недооблучены. При облучении сферы электронами с энергией 10 МэВ слои сферы вблизи экватора переоблучены по сравнению с слоями, расположенными ближе к оси сферы, проходящей через ее центр и направленной параллельно первоначальному движению электронов (рис. 3.5б). В цилиндре переоблучение наблюдается на боковых сторонах поверхности, а характер распределения дозы по глубине аналогичен распределению дозы в параллелепипеде (рис. 3.5в). При облучении с одной стороны все формы частично недооблучены, максимальная глубина проникновения электронов меньше линейных размеров объектов.

Можно сделать вывод, что не только энергия электронов, но и физические характеристики объекта — плотность, размер, форма — влияют на распределение поглощенной дозы по объекту. Поскольку биологические объекты имеют неоднородную плотность, сложную форму, необходим индивидуальный подход к планированию их радиационной обработки.

3.2.2 Пространственное распределение характеристик пучка ускоренных электронов в биологическом объекте

Поскольку доза, создаваемая моноэнергетическими электронами с линейными потерями энергии (ЛПЭ), определяется соотношением [46]:

$$D = F \cdot L_m, \quad (3.5)$$

где L_m — массовая линейная плотность ионизации, то на характер распределения дозы в биообъекте влияют как распределение флюенса электронов, так и распределение ЛПЭ по глубине объекта. На рисунке 3.6 представлено распределение поглощенной дозы в воде, создаваемое электронами с начальной энергией 10 МэВ. Как видно из рисунка 3.6, максимальное расстояние, которое электроны с максимально возможной энергией, применяемой для радиационной обработки, проходят в биологическом объекте, составляет около 5 см.

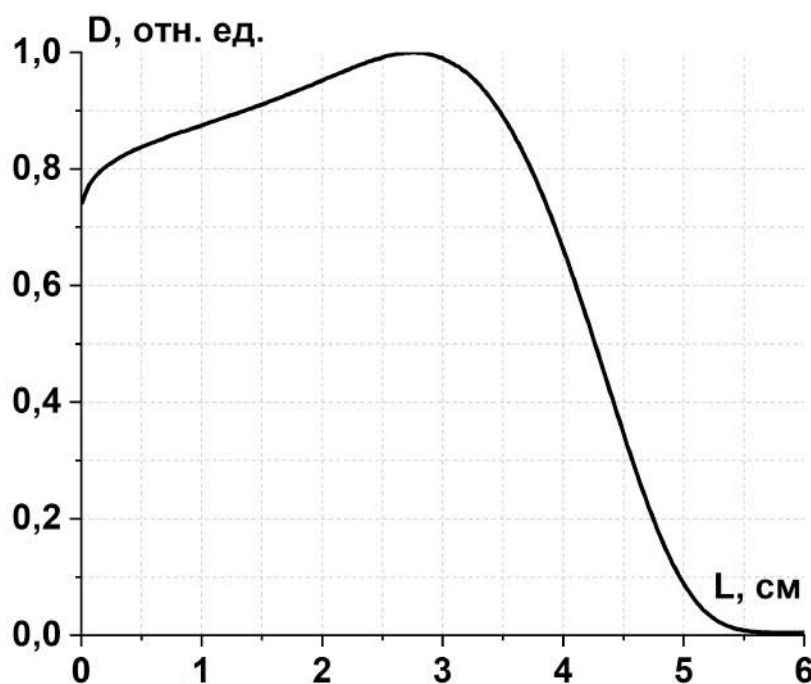


Рисунок 3.6 — Глубинное распределение относительной поглощенной дозы, нормированной на максимальное значение дозы в воде при облучении электронами с энергией 10 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

При прохождении ускоренных электронов с начальной энергией 10 МэВ в биологическом объекте в результате ударной ионизации, скользящих столкновений и радиационного торможения электронов образуются вторичные электроны и фотоны. На рисунке 3.7 представлены распределения количества первичных и вторичных электронов, а также фотонов, образующихся при взаимодействии первичных электронов с атомами и молекулами воды, в зависимости от расстояния, пройденного электронами в количестве

$N_0=120000$, вдоль направления, параллельного первоначальному движению электронов в воде. Как видно из рисунка, с увеличением расстояния количество первичных электронов сигмоидально падает, при этом первые 2,5 см количество первичных электронов практически не меняется. Суммарное количество вторичных электронов в десятки раз меньше, чем общее количество первичных электронов, пик вторичных электронов находится на глубине около 0,5 см, и на глубине 2,5 см количество вторичных электронов становится пренебрежимо малым по сравнению с количеством первичных электронов. Пик вторичных фотонов приходится на глубину около 4,3 см, и далее наблюдается экспоненциальный спад количества фотонов с глубиной, при этом их глубина проникновения примерно в 4 раза превышает данный показатель электронов в воде.

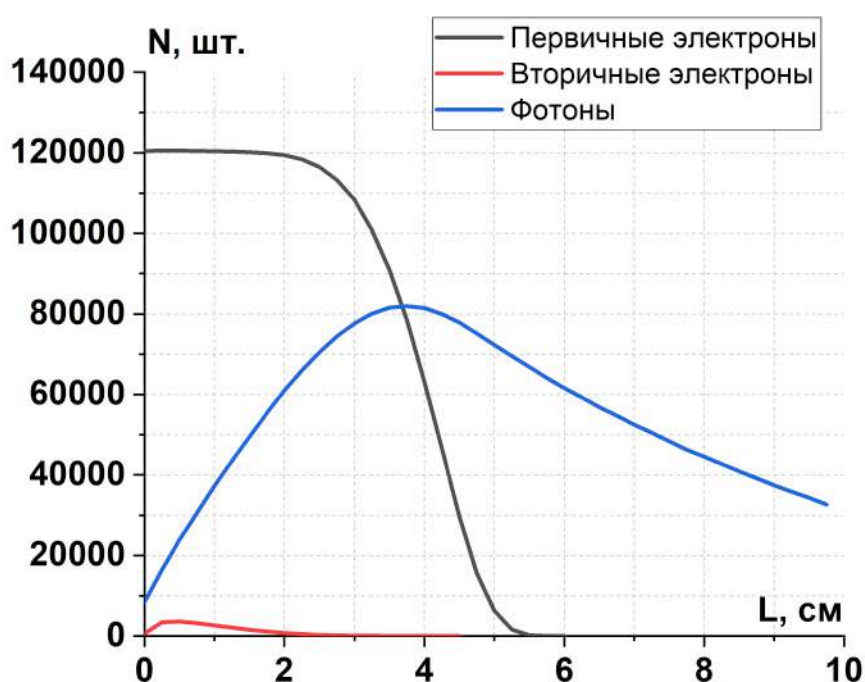


Рисунок 3.7 — Глубинное распределение количества первичных и вторичных электронов, а также фотонов, образованных в воде в результате прохождения электронов с начальной энергией 10 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

По мере прохождения первичных электронов в воде их начальный моноэнергетический спектр размывается в сторону меньших энергий. На рисунке 3.8 представлены спектры первичных электронов на различных глубинах проникновения электронов в воде. Как видно из рисунка, на каждом сантиметре пути эффективная энергия пучка ускоренных электронов уменьшается, в среднем, на 2 МэВ, при этом на глубине от 3 см до 4 см наблюдается максимальное количество электронов с энергией менее 1 МэВ.

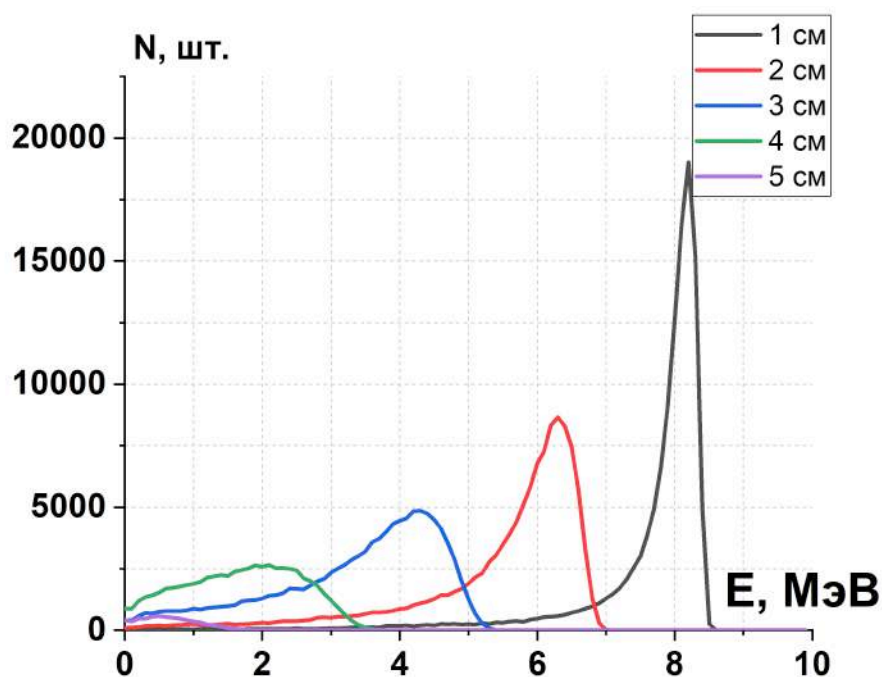


Рисунок 3.8 — Спектр первичных электронов на различных глубинах проникновения первичных электронов с начальной энергией 10 МэВ в воде. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

На рисунке 3.9 представлены графики рассчитанных по формуле Бете-Блоха (1.2) ионизационных потерь электронов в зависимости от их кинетической энергии в воде. Как видно из графика, начиная при уменьшении энергии электронов от 0,2 МэВ до 0 резко увеличиваются потери энергии электронов от долей МэВ/см до сотни МэВ/см. Поскольку для биологической мишени важным показателем эффективности воздействия излучения является значение ЛПЭ [365], которое составляет долю от общего значения ионизационных потерь, то на глубине, где максимально количество низкоэнергетичных электронов с высокими ионизационными потерями, возможна нелинейная зависимость радиобиологического эффекта от дозы облучения, определяемая значением ЛПЭ, размерами биологической мишени и критическим значением количества актов ионизации, необходимых для повреждения заданной биологической мишени, т.е. значением $D^{\text{крит}}$.

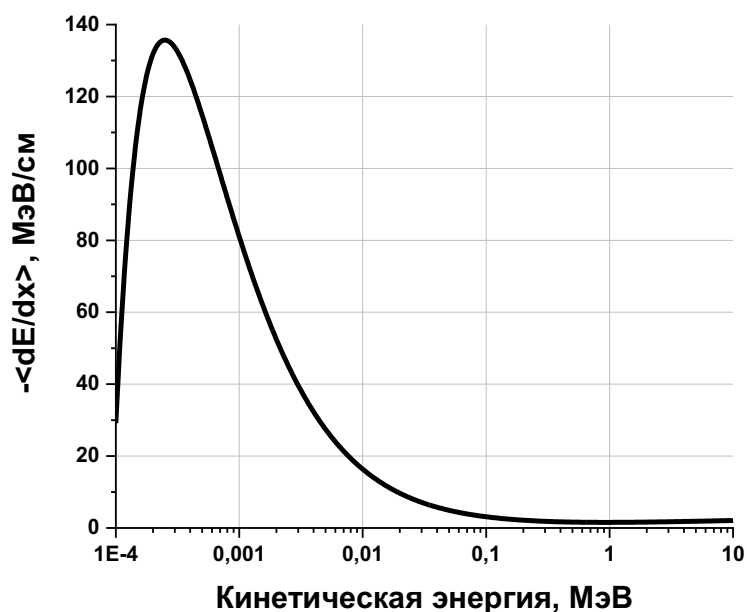


Рисунок 3.9 — Рассчитанные по формуле Бете-Блоха зависимости средних ионизационных потерь электронов от кинетической энергии в воде, алюминии, меди, железе и углероде.

На рисунке 3.10 представлены распределения первичных и вторичных электронов, а также фотонов с энергией менее 0,2 МэВ в зависимости от глубины проникновения ускоренных электронов в воде. Из рисунка видно, что на глубине 4 см наблюдается пик электронов с энергией менее 0,2 МэВ с высокими ионизационными потерями от 1 МэВ/см до 100 МэВ/см. Также на этой глубине наблюдается пик фотонов с энергией менее 0,2 МэВ, при взаимодействии которых с атомами и молекулами воды в результате фотоэффекта возможно образование низкоэнергетичных электронов с высокими значениями ЛПЭ.

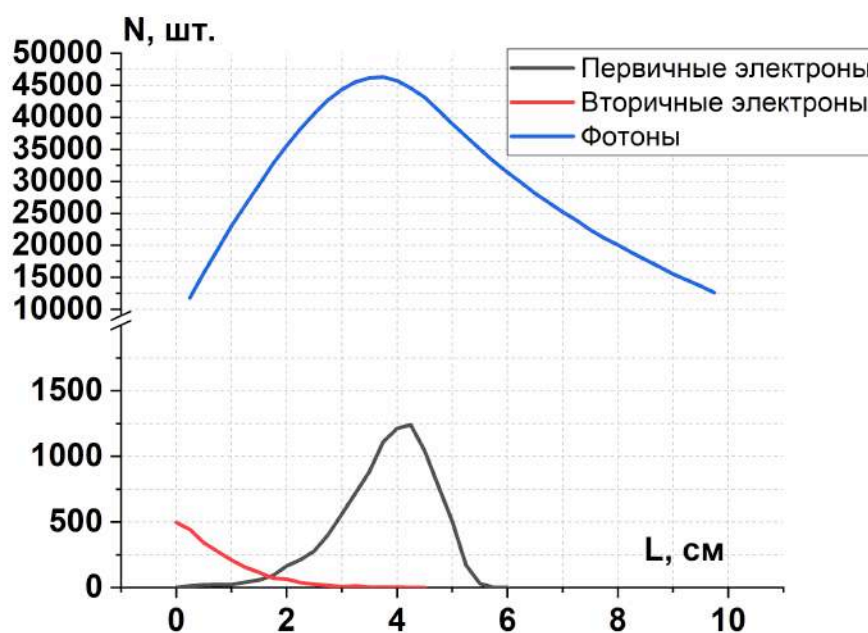


Рисунок 3.10 — Распределение количества частиц с энергией менее 0,2 МэВ: первичных и вторичных электронов, а также фотонов, образованных в результате прохождения электронов с начальной энергией 10 МэВ в воде. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Значение ЛПЭ является количественной мерой воздействия излучения на биологические объекты, поскольку для различных видов излучения радиационный эффект в расчете на единицу поглощенной дозы примерно одинаков, если одинакова ЛПЭ заряженных частиц, генерируемых в облучаемом объеме [366]. Поскольку знание линейной передачи энергии позволяет сравнить радиационные эффекты от различных типов излучения с различными характеристиками, то определение ЛПЭ становится важной задачей при облучении биологических объектов. В частности, знание ЛПЭ необходимо для определения относительной биологической эффективности и коэффициента качества ионизирующих излучений, а одновременное определение поглощенной дозы и ЛПЭ позволяет оценить эквивалентную дозу излучения. Однако задача определения ЛПЭ не является простой, даже в случае моноэнергетического излучения, так как возникающие в облучаемом объеме вторичные заряженные частицы имеют различные значения ЛПЭ. В связи с этим необходимо определять ЛПЭ-спектры ускоренных электронов, усредненные либо по суммарному треку электронов в некотором слое, либо по энергии, поглощенной слоем при прохождении через него электронов.

Предположим, что электроны при прохождении некоторого слоя биологического объекта движутся прямолинейно. Обозначим через $\sum_i l_i$ суммарную длину всех треков, укладываемых в заданном объеме, а через $l(L_\Delta)$ ту часть этой суммарной длины, с которой связано значение ЛПЭ от 0 до L_Δ . Тогда доля суммарной длины треков в заданном объеме, которая связана с ЛПЭ от 0 до L_Δ будет определяться соотношением:

$$T(L_\Delta) = \frac{l(L_\Delta)}{\sum_i l_i}. \quad (3.6)$$

Плотность функции распределения треков по длине $t(L_\Delta) = dT(L_\Delta)/dL_\Delta$ связана с $T(L_\Delta)$ соотношением $T(L_\Delta) = \int_0^{L_\Delta} t(L_\Delta) dL_\Delta$, причем из условия нормировки $\int_0^\infty t(L_\Delta) dL_\Delta = 1$. Зная функцию распределения, можно рассчитать среднее значение линейной передачи энергии $\overline{L_{\Delta T}}$, усредненное по длине треков, по формуле:

$$\overline{L_{\Delta T}} = \int_0^L t(L_\Delta) L_\Delta dL_\Delta. \quad (3.7)$$

Произведение $t(L_\Delta) \sum_i l_i dL_\Delta$ выражает суммарную длину треков в рассматриваемом объеме, с которыми связано значение ЛПЭ в диапазоне $(L_\Delta, L_\Delta + dL_\Delta)$. Поскольку ЛПЭ выражает поглощенную энергию на единицу длины трека, то часть поглощенной энергии

в данном объеме, обусловленная электронами с ЛПЭ от L_Δ до $L_\Delta + dL_\Delta$, описывается соотношением:

$$\Delta E(L_\Delta) dL_\Delta = \sum_i l_i t(L_\Delta) L_\Delta dL_\Delta. \quad (3.8)$$

Общую поглощенную энергию получим, проинтегрировав данное выражение по всем значениям линейной передачи энергии:

$$\Delta E = \sum_i l_i \int_0^\infty t(L_\Delta) L_\Delta dL_\Delta \quad (3.9)$$

Доля поглощенной энергии, обусловленная частицами с ЛПЭ из диапазона $(L_\Delta, L_\Delta + dL_\Delta)$, определяется следующим соотношением:

$$\varepsilon(L_\Delta) dL_\Delta = \frac{L_\Delta t(L_\Delta) dL_\Delta}{\int_0^\infty L_\Delta t(L_\Delta) dL_\Delta}. \quad (3.10)$$

Среднее по поглощенной энергии значение линейной передачи энергии $\overline{L_{\Delta E}}$, определяется соотношением:

$$\overline{L_{\Delta E}} = \int_0^\infty \varepsilon(L_\Delta) L_\Delta dL_\Delta. \quad (3.11)$$

Распределение значений усредненных по поглощенной энергии и по длине трека значений ЛПЭ по глубине проникновения электронов рассчитывается по формулам:

$$\langle L_{\Delta T} \rangle = \frac{\sum_i \frac{\Delta E_i}{l_i} l_i}{\sum_i l_i}, \quad (3.12)$$

$$\langle L_{\Delta E} \rangle = \frac{\sum_i \frac{\Delta E_i}{l_i} \Delta E_i}{\sum_i \Delta E_i}, \quad (3.13)$$

где ΔE_i — суммарная энергия от первичных и вторичных электронов, поглощенная в i -ом слое воды толщиной 0,1 мм, l_i — суммарная длина треков первичных и вторичных электронов в i -ом слое воды. в воде растут значения ЛПЭ, усредненные по поглощенной энергии и по трекам электронов. В компьютерном моделировании величина усредненных по поглощенной энергии значений ЛПЭ первичных электронов с энергией $E \leq 0,2$ МэВ рассчитывается по формуле:

$$\overline{L_D} = \sum_{i=1}^N \frac{\Delta E_i}{\Delta l_i} w_i, \quad (3.14)$$

где ΔE_i — энергия, поглощенная в слое биообъекта при прохождении i -ого электрона с длиной трека Δl_i , w_i — вес i -ого электрона среди всех N электронов при пересечении слоя биообъекта, рассчитанный по формуле:

$$w_i = \left\{ \frac{\frac{\Delta E_i}{\sum_{j=1}^N \Delta E_j}}{\frac{\Delta l_i}{\sum_{j=1}^N \Delta l_j}} \right\}, \quad (3.15)$$

На рисунке 3.11 представлены распределения $L_{\Delta T}(L)$ и $L_{\Delta D}(L)$. Как видно из рисунка, с увеличением глубины проникновения электронов в воде растут значения ЛПЭ, усреднённые по поглощенной энергии и по трекам электронов.

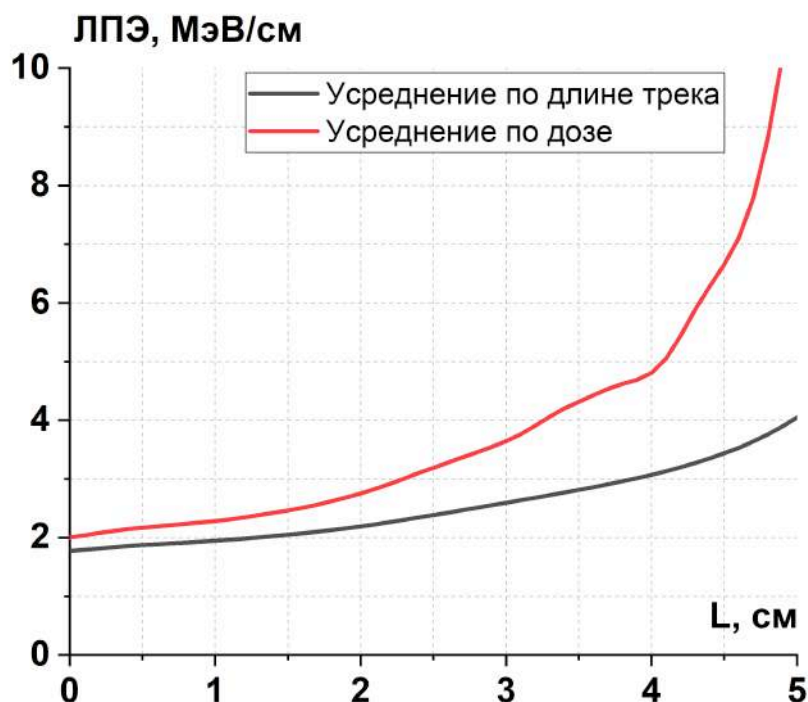


Рисунок 3.11 — Глубинные распределения усредненных по поглощенной энергии и по трекам электронов значений ЛПЭ в воде при прохождении ускоренных электронов с начальной энергией 10 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Начиная с глубины от 3 см до 5 см, значения ЛПЭ, усреднённые по поглощенной энергии электронов, возрастают с 2 МэВ/см до 10 МэВ/см, при этом на глубине 4 см наблюдается пик первичных электронов с энергией менее 0,2 МэВ, которые обладают высокими значениями ЛПЭ (рис.3.12). Таким образом, на глубине около 4 см от поверхности биологического объекта при его облучении ускоренными электронами с энергией 10 МэВ возможна нелинейная зависимость эффекта от дозы облучения.

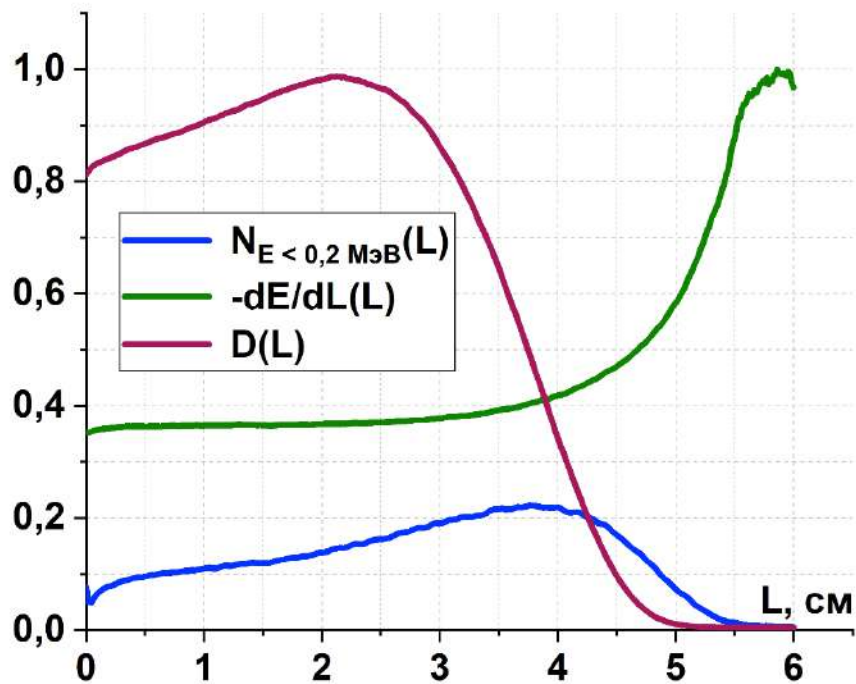


Рисунок 3.12 — Распределение относительной поглощенной дозы

$D(L)$, нормированной на максимальное значение дозы в объекте из воды (бордовая кривая), распределение относительного количества первичных электронов $N_{E \leq 0,2 \text{ МэВ}}(L)$ (синяя кривая), распределение относительного значения усредненных по поглощенной энергии значений ЛПЭ $\overline{L_D}(L)$, нормированного на максимальное значение ЛПЭ в слое воды толщиной 6 см (зеленая кривая), при прохождении электронов с $E_e = 10$ МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Мембраны красных клеток крови чувствительны к воздействию различных физико-химических факторов, а именно, к воздействию ионизирующего излучения, лекарственных препаратов [367]. Было проведено экспериментальное исследование пространственного распределения константы скорости гемолиза в результате воздействия пучка электронов с начальной энергией 18 МэВ, 27 МэВ и 37 МэВ на суспензию эритроцитов [368-370]. Эксперименты по оценке эффективности воздействия пучка электронов на мембраны эритроцитов проводились на Разрезном микротроне импульсного действия с максимальной энергией пучка 70 МэВ, разработанном в НИИЯФ им. Д.В. Скобелевича. Установлено, что наряду с основным максимумом распределения константы скорости гемолиза в начале пробега электронов, находящимся в области максимального значения дозы, был обнаружен дополнительный максимум в конце пробега электронов (рис. 3.13). Причем, чем выше начальная энергия электронов в пучке, тем больше глубина, на которой наблюдается дополнительный максимум эффективности воздействия электронов на суспензию эритроцитов.

Расчеты спектральных характеристик пучка электронов с начальной энергией 20, 30 и 40 МэВ в воде показали, что на определенных глубинах $L_{\text{доп}}^{20,30,40}$ в водном фантоме наблюдаются пики количества первичных электронов с энергией меньше 0,2 МэВ и относительное возрастание усредненных по поглощенной энергии ЛПЭ. Получено, что с увеличением энергии электронов глубина локализации максимума электронов с энергией меньше 0,2 МэВ и локализация области возрастания $L_{\Delta E}$ сдвигаются в сторону больших расстояний от поверхности водного фантома (рис. 3.14).

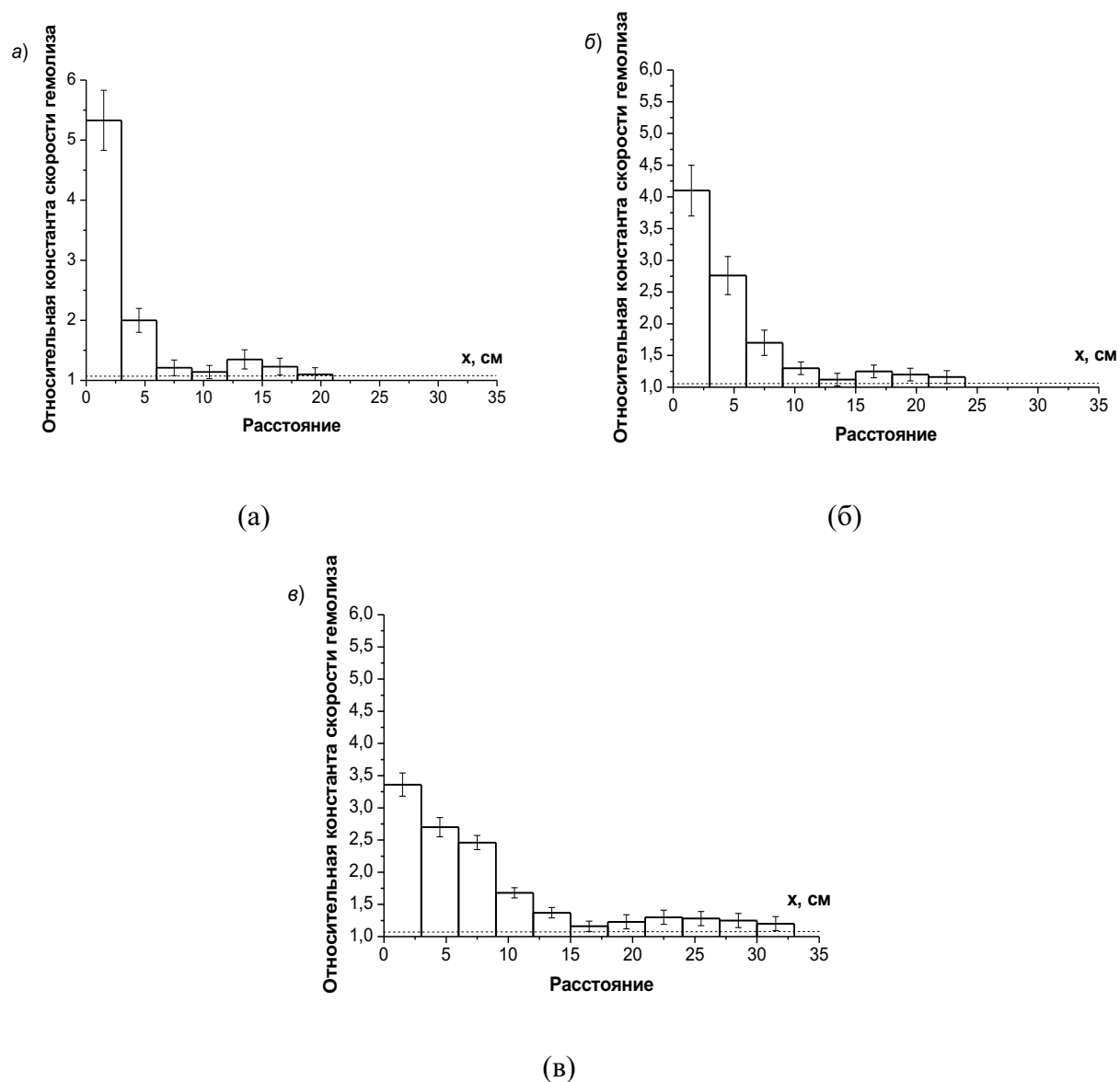


Рисунок 3.13 — Распределение радиобиологического эффекта по глубине проникновения электронов 18 МэВ (а), 27,3 МэВ (б), 37 МэВ (в) в суспензии эритроцитов.

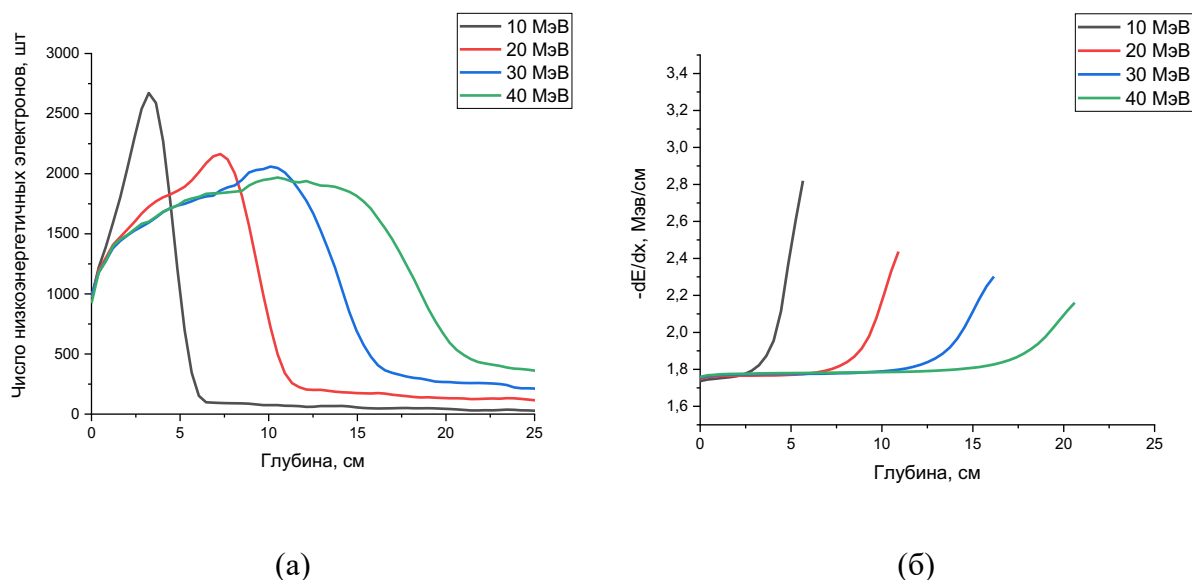


Рисунок 3.14 — Распределение количества первичных электронов с энергией меньше 0,2 МэВ и усредненных по поглощенной энергии электронов значений ЛПЭ $L_{\Delta E}$ по глубине в воде при прохождении ускоренных электронов с начальной энергией 10, 20, 30 и 40 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

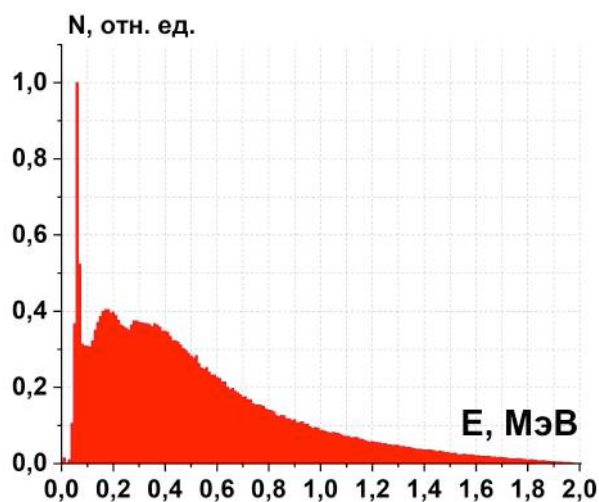
Таким образом, на основе теоретического исследования спектральных характеристик пучка электронов показано, что на некотором расстоянии $L_{\text{доп}}$ наблюдается максимум количества электронов с энергиями меньше 0,2 МэВ, и, соответственно, с высокими ионизационными потерями и сильным рассеянием [371]. Медленные электроны могут обладать особенностями воздействия на биологические наноструктуры, вызывая в них локально возмущения электрического состояния. Механизм повреждения биологических мишеней медленными электронами лежит в основе пространственной нелинейности биологического эффекта от дозы облучения.

3.2.3 Тормозное излучение. Факторы, влияющие на однородность распределения дозы

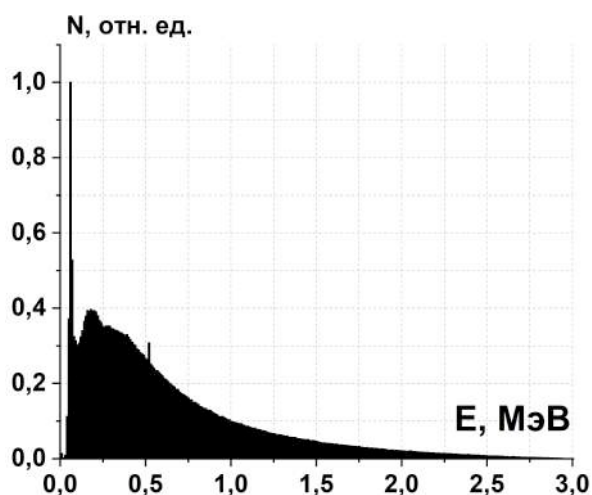
Максимальная энергия тормозного излучения

Тормозное излучение имеет характерный непрерывный энергетический спектр, при этом максимальная энергия фотонов E_0 в спектре определяется энергией налетающих на тормозную мишень электронов. Одним из ключевых факторов, влияющих на глубину проникновения тормозного излучения и на распределение поглощенной дозы в биологическом объекте, является максимальная энергия фотонов $E_{\text{ф}}$. Спектр тормозных фотонов определяется спектром налетающих на тормозную мишень электронов и толщиной тормозной мишени. На рисунке 3.15 представлены спектры тормозного излучения при прохождении 10^5 электронов через танталовую мишень толщиной 2 мм. Из рисунков 3. 15б,в,г

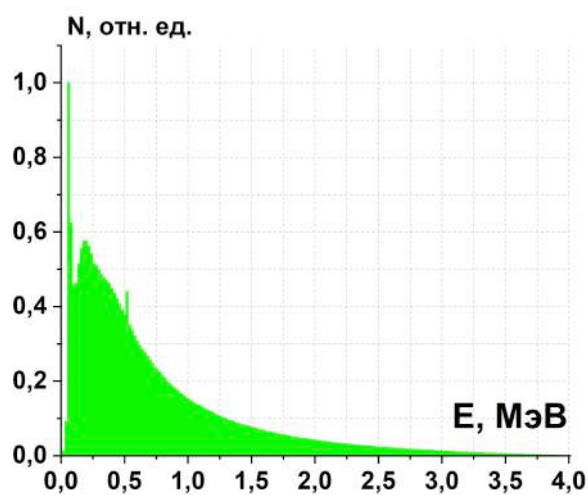
виден пик аннигиляционных фотонов, энергия которых равна 0,511 МэВ. На энергиях 50-62 кэВ наблюдаются пики, соответствующие характеристическому излучению тантала.



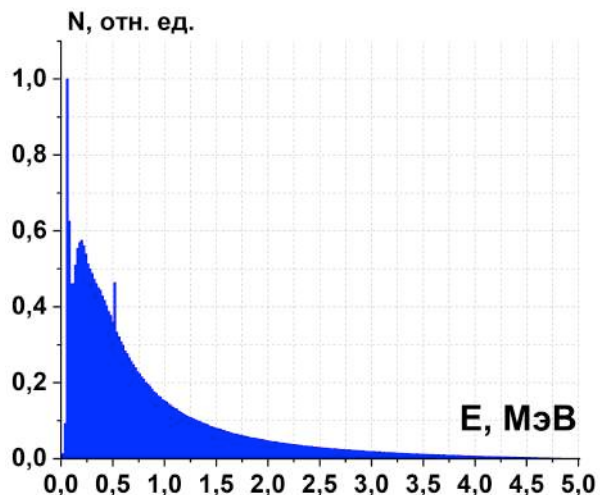
(а)



(б)



(в)



(г)

Рисунок 3.15 — Спектры тормозного излучения после прохождения танталовой мишени толщиной 2 мм электронов с энергией 2,3,4 и 5 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

На рис. 3.16а показаны зависимости относительной поглощенной дозы от глубины проникновения тормозных фотонов в воде для максимальной энергии фотонов 2 МэВ, 3 МэВ, 4 МэВ и 5 МэВ, рассчитанные с помощью инструментария GEANT4. Как видно из рисунка, в поверхностных слоях воды наблюдается резкое увеличение поглощенной дозы с глубиной проникновения фотонов в воде, далее наблюдается экспоненциальный спад дозы с расстоянием. Резкий подъем дозы в поверхностных слоях воды связан с возникновением вторичных электронов, вносящих вклад в формирование поглощенной дозы. С увеличением расстояния, пройденного фотонами в воде, растет количество вторичных электронов,

приходящих из «заднего полупространства», образующихся между поверхностью воды и рассматриваемой точкой, в которую они проникают, отдавая энергию и формируя дозу. При непосредственном размещении тормозной мишени на поверхности облучаемого объекта распределение дозы после поглощающей мишени носит экспоненциально убывающий характер (рис.3.16б).

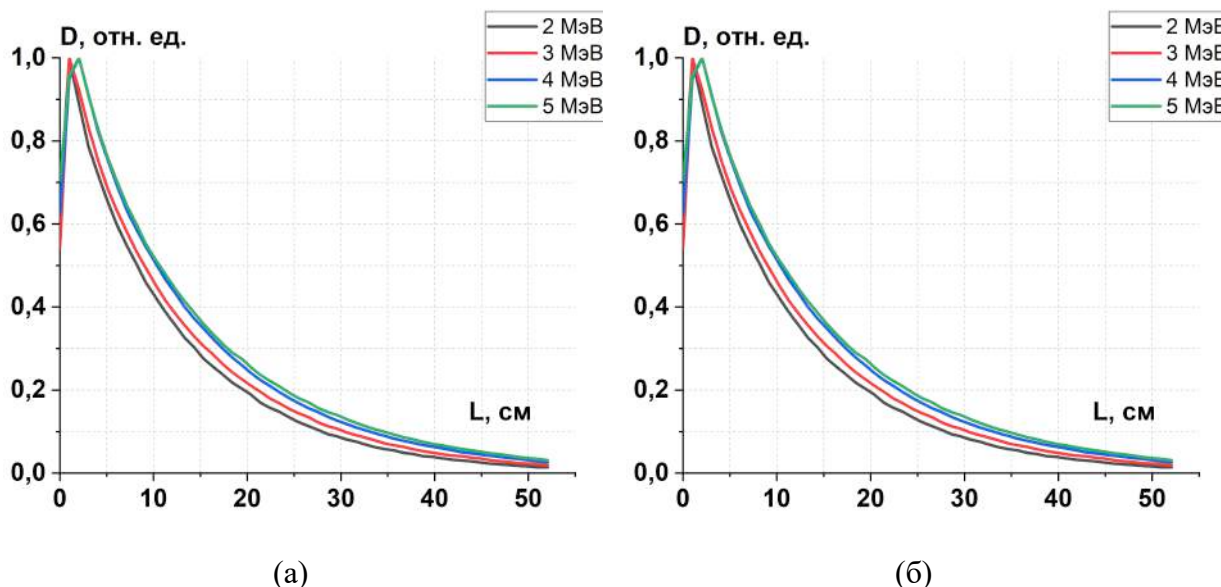


Рисунок 3.16 — а) Рассчитанные с помощью программного кода GEANT 4 распределения поглощенной дозы, формируемые в воде тормозными фотонами с максимальной энергией 2 МэВ, 3 МэВ, 4 МэВ и 5 МэВ; б) экспоненциально спадающая часть распределений поглощенной дозы, формируемых в воде тормозными фотонами с максимальной энергией 2 МэВ, 3 МэВ, 4 МэВ и 5 МэВ.

Для описания влияния различных факторов на экспоненциальный характер распределения поглощенной дозы в биологическом объекте, облучаемом тормозным излучением введем следующие обозначения:

L' — характерное расстояние от поверхности объекта, на котором значение дозы уменьшается в e раз по отношению к максимальному значению дозы; K'_1 — коэффициент однородности распределения дозы, представляющий собой отношение значения поглощенной дозы для объекта толщиной $L_{\text{объекта}}$ к поверхностной дозе D_0 в объекте.

На рисунке 3.17 представлена зависимость характерной глубины L' (см) от максимальной энергии тормозных фотонов E_ϕ (МэВ) в спектре. Из рисунка видно, что с увеличением энергии E_ϕ характерная глубина линейно возрастает, таким образом, при облучении тормозными фотонами возможно облучать биологические объекты большей толщины.

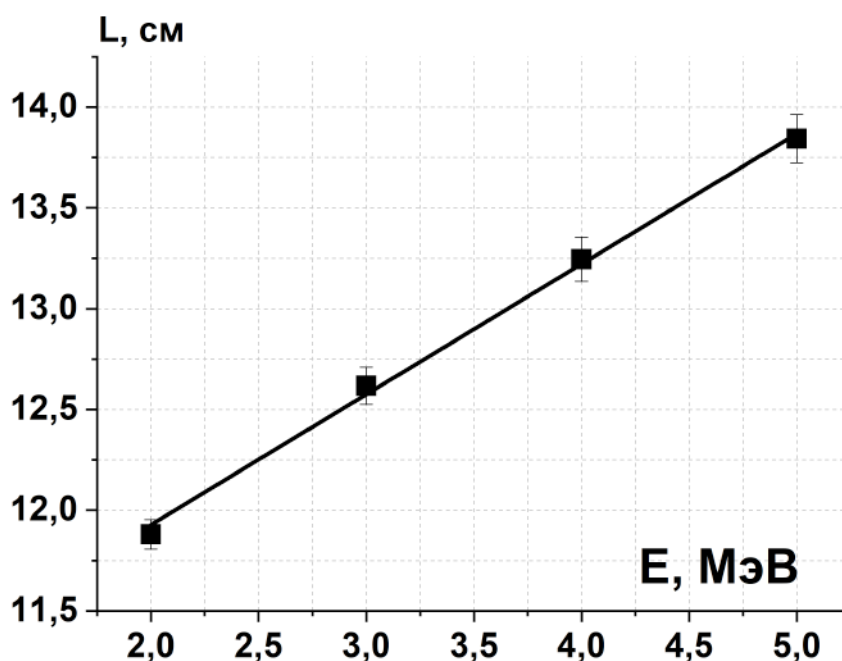


Рисунок 3.17 —Зависимость расстояния L' в воде от максимальной энергии E_ϕ в спектре.

Аналитическая зависимость расстояния L' (см) в воде от максимальной энергии E_ϕ (МэВ) в спектре тормозных фотонов может быть выражена как:

$$L' = a + b \cdot E_\phi, \quad (3.16)$$

где $a = (18,98 \pm 1,29)$ см, $b = (5,57 \pm 0,36)$ см/МэВ — параметры аппроксимации.

Зная параметры распределения поглощенной дозы, возможно рассчитать зависимость предельной толщины биологического объекта $L_{\text{объекта}}$, для которой достигается требуемая однородность облучения K'_1 тормозными фотонами. Закон уменьшения дозы с глубиной при облучении биологического объекта фотонами возможно записать, как:

$$D(x) = D_0 e^{-\frac{x}{L'}}. \quad (3.17)$$

Однородность распределения поглощенной дозы K'_1 для объекта толщиной $L_{\text{объекта}}$ равна отношению дозы на глубине L к дозе на поверхности D_0 . Таким образом, зависимость предельной толщины объекта от однородности облучения связаны соотношением:

$$L_{\text{объекта}} = -L' \ln K'_1. \quad (3.18)$$

На рисунке 3.18 представлена зависимость толщины $L_{\text{объекта}}$ от однородности облучения K'_1 , рассчитанная для различных значений максимальной энергии фотонов в спектре. Как видно из рисунка, с увеличением K'_1 предельная толщина $L_{\text{объекта}}$ уменьшается. Так, при облучении фотонами с максимальной энергией 5 МэВ возможно достичь однородности облучения 80% для биологического объекта толщиной не более 5 см, при этом объекты толщиной 20 см возможно облучить тормозными фотонами с однородностью облучения не более 40%. Поскольку зависимость характерной толщины объекта L' от максимальной

энергии фотонов E_ϕ выражается формулой (3.16), зависимость предельной толщины биологического объекта $L_{\text{объекта}}$ от требуемой однородности облучения K'_1 можно записать в виде соотношения:

$$L_{\text{объекта}} = -(a + b \cdot E_\phi) \ln K'_1. \quad (3.19)$$

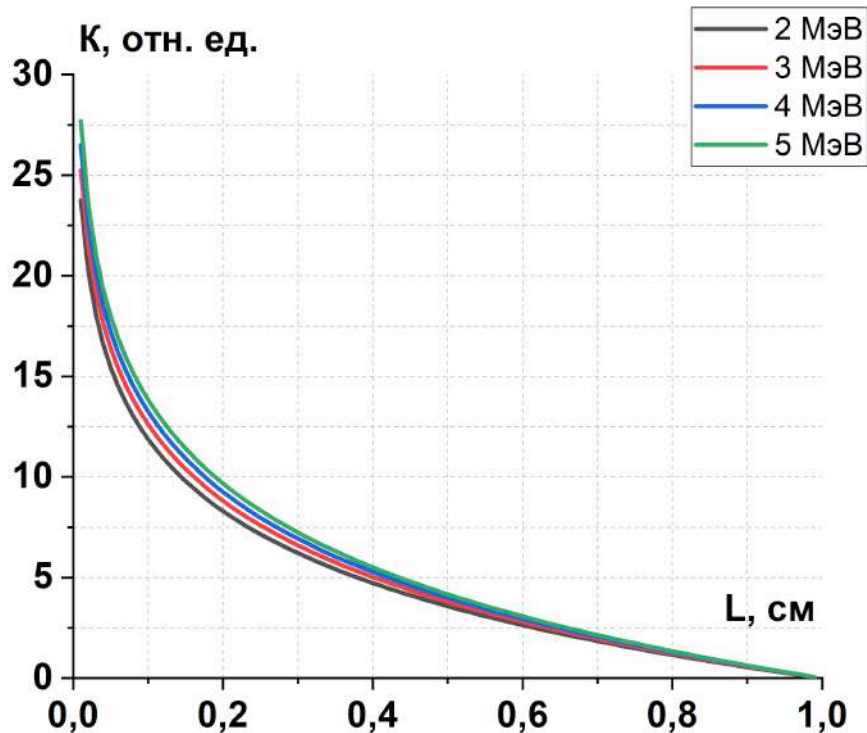


Рисунок 3.18 — Зависимость предельной толщины биологического объекта $L_{\text{объекта}}$ от однородности облучения K'_1 , рассчитанная для значений максимальной энергии фотонов в спектре 2 МэВ, 3 МэВ, 4 МэВ и 5 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Плотность объекта

На рис. 3.19 показано, что распределение поглощенной дозы в воде, создаваемое тормозными фотонами с максимальной энергией в спектре 5 МэВ, сильно зависит от плотности объекта $\rho_{\text{объекта}}$, в отличие от ускоренных электронов, где равномерность дозы K'_1 практически не зависит от плотности биологического объекта в диапазоне доз от 0,3 г/см³ до 1,6 г/см³.

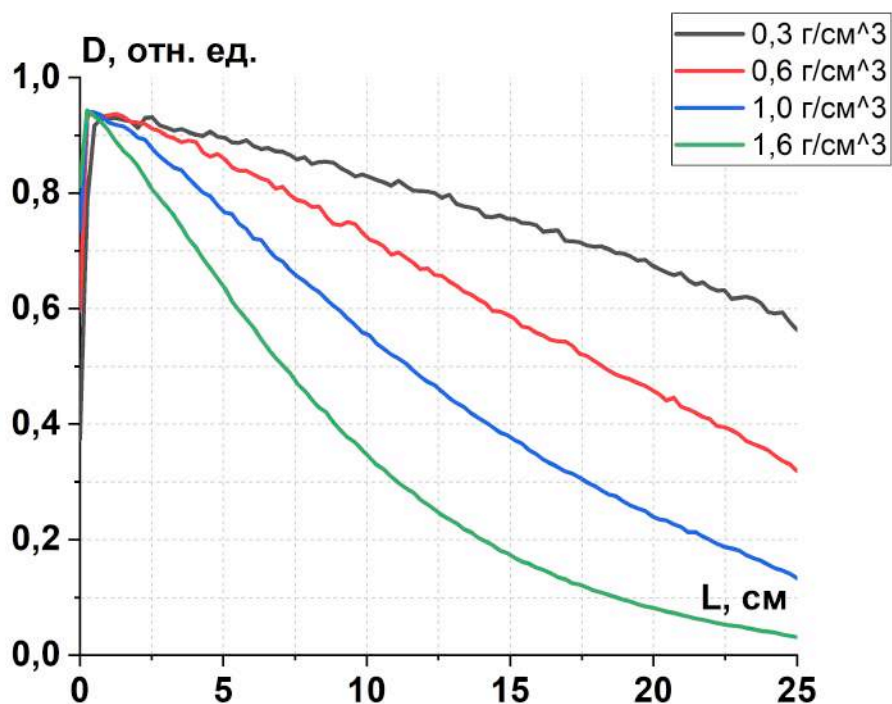


Рисунок 3.19 — Распределение относительной поглощенной дозы, нормированное на максимальное значение дозы, в воде с плотностью от 0,3 г/см³ до 1,6 г/см³, создаваемое тормозными фотонами с максимальной энергией в спектре 5 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

На рисунке 3.20 представлена зависимость характерной глубины L' от плотности биологического объекта, состоящего из воды, при облучении тормозными фотонами с максимальной энергией в спектре $E_{\phi} = 5$ МэВ. Как видно из рисунка, с увеличением $\rho_{\text{объекта}}$ характерная глубина L' уменьшается по закону:

$$L' = \frac{1}{c + d \cdot \rho_{\text{объекта}}}, \quad (3.20)$$

где $c = (0,0017 \pm 0,0003)$ 1/см, $d = (0,0407 \pm 0,0004)$ см²/г — параметры аппроксимации.

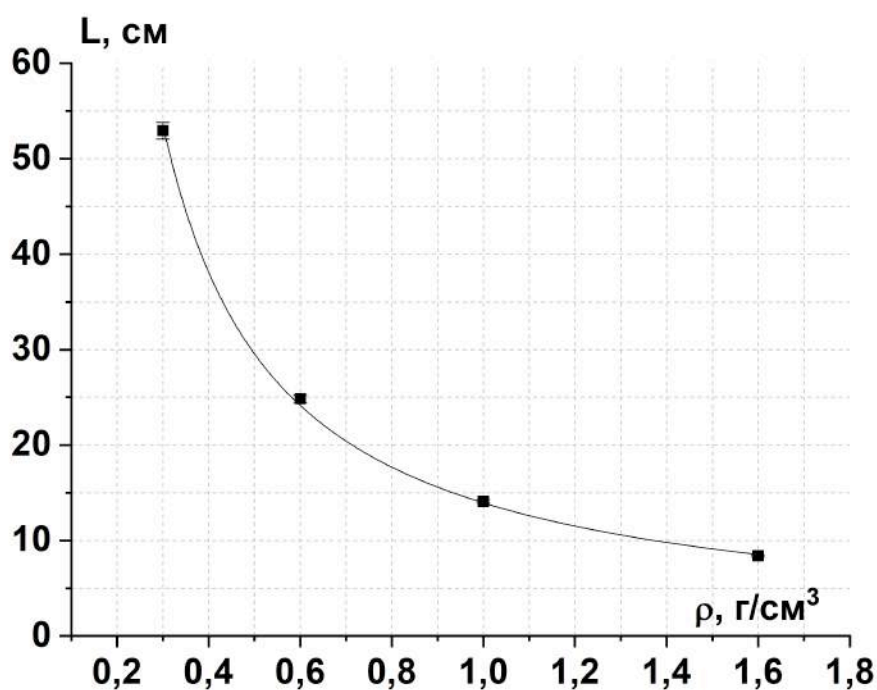


Рисунок 3.20 — Зависимость характерной глубины L' от плотности биологического объекта $\rho_{\text{объекта}}$, состоящего из воды, при облучении тормозными фотонами с $E_{\phi} = 5$ МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

На рисунке 3.21 представлена зависимость предельной толщины биологического объекта $L_{\text{объекта}}$ от однородности облучения K'_1 , рассчитанная для различных значений плотности объекта. Из рисунка видно, что при фиксированном спектре тормозных фотонов чем выше плотность объекта, тем меньшая толщина биологического объекта облучается при требуемой однородности облучения.

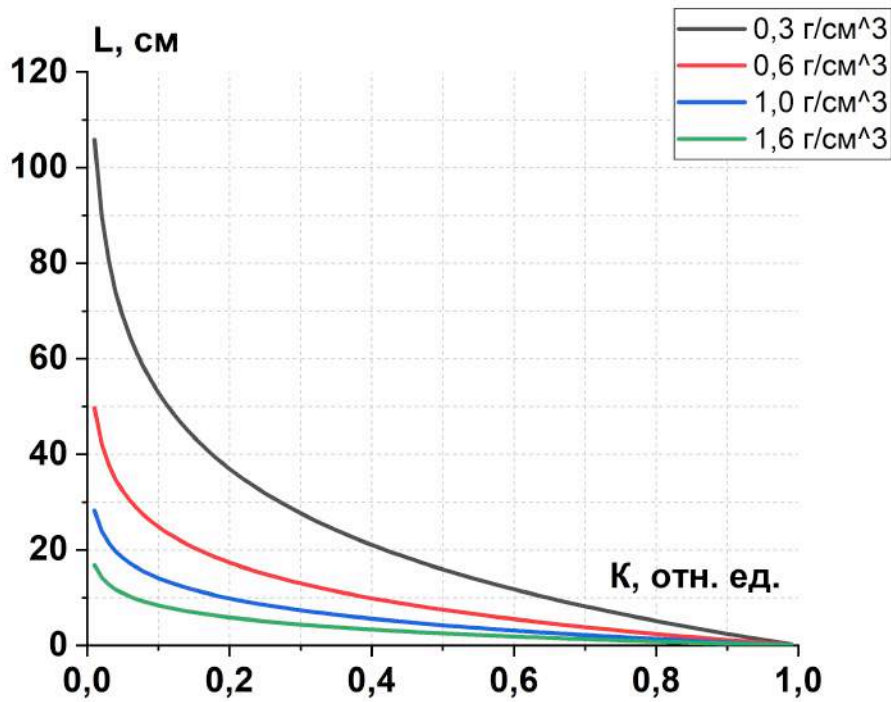


Рисунок 3.21 — Зависимость предельной толщины биологического объекта $L_{\text{объекта}}$ от однородности облучения K'_1 , рассчитанная для биологического объекта с плотностью от $0,3 \text{ г/см}^3$ до $1,6 \text{ г/см}^3$. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Зависимость предельной толщины биологического объекта $L_{\text{объекта}}$ с плотностью $\rho_{\text{объекта}}$ от требуемой однородности облучения K'_1 для фиксированного спектра тормозных фотонов можно записать в виде соотношения:

$$L_{\text{объекта}} = -\frac{1}{c+d \cdot \rho_{\text{объекта}}} \ln K'_1. \quad (3.21)$$

Таким образом, зная плотность и требуемую однородность облучения K'_1 , для заданного спектра тормозных фотонов возможно рассчитать толщину биологического объекта, для которой обеспечивается требуемая K'_1 . Так, при требуемой однородности $K'_1 \leq 0,4$ для биологического объекта с плотностью 1 г/см^3 предельная толщина объекта составляет 10 см.

Итак, зависимость дозового распределения при облучении тормозными фотонами $D(x)$ описывается формулой (3.17), однородность распределения дозы по глубине объекта связана с толщиной объекта и характерной глубиной зависимостью, описываемой формулой (3.18). В ходе компьютерного моделирования для различных энергий электронов в диапазоне от 1 МэВ до 10 МэВ, падающих на танталовую мишень, была получена зависимость характерной толщины $L_{\text{хар}}$ от энергии падающих электронов E для объектов из воды $\rho_0 = 1 \frac{\text{г}}{\text{см}^3}$ (рис.3.17), описываемая формулой:

$$L_{\text{хар}}[\text{см}] = 10 + 0.6E[\text{МэВ}]. \quad (3.22)$$

Если плотность объекта $\rho_{\text{объекта}}$, то величина характерной толщины $L_{\text{хар}}$ при облучении фотонами объекта с плотностью, отличной от плотности воды:

$$L_{\text{хар}}(\rho_{\text{объекта}}) = L_{\text{хар}}(\rho_0) \frac{\rho_0}{\rho_{\text{объекта}}}. \quad (3.23)$$

Тогда при заданных толщине объекта $L_{\text{объекта}}$ и плотности объекта $\rho_{\text{объекта}}$ оптимальная энергия электронов, при которой достигается требуемая однородность облучения K'_1 определяется соотношением:

$$E[\text{МэВ}] = \left[-L_{\text{объекта}}[\text{см}] \frac{\rho_{\text{объекта}} \left[\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right]}{\log(K'_1) \rho_0 \left[\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right]} - 10 \right] / 0.6. \quad (3.24)$$

И наоборот, если заданы требуемая однородность облучения K'_1 и фиксирована энергия электронов, то оптимальная толщина объекта, при которой достигается требуемая однородность обработки определяется соотношением:

$$L_{\text{объекта}}[\text{см}] = -\log(K) \frac{\rho_0 \left[\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right] (10 + 0.6E[\text{МэВ}])}{\rho \left[\frac{\text{г}}{\text{см}^3} \right]}. \quad (3.25)$$

Таким образом, на основании результатов численных экспериментов и расчетов с использованием программ Origin и MathLab были получены аналитические зависимости, позволяющие спланировать и найти оптимальные параметры радиационной обработки для биообъекта с заданными физическими параметрами.

Материал объекта

Материал облучаемого объекта влияет на распределение поглощенной дозы по объекту, что объясняется зависимостью сечения взаимодействия фотонов от порядкового номера Z вещества. На рис. 3.22 приведены зависимости распределения относительной поглощенной дозы от глубины проникновения фотонов с максимальной энергией 5 МэВ в алюминии, графите, воде и полипропилене, имеющих различный эффективный заряд Z_{eff} . Из рисунка видно, что чем выше значение Z_{eff} тем меньше максимальное значение дозы в объекте и тем больше спад дозы с глубиной проникновения фотонов в вещество. Расчеты показали, что, как и в случае облучения биологических объектов электронами, из-за близких значений Z_{eff} для различных биологических тканей, зависимостью параметров распределения поглощенной дозы для фотонов от вещества биообъекта можно пренебречь.

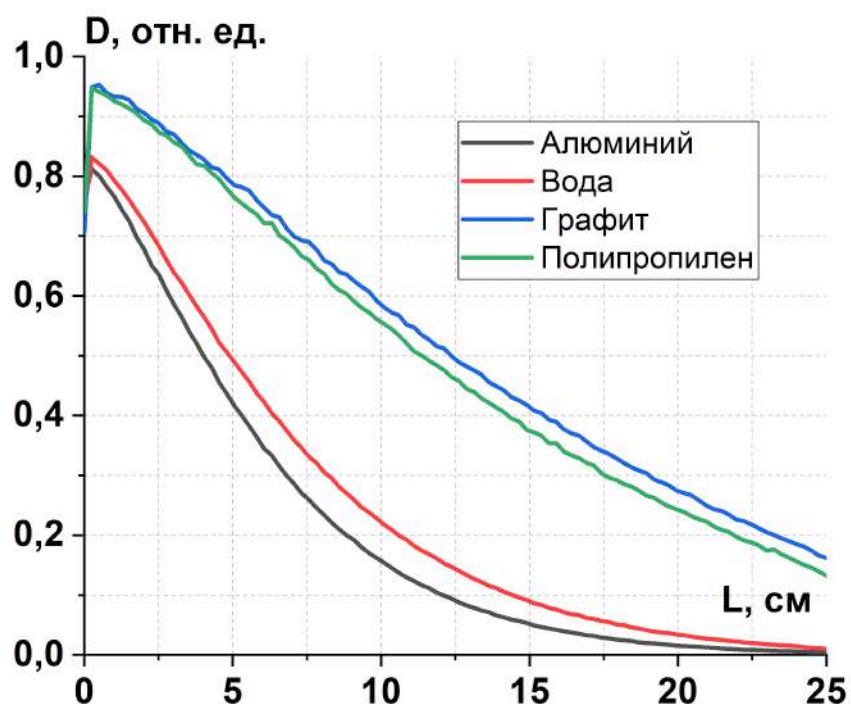


Рисунок 3.22 — Рассчитанные с помощью программного кода Geant 4 распределения поглощенной дозы, создаваемые алюминии (Al , $Z_{eff}=13$), графите (C , $Z_{eff}=6$), воде (H_2O , $Z_{eff}=7,4$) и полипропилене (C_2H_4 , $Z_{eff}=5,4$) тормозными фотонами с максимальной энергией $E_\phi=5$ МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Геометрия объекта

На рисунке 3.23 представлено трехмерное цветное изображение распределения относительной поглощенной дозы по параллелепипеду с ребром 6 см, сфере $\varnothing$ 6 см и цилиндру $\varnothing$ 6 см, смоделированных как водные фантомы, при одностороннем облучении тормозными фотонами с $E_\phi=5$ МэВ.

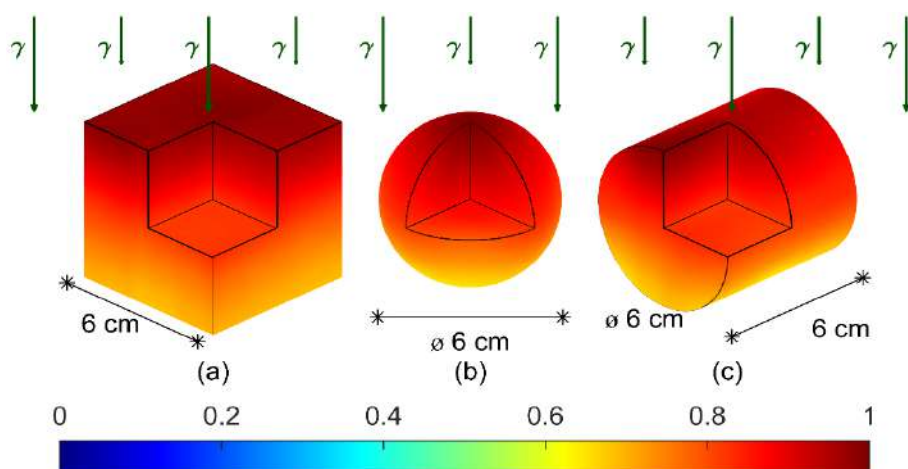


Рисунок 3.23 — Цветная 3D-карта распределения относительной поглощенной дозы в водных фантомах: (а) параллелепипеде с ребром 6 см, (б) сфере $\varnothing$ 6 см и (с) цилиндре $\varnothing$ 6 см с высотой 6 см при одностороннем облучении тормозными фотонами с максимальной энергией 5 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Из рисунка 3.23 видно, что, в отличие от облучения ускоренными электронами (рис.3.5), форма биологического объекта не сильно влияет на характер распределения дозы от тормозных фотонов по объему объекта. Поскольку при численных экспериментах по облучению водных фантомов фотонами моделировался пучок электронов, проходящий через танталовую мишень и попадающий сразу на фантом, то на поверхность фантома падали тормозные фотоны под разными углами, поэтому доза экспоненциально спадает с глубиной в водных фантомах. Для всех трех форм одного и того же линейного размера 6 см однородность распределения дозы примерно одинакова.

3.2.4. Гамма-излучение, генерируемое радиоизотопами ^{60}Co и ^{137}Cs .

Факторы, влияющие на однородность распределения поглощенной дозы K'_1

Тип источника

Глубинные распределения поглощенной дозы, создаваемые гамма-излучением, генерируемым радиоизотопами ^{60}Co (1,17 МэВ и 1,25 МэВ) и ^{137}Cs (0,66 МэВ), разрешенными к применению для радиационной обработки биологических объектов, имеют характерной максимум на поверхности облучаемых объектов (рис.3.24), который на 99,8% соответствует бета-излучению, генерируемому радиоизотопами, с энергией 0,31 МэВ. Для оценки параметров распределения поглощенной дозы от гамма-излучения отсекают пик поглощенной дозы, соответствующей бета-излучению радиоизотопов. Доза, создаваемая гамма-излучением от радиоизотопов, экспоненциально спадает с расстоянием, при этом вследствие большей энергии гамма-квантов использование кобальта-60 позволяет облучать объекты большей толщины (рис.3.24).

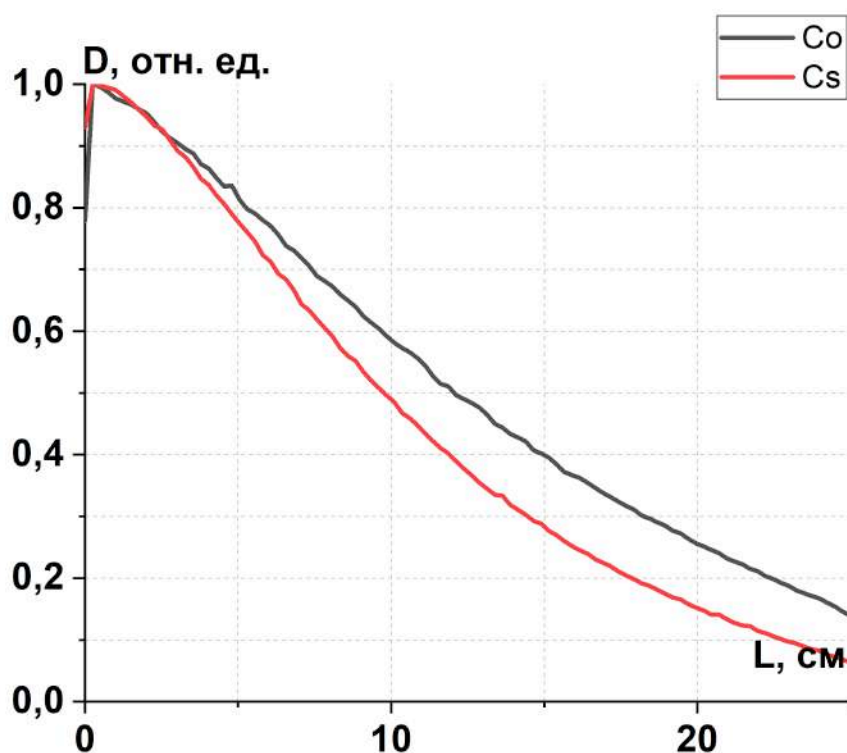
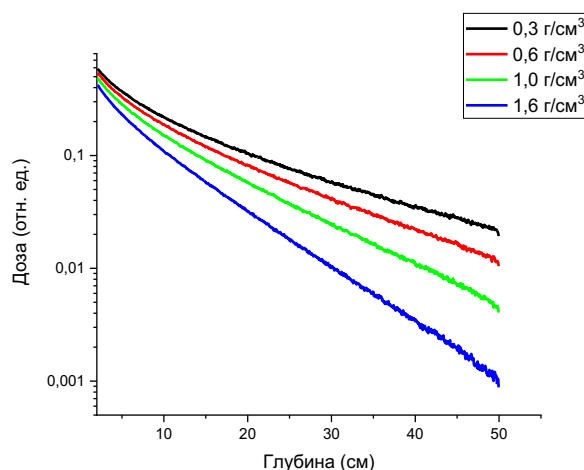


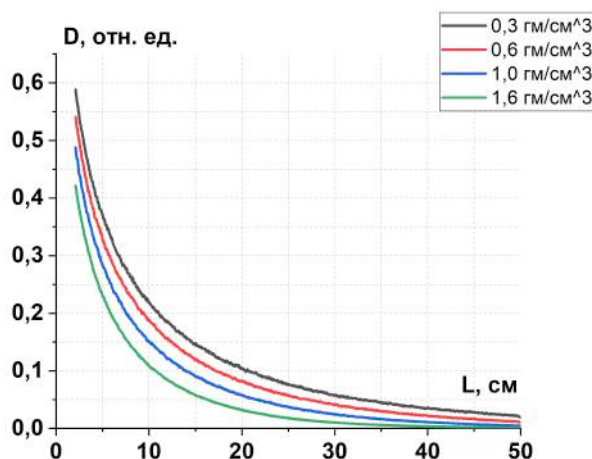
Рисунок 3.24 — Рассчитанные с помощью программного кода Geant 4 распределения относительной поглощенной дозы в воде, испускаемые радиоизотопами ^{60}Co и ^{137}Cs .

Плотность объекта

Расчеты показали, что на характер распределения поглощенной дозы, создаваемой гамма-квантами, испускаемыми радиоизотопом ^{60}Co , сильно влияет плотность биологического объекта $\rho_{\text{объекта}}$ в диапазоне от $0,3 \text{ г/см}^3$ до $1,6 \text{ г/см}^3$, как и в случае тормозного излучения (рис.3.25а). При этом чем выше $\rho_{\text{объекта}}$, тем больше спад дозы с глубиной проникновения гамма-квантов. Так, для биологического объекта с $\rho_{\text{объекта}} = 0,3 \text{ г/см}^3$, расстояние, на котором доза уменьшается в 10 раз по отношению к дозе на поверхности, составляет $(32 \pm 0,6) \text{ см}$, в то время, как для биообъекта с $\rho_{\text{объекта}} = 1,6 \text{ г/см}^3$ данное расстояние уменьшается до $(17 \pm 0,3) \text{ см}$ (рис.3.25б).



(а)



(б)

Рисунок 3.25 — а — Рассчитанные с помощью программного кода Geant 4 распределения относительной поглощенной дозы в воде в плотности 0,3 г/см³, 0,6 г/см³, 0,9 г/см³ и 1,6 г/см³ от гамма-излучения, испускаемого радиоизотопами ⁶⁰Co и ¹³⁷Cs с учетом бета - излучения; б — без учета бета-излучения.

На рисунке 3.26 представлена зависимость характерной глубины L' от $\rho_{\text{объекта}}$ при облучении гамма-квантами, испускаемыми радиоизотопом ⁶⁰Co. С увеличением $\rho_{\text{объекта}}$ характерная глубина L' уменьшается по тому же закону, что и при облучении тормозными фотонами (3.19), при этом параметры аппроксимации составляют $c_\gamma = (0,046 \pm 0,002) \text{ 1/см}$, $d_\gamma = (0,044 \pm 0,002) \text{ см}^2/\text{г}$. Сравнивая зависимости L' от плотности для тормозного излучения с максимальной энергией 5 МэВ и для гамма-квантов, испускаемых кобальтом-60, можно сделать вывод о том, что характерная глубина L' для биологических объектов с плотностью в диапазоне от 0,3 г/см³ до 1,6 г/см³ при облучении тормозным излучением выше, чем данный показатель для тормозного излучения.

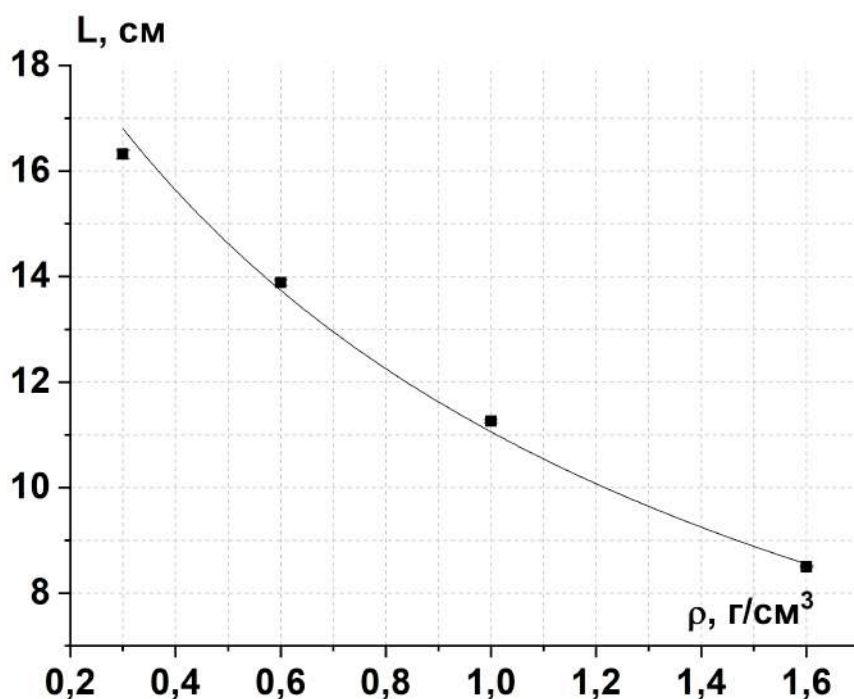


Рисунок 3.26 — Зависимость характерной глубины L' от плотности биологического объекта при облучении гамма-квантами, испускаемыми радиоизотопом ^{60}Co . Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Геометрия объекта

На рисунке 3.27 представлено трехмерное цветное изображение распределения относительной поглощенной дозы в водном параллелепипеде с ребром 6 см, сфере $\varnothing$ 6 см и цилиндре $\varnothing$ 6 см, при одностороннем облучении гамма-квантами, испускаемыми радиоизотопом ^{60}Co . Численные эксперименты моделировали прохождение гамма-излучения со спектром ^{60}Co , падающего перпендикулярно на поверхность водных фантомов.

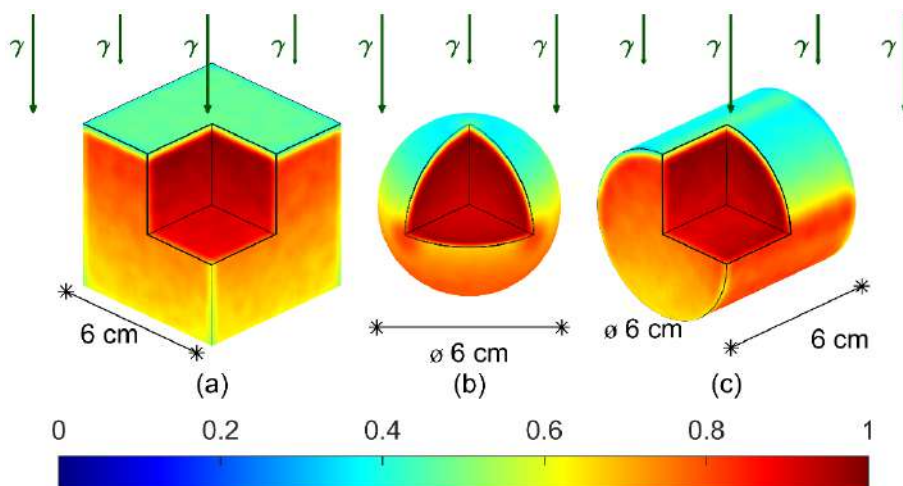


Рисунок 3.27 — Цветная 3D-карта распределения относительной поглощенной дозы в водных фантомах: (а) параллелепипеде с ребром 6 см, (б) сфере $\varnothing$ 6 см и (с) цилиндре $\varnothing$ 6

см с высотой 6 см при одностороннем облучении гамма-квантами, испускаемыми радиоизотопом ^{60}Co . Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Из рисунка видно, что, в отличие от тормозных фотонов, максимум распределения дозы приходится на поверхностные слои, а не на слои, залегающие на определенной глубине объекта, что связано с тем, что гамма-кванты падали перпендикулярно поверхности фантомов.

3.3 Физико-математические методы для повышения эффективности обработки

3.3.1 Физические методы повышения коэффициента однородности распределения поглощенной дозы в объеме объекта при воздействии пучками ускоренных электронов

Обработка биологических объектов ускоренными электронами характеризуется неравномерностью распределения дозы по объему облучаемых объектов, что обусловлено характером распределения дозы, физической природой взаимодействия ионизирующих частиц с веществом, неоднородной плотностью биологических объектов, сложной геометрией биообъекта. Распределение радиационного воздействия как на целевые биологические мишени, так и на окружающие молекулярные структуры в объекте является неоднородным, что снижает эффективность радиационной обработки и затрудняет поддержание эффективности повреждения целевых мишеней по всему объекту на требуемом уровне. Таким образом, актуальной является разработка методов повышения равномерности распределения поглощенной дозы по объему облучаемых объектов.

В настоящее время в промышленных центрах радиационной обработки для повышения равномерности распределения дозы используются следующие методы:

- двухстороннее облучение для эффективной обработки объектов с большой толщиной;
- применение полимерных гранул с плотностью, близкой к плотности облучаемого объекта, для заполнения пустого пространства в упаковке, что делает сложную форму объекта близкой к параллелепипеду;
- облучение объектов электронами различных энергий в течение нескольких сеансов облучения.

Первый способ неприменим для объектов, имеющих форму, отличную от параллелепипеда, этот способ неприменим, так как не обеспечивает стабильной равномерности облучения. Вторым способом повышения равномерности облучения не является экономически эффективным, поскольку требует замены полимеров, разрушающихся в процессе облучения. Третий способ предполагает использование нескольких сеансов облучения, что увеличивает время обработки и затрудняет его применение для широкого круга категорий биологических объектов.

Метод модификации пучка электронов с использованием пластин-модификаторов

В работе предложен способ модификации спектра пучка с помощью алюминиевых пластин, позволяющий повысить равномерность дозы при облучении ускоренными электронами с энергией до 10 МэВ [372]. Основная идея повышения равномерности облучения заключается в дополнительном размещении пластин определенной толщины между выходом пучка и облучаемым объектом. После прохождения через пластину энергетические и угловые распределения пучка направленных моноэнергетических электронов размываются [373], что приводит к появлению в пучке электронов с меньшими энергиями, что повышает равномерность дозы в поверхностных слоях объекта за один сеанс облучения (рис.3.28).

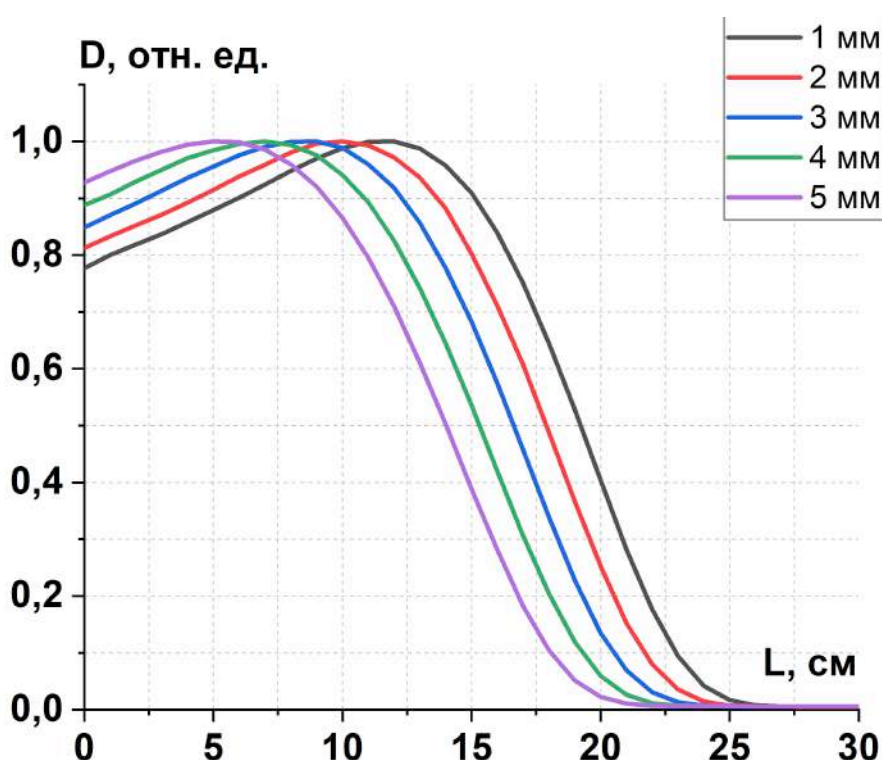


Рисунок 3.28 — Зависимость относительной поглощенной дозы от глубины в водном фантоме, облученном электронами с энергией 10 МэВ при дополнительном размещении алюминиевых пластин толщиной от 1 мм до 5 мм. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

На рис. 3.28 показано, что добавление алюминиевых пластин-модификаторов изменяет распределение дозы по всему облучаемому объекту. Величина дозы увеличивается в поверхностных слоях на расстоянии от 0 до 1,5 см, а максимальный путь электронов в веществе уменьшается. На рис. 3.29 показано, что коэффициент равномерности K'_1 линейно возрастает с увеличением толщины алюминиевой пластины d .

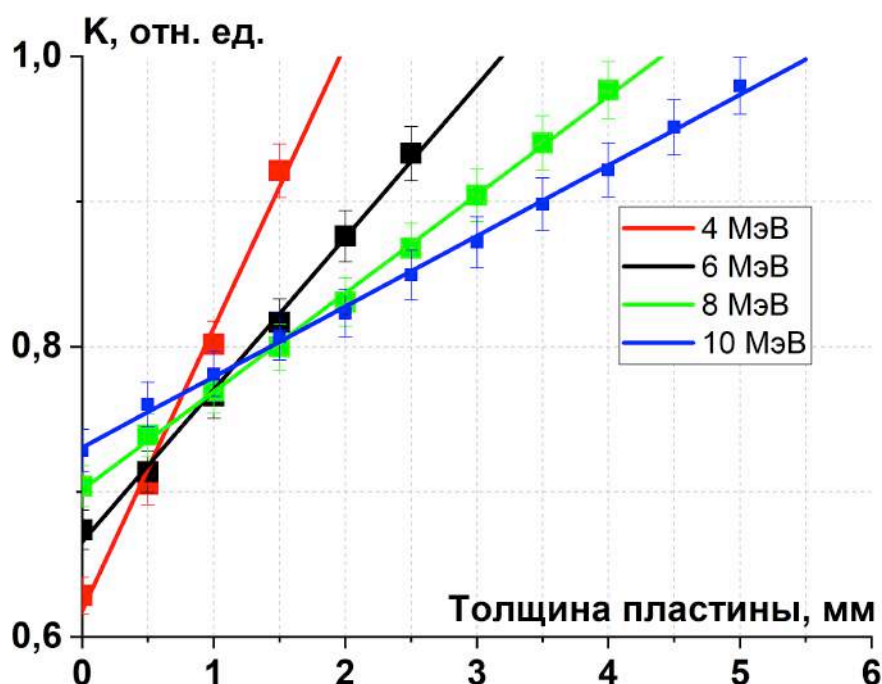


Рисунок 3.29 — Зависимость равномерности облучения K'_1 водного параллелепипеда от толщины алюминиевой пластины после облучения электронами с энергией 4 МэВ, 6 МэВ, 8 МэВ и 10 МэВ. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Предложенный способ позволяет повысить равномерность облучения до 0,97 в объектах в форме параллелепипеда, облучаемых электронами с энергией от 4 до 10 МэВ, при использовании алюминиевых пластин-модификаторов толщиной от 0,5 до 5,5 мм. Оптимальная толщина объекта $L_{\text{объекта}}$, т.е. глубина, на которой значение дозы равно поверхностной дозе, находится в диапазоне от 1,025 г/см² до 3,125 г/см² и уменьшается с увеличением толщины пластины [374].

Применение линейной комбинации пластин-модификаторов

Увеличить максимальную толщину облучаемых объектов при сохранении равномерности дозы на высоком уровне можно, используя комбинацию пластин разной толщины с весами a^i таким образом, чтобы распределение поглощенной дозы в объекте было как можно ближе к постоянному значению, что эквивалентно минимизации следующей функции для расчета весовых коэффициентов a^i :

$$\sum_{i=1}^N \left(\sum_{j=1}^M a^i d^{i,j} - \text{const} \right)^2 \rightarrow \text{Min}, \quad (3.26)$$

где $D^{i,j}$ — доза на глубине x_j объекта, облученного электронами с добавлением алюминиевой пластины-модификатора толщиной d_i . Суммирование производится по i от 1 до N , где N — количество алюминиевых пластин разной толщины, и по j от 1 до M , где M — количество точек объекта, в которых определяется поглощенная доза.

На рис. 3.30а показано распределение поглощенной дозы в водном фантоме, облученном электронами с энергией 10 МэВ без пластин, с одной пластиной и с комбинацией пластин, толщина которых варьируется от 0,1 мм до 9,5 мм. На рис. 30б показаны распределения поглощенной дозы в водном фантоме, облученном пучками электронов с энергией от 5 до 10 МэВ с добавлением комбинации пластин.

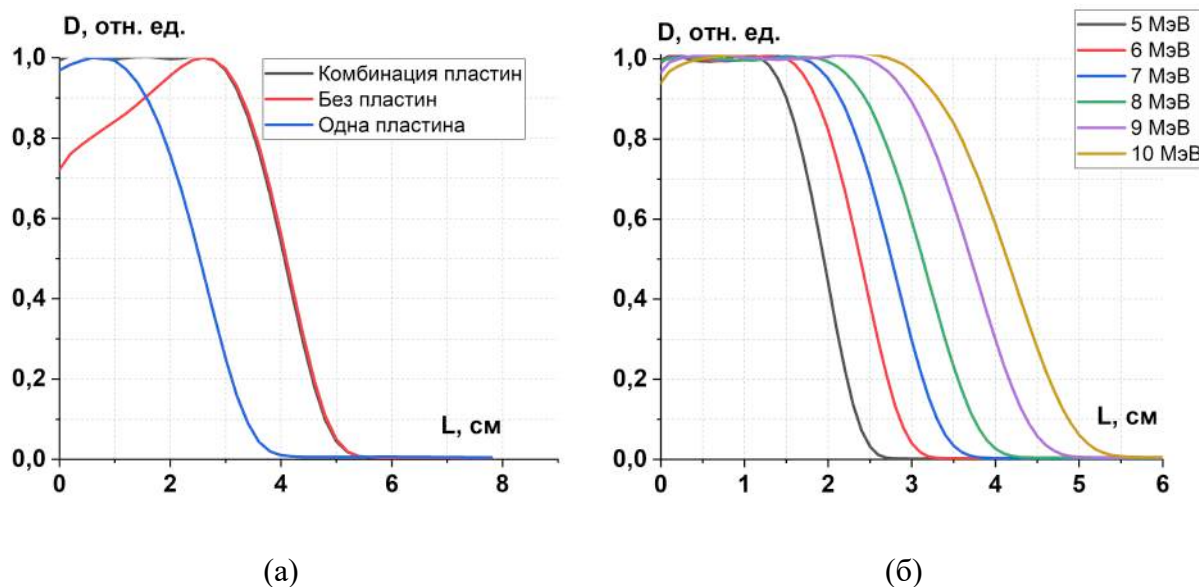


Рисунок 3.30 — а — Распределение поглощенной дозы при облучении с энергией 10 МэВ с добавлением одной пластины, комбинации пластин и без пластин; б — Распределение поглощенной дозы в водном фантоме при облучении электронами с энергией 5-10 МэВ с комбинацией пластин. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Из рисунка 3.30 видно, что если биообъект, облученный без добавления пластин, имеет при $L_{\text{объекта}}=3,8$ см равномерность дозы $K'_1=0,71$, то добавление одной пластины увеличивает равномерность дозы до $K'_1=0,97$ и уменьшает $L_{\text{объекта}}$ до 1,2 см. При использовании комбинации пластин для толщины объекта $L_{\text{объекта}}=3$ см равномерность дозы $K'_1=0,98$ (рис. 3.30а). На рис. 29б показано, что варьирование энергии электронов и использование комбинации пластин позволяет увеличить равномерность дозы до 0,95 для объектов с толщиной массы до 3,8 см при одностороннем облучении.

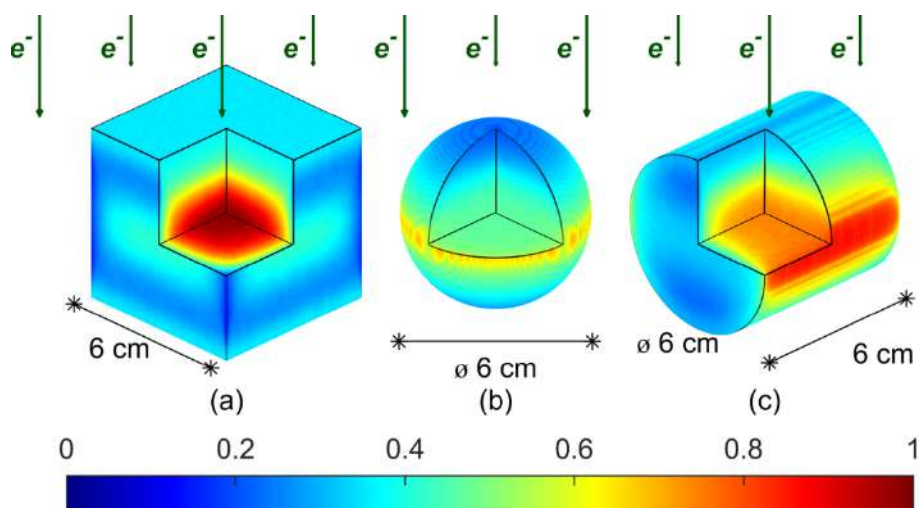
В таблице 3.2 приведены значения весовых коэффициентов w_i , соответствующих толщине пластины i (мм) из комбинации пластин толщиной от 5.5 мм до 9.5 мм, обеспечивающей максимально возможную однородность облучения биообъекта $L_{\text{объекта}}$ для заданной энергии электронов.

Таблица 3.2 — Весовые коэффициенты w_i комбинации пластин для энергии электронов от 5 до 10 МэВ, нормированные на значение весового коэффициента облучения без пластины

E_e , МэВ	$w_{0,0}$	$w_{5,5}$	$w_{6,0}$	$w_{6,5}$	$w_{7,0}$	$w_{7,5}$	$w_{8,0}$	$w_{8,5}$	$w_{9,0}$	$w_{9,5}$	$L_{\text{объекта}}$, мм
5	1	0.38	0.02	-	-	-	-	-	-	-	20
6	1	-	-	0.33	0.03	-	-	-	-	-	24
7	1	-	-	-	-	0.11	0.20	-	-	-	28
8	1	-	-	-	-	-	-	0.03	0.26	-	32
9	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.27	36
10	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.23	40

Из таблицы видно, что в формировании суммарного распределения дозы используется не больше четырех пластин, причем сумма весовых коэффициентов не превышает 1.4, т. е. время радиационной обработки при использовании данного метода не претерпевает значительного увеличения в сравнении со схемой облучения без пластин. Следует отметить, что предложенный метод позволяет подобрать оптимальную комбинацию пластин, обеспечивающую максимальную равномерность дозы для любого спектра пучка. Максимально возможная равномерность дозы 0,98 достигается для объектов толщиной до $L_{\text{объекта}} = 3,5$ см, облучаемых электронами с энергией 10 МэВ [375].

Рассчитано, что дополнительное размещение комбинации пластин-модификаторов позволяет увеличить однородность распределения поглощенной дозы K'_1 для объектов в форме параллелепипеда, шара и цилиндра (рис.3.31).



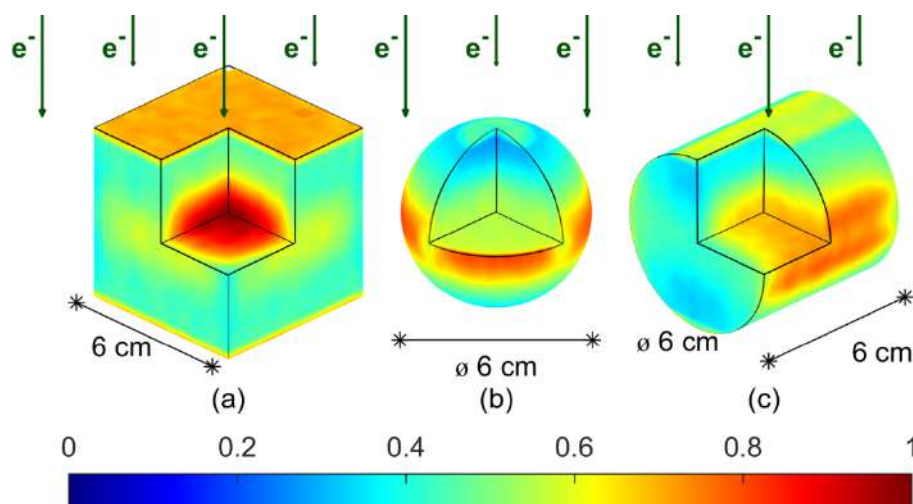


Рисунок 3.31 — Цветная 3D-карта распределения относительной поглощенной дозы, нормированной на максимальное значение дозы по глубине водных фантомов в форме параллелепипеда с ребром 6 см, сферы $\varnothing$ 6 см и цилиндра $\varnothing$ 6 см с высотой 6 см при двустороннем облучении электронами с энергией $E_e = 10$ МэВ без размещения пластин (а) и при дополнительном размещении пластин (б). Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Так, при двустороннем облучении электронами с $E_e = 10$ МэВ для параллелепипеда с ребром 6 см, сферы диаметром 6 см, цилиндра диаметром 6 см и длиной 6 см размещение комбинации модификаторов увеличивает степень однородности распределения дозы K'_1 по объему объектов с 0,33 до 0,53 для параллелепипеда, с 0,29 до 0,4 для сферы и с 0,33 до 0,51 для (рис.3.5а,б).

Таким образом, разработан алгоритм планирования радиационной обработки биологических объектов, позволяющий при заданных физических характеристиках биологического объекта ($L_{\text{объекта}}$, $\rho_{\text{объекта}}$, форма объекта) рассчитать оптимальные характеристики радиационной обработки (тип источника (электроны/тормозное излучение/гамма-излучение, максимальная энергия тормозных фотонов в спектре/энергия электронов $F(E)$, комбинация пластин для электронов), при которых для биологического объекта достигается требуемая однородность распределения поглощенной дозы K'_1 .

Алгоритм планирования радиационной обработки пучками электронов биообъектов

Разработанный алгоритм «DEMETRA by IRT» [376] позволяет для заданных параметров обработки D (планируемая интегральная доза, поглощенная объектом), B (длина объекта), $L_{\text{объекта}}$ (толщина объекта) и m (масса объекта) рассчитать оптимальные параметры работы ускорителя, при которых достигается максимальная скорость обработки: W (ширина развертки), E_e (энергия электронов), T (период развертки), $F_{\text{разв}}$ (частота развертки пучка), $F_{\text{скан}}$ (частота сканирования пучка), $v_{\text{конв}}$ (скорость конвейера), I (ток ускорителя), а также

определить необходимость двустороннего облучения. В основе алгоритма лежат рассчитанные аналитические зависимости, связывающие характеристики пучка электронов и дозу, поглощенную объектом. Блок-схема работы алгоритма приведена на рисунке 3.32. Для таких-то входных характеристик (D , B , $L_{\text{объекта}}$ и m) предлагается одностороннее или двустороннее облучение объекта, а также для выбранной схемы установки рассчитывается параметры работы ускорителя W , E_e , T , $F_{\text{разв}}$, $F_{\text{скан}}$, $v_{\text{конв}}$, I .



Рисунок 3.32 — Блок-схема алгоритма расчета параметров облучения на ускорителе электронов с максимальной энергией пучка 10 МэВ.

Расчет глубинных дозовых распределений для полученных параметров работы ускорителя возможно провести с помощью системы «DosePreview by IRT» [377], в основе которой лежит предварительно рассчитанная с использованием инструментария Geant4 база данных глубинных дозовых распределений, создаваемых в воде моноэнергетическими электронами с энергией от 0.1 МэВ до 20 МэВ с шагом 0.1 МэВ. Входными данными для системы служит энергетический спектр излучения $F(E)$, в качестве выходных данных выступает глубинное дозовое распределение $D = \sum_{i=1}^n N(E_i) D_i$, где n — количество энергий электронов с шагом 0.1 МэВ спектре, $N(E_i)$ — вес энергии E_i в спектре, D_i — предварительно рассчитанное глубинное дозовое распределение, создаваемое электронами с энергией E_i .

Таким образом, разработан алгоритм планирования радиационной обработки биологических объектов, позволяющий при заданных физических характеристиках

биологического объекта ($L_{\text{объекта}}$, $\rho_{\text{объекта}}$, форма объекта) рассчитать оптимальные характеристики радиационной обработки (тип источника (электроны/тормозное излучение/гамма-излучение, максимальная энергия тормозных фотонов в спектре/энергия электронов $F(E)$, комбинация пластин для электронов), при которых для биологического объекта достигается требуемая однородность распределения поглощенной дозы K'_1 .

Решение обратной задачи восстановления неизвестных спектральных характеристик пучков электронов

Необходимым условием эффективного облучения биообъектов является полная информация о пространственном распределении поглощенной дозы в облучаемом объекте, которое определяется как свойствами облучаемого объекта (т.е. геометрией, элементным составом, плотностью), так и параметрами источника, в первую очередь энергетическим спектром пучка. Современные подходы к определению энергетических спектров ускорителей основаны на прямом измерении энергии электронов с помощью специального оборудования и на косвенных методах, основанных на реконструкции спектров по экспериментально измеренным данным.

Косвенный метод реконструкции энергетического спектра основан на решении интегрального уравнения Фредгольма первого рода, которое можно записать следующим образом:

$$D(x) = \int_0^{E_{\max}} f(E) d(x, E) dE, \quad (3.27)$$

где $D(x)$ — распределение некоторых параметров, таких, как поглощенный заряд, доза, флюенс, плотность потока, по параметру x (глубина, угол и т.д.); $d(x, E)$ — распределение тех же параметров для моноэнергетического пучка с энергией E ; $f(E)$ — энергетический спектр.

Обычно это уравнение сводится к системе линейных алгебраических уравнений путем аппроксимации непрерывного спектра $f(E)$ линейной комбинацией базисных функций $F_j(E)$ с a^j в качестве весов и аппроксимации распределения $D(x)$ дискретным набором значений D^i в точках x_i . Соответствующая система линейных алгебраических уравнений имеет вид:

$$D^i = \sum_{j=1}^N d^{i,j} a^j. \quad (3.28)$$

Здесь $d^{i,j}$ — параметр в точке x_i , создаваемый электронным пучком с энергетическим спектром $F_j(E)$.

Общим методом решения системы (3.28) является метод наименьших квадратов. Уравнение Фредгольма первого рода в общем случае является некорректно поставленной задачей, то есть решение уравнения может не существовать или их может быть несколько. Кроме того, решение системы (3.28) может сильно меняться при малых изменениях $D(x)$. Эти свойства интегрального уравнения переносятся на его дискретный аналог, что приводит

к нефизическим резко осциллирующим решениям, имеющим мало общего с истинным спектром пучка, как показано на рис. 3.33а.

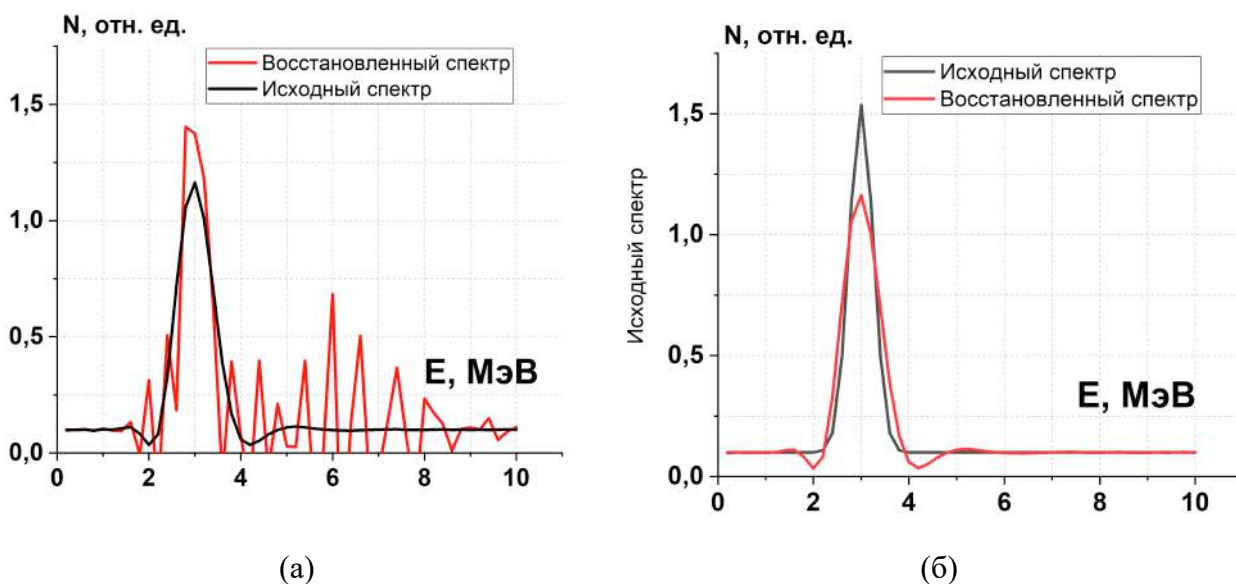


Рисунок 3.33 — а — Появление нефизических колебаний в восстановленном спектре; б — Сглаживание пиков в результате регуляризации. Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4 и программы MatLab.

Для устранения этого явления используется процедура регуляризации [378,379], которая заключается в модификации исходной задачи, превращающей некорректно поставленную задачу в корректно поставленную. Существует два типа регуляризации: первый тип модифицирует уравнение; второй тип модифицирует допустимые решения. Простейшим примером регуляризации второго типа является наложение условия неотрицательности. Такая регуляризация используется в задачах, в которых неотрицательность неизвестной величины гарантируется ее физической природой, например, массой, спектром, энергией и т.д. Первый метод обычно заключается во введении регуляризирующих операторов. Одним из наиболее популярных методов является регуляризация L_2 , более известная как регуляризация Тихонова [380]:

$$L_2 = \sum_i (D^i - \sum_j d^{i,j} a^j)^2 + \alpha \theta[a^j], \quad (3.29)$$

где α — параметр регуляризации, $\theta[a^j]$ — оператор регуляризации.

Существует широкий спектр регуляризирующих операторов и значений параметров регуляризации. В общем случае, чем больше значение параметра регуляризации, тем меньше регуляризованная задача будет связана с нерегуляризованной, чем меньше значение, тем менее заметным будет эффект регуляризации. В простейшем случае регуляризирующий оператор представляет собой евклидову норму L_2 . Из практики известно, что для простейшего

регуляризирующего оператора наилучшие результаты дает метод остатков, который предписывает выбирать такие значения параметра регуляризации, при которых:

$$\sum_i (D^i - \sum_j d^{ij} a^j)^2 \approx \sigma^2 \|D^i\|^2, \quad (3.30)$$

где σ — относительная погрешность D^i .

Следует отметить, что регуляризация Тихонова с простейшим регуляризирующим оператором приводит к сглаживанию пиков спектра (рис. 3.33б), что может быть нежелательным. Это можно решить, например, модификацией регуляризирующего оператора [64]:

$$\theta[a^j] = \sum_j \log(a^j)^2. \quad (3.31)$$

Также можно разложить спектр на регулярную и сингулярную части:

$$f(E) = f_s(E) + f_r(E), \quad (3.32)$$

где $f_r(E)$ — регулярная, а $f_s(E)$ — сингулярная составляющая:

$$f_s(E) = \beta e^{-\frac{(E-\mu)^2}{\Delta^2}}. \quad (3.33)$$

Такое разложение позволяет рассматривать две части спектра отдельно и может привести к улучшению результатов. Разработанный алгоритм позволяет восстанавливать спектр пучка электронов и глубинные распределения поглощенных доз в целевых материалах по экспериментально измеренным распределениям в эталонных материалах с точностью не менее 90%.

Выводы к Главе 3

1. Эффективность повреждения мишеней в биообъекте при радиационной обработке определяется совокупностью факторов, главными из которых являются: равномерность распределения поглощенной дозы по объему объекта и величина дозы $D^{\text{крит}}$, при которой повреждается заданная доля мишеней в объекте; доля однородных мишеней, получивших заданное количество актов ионизации, приводящих к повреждению мишени; гетерогенность радиобиологической чувствительности мишеней в статистическом ансамбле.
2. Распределение спектральных характеристик пучка, ионизационных потерь и флюенса первичных низкоэнергетичных электронов, а также природа, характерные размеры мишени в биологических объектах, их чувствительность к дозе облучения формируют пространственную нелинейность радиобиологического эффекта от дозы.
3. Полученные аналитические зависимости позволяют оценить оптимальную толщину биообъекта с заданной плотностью, для которой обеспечивается требуемая однородность распределения поглощенной дозы по глубине объекта при облучении

электронами с энергией до 10 МэВ, тормозными фотонами с энергией до 5 МэВ и гамма-излучением, генерируемым радиоактивными источниками ^{60}Co , ^{137}Cs . Полученные аналитические зависимости могут быть положены в основу разработки системы планирования радиационной обработки биологических объектов.

Глава 4. Оптимизация параметров радиационной обработки для инактивации микроорганизмов

Для установления критериев выбора нижней границы оптимального диапазона доз радиационной обработки биообъектов исследовалось влияние физических параметров излучения и микробиологических характеристик биообъекта на эффективность $\varepsilon_{\text{цм}}$ подавления целевых мишеней (бактерий, грибов, фитопатогенов различных штаммов). По результатам исследования экспериментальные зависимости концентраций микроорганизмов от дозы облучения аппроксимировались функцией $\varepsilon_{\text{цм}}(D)$, рассчитанной по формуле (1), оценивалось влияние физических параметров излучения и характеристик биообъекта на параметры эффективности $\varepsilon_{\text{цм}}$. Также влияние различных характеристик радиационной обработки на эффективность $\varepsilon_{\text{цм}}$ оценивалось по значению D_{10} — дозы, при воздействии в которой количество микроорганизмов снижается в 10 раз.

4.1 Экспериментальные результаты влияния физических характеристик излучения (доза; мощность дозы) на эффективность инактивации микроорганизмов

Воздействие ускоренных электронов при различных мощностях дозы на микробиологические показатели биообъекта

В результате экспериментального исследования по облучению электронами с $E_{\text{max}}^{\text{эл}}=1$ МэВ гомогената индейки с начальным количеством жизнеспособных клеток $N_0 = 24,2 \cdot 10^6$ КОЕ/г было установлено, что при мощностях дозы 1 Гр/с, 10 Гр/с и 100 Гр/с концентрация жизнеспособных микроорганизмов в мясе индейки нелинейно уменьшалась с увеличением дозы облучения в диапазоне доз от 250 Гр до 6000 Гр. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$. На рис. 4.1 показана зависимость концентрации жизнеспособных клеток N в образцах от дозы через 3 дня после облучения электронами при мощностях дозы 1 Гр/с, 10 Гр/с и 100 Гр/с.

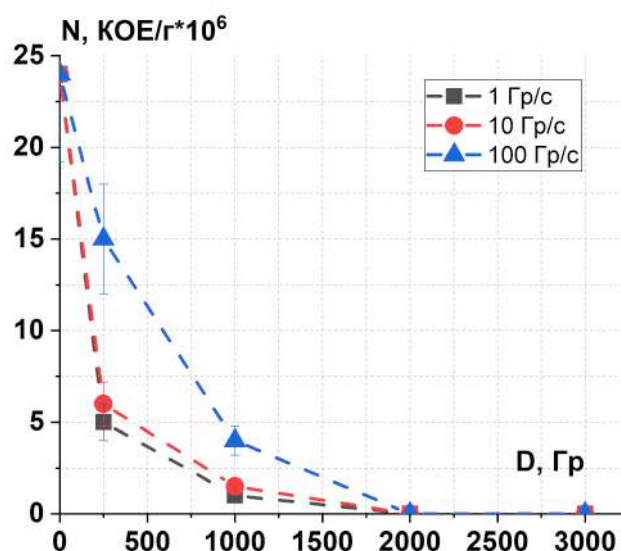


Рисунок 4.1 — Экспериментальные зависимости количества жизнеспособных клеток N (КОЕ/г) в гомогенате индейки после воздействия электронами с мощностью дозы 1 Гр/с, 10 Гр/с и 100 Гр/с от дозы облучения.

Из рис. 4.1 видно, что при облучении в дозах до 500 Гр количество микроорганизмов N в 2,5-3 раза ниже при обработке с мощностью дозы 1 Гр/с и 10 Гр/с по сравнению с обработкой с мощностью 100 Гр/с. С увеличением дозы не выявлено статистических различий в количестве микроорганизмов при обработке с мощностями доз в диапазоне от 1 Гр/с до 100 Гр/с. Расчеты показали, что значения дозы D_{10} составили (470 ± 42) Гр, (530 ± 51) Гр и (1288 ± 173) Гр при обработке с мощностью дозы 1 Гр/с, 10 Гр/с и 100 Гр/с, соответственно. Анализ литературы показал, что биологические объекты чувствительны к мощности дозы [381]. Большая эффективность повреждения микроорганизмов при мощностях 1 Гр/с и 10 Гр/с по сравнению со 100 Гр/с в диапазоне доз от 500 Гр может быть связана с увеличением времени обработки при меньших мощностях дозы, что влияет на эффективность повреждения микроорганизмов. При дальнейшем увеличении дозы большее влияние оказывает значение дозы.

На рисунке 4.2 представлены зависимости эффективности инактивации микроорганизмов в гомогенате индейки от дозы облучения $\varepsilon_{\text{цм}}(D)$ при обработке с мощностями дозы 1 Гр/с, 10 Гр/с и 100 Гр/с. Аппроксимация экспериментальных данных, представленных на рисунке 4.1, приведена по формуле:

$$\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot (1 - e^{-\alpha D}). \quad (4.1)$$

С использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) показано, что для начального количества жизнеспособных микроорганизмов $24,2 \cdot 10^6$ КОЕ/г в гомогенате индейки в дозе 250 Гр эффективность повреждения микроорганизмов $\varepsilon_{\text{цм}}$ при

мощности дозы 1 Гр/с и 10 Гр/с статистически значимо выше ($p \leq 0,05$) эффективности их повреждения при мощности дозы 100 Гр/с (рис. 4.2). Дальнейшее увеличение дозы выравнивает эффективности инактивации целевых мишеней.

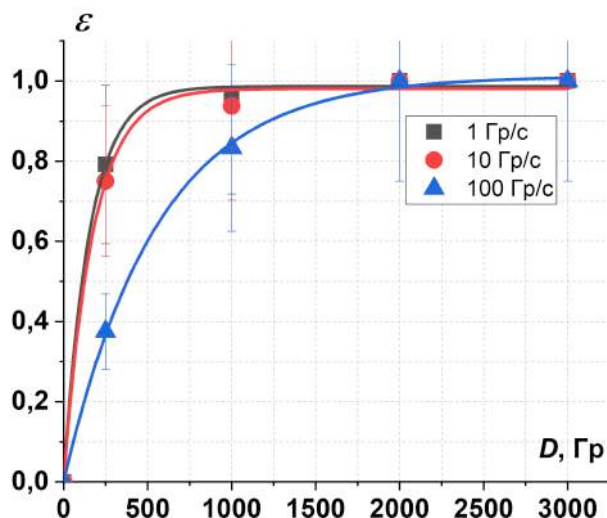


Рисунок 4.2 — Сравнение эффективности $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}$ инактивации микроорганизмов в гомогенате индейки от дозы облучения ускоренными электронами при мощности дозы 1 Гр/с (черная кривая), 10 Гр/с (красная кривая) и 100 Гр/с (синяя кривая). Аппроксимация экспериментальных данных по формуле (4.1) дана с коэффициентами: 1 Гр/с — $K'_1 = 0,98 \pm 0,01$, $\alpha = (0,0060 \pm 0,0005) \text{ (Гр}^{-1}\text{)}$, $R^2 = 0,99$; 10 Гр/с — $K'_1 = 0,98 \pm 0,03$, $\alpha = (0,0057 \pm 0,0006) \text{ (Гр}^{-1}\text{)}$, $R^2 = 0,99$; 100 Гр/с — $K'_1 = 0,99 \pm 0,01$, $\alpha = (0,0018 \pm 0,0003) \text{ (Гр}^{-1}\text{)}$, $R^2 = 0,99$.

Таким образом, при облучении биообъектов с начальным количеством жизнеспособных клеток $24,2 \cdot 10^6$ КОЕ/г мощность дозы в диапазоне доз до 500 Гр влияет на эффективность $\varepsilon^{\text{цм}}$ при радиационной обработке [382], что необходимо учитывать при выборе оптимальных характеристик и режимов работы источника излучения для подавления широкого спектра микроорганизмов.

4.2 Сравнение эффективности инактивации микроорганизмов в биологическом объекте при облучении пучком электронов и рентгеновским излучением

Выбор типа источника и его энергетического спектра является определяющим фактором для повышения эффективности инактивации микроорганизмов как целевых биологических мишеней радиационного воздействия. Были проведены исследования по влиянию ускоренных электронов и рентгеновского излучения на эффективность $\varepsilon^{\text{цм}}$ в различных биообъектах [383].

Охлажденное мясо индейки

В работе проводилось облучение гомогената индейки с начальным количеством жизнеспособных клеток $(1 \pm 0,2) \cdot 10^4$ КОЕ/г ускоренными электронами с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ и рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент}=26$ кэВ при одной и той же мощности дозы 2 Гр/с. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$. Установлено, что количество микроорганизмов в гомогенате снижалось с увеличением дозы облучения независимо от типа источника (рис. 4.3).

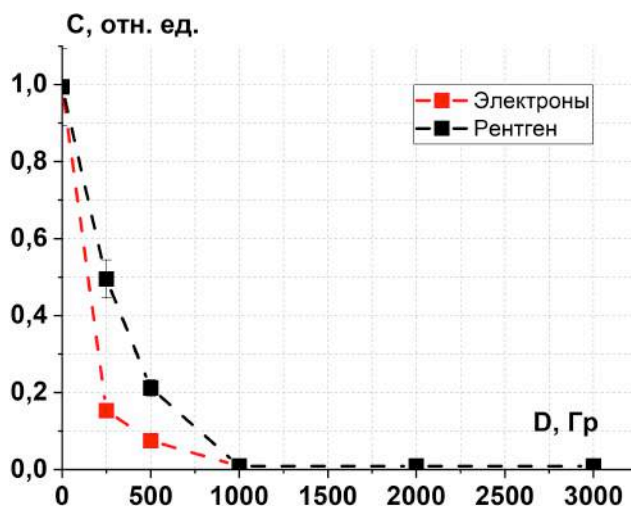


Рисунок 4.3 — Зависимость относительного количества жизнеспособных микроорганизмов в гомогенате индейки, нормированного на начальное количество микроорганизмов, от дозы рентгеновского (черная кривая) и электронного (красная кривая) излучения.

На рисунке 4.4 представлена зависимость $\varepsilon^{цм}(D)$, рассчитанная по формуле (1). Из рисунка видно, что в диапазоне доз от 250 Гр до 800 Гр эффективность воздействия $\varepsilon_{эл}^{цм}$ ускоренных электронов с максимальной энергией $E_{max}^{эл}=1$ МэВ на микроорганизмы в биообъекте выше в 2-5 раз по сравнению с эффективностью воздействия рентгеновским излучением $\varepsilon_{рент}^{цм}$ с $E_{max}^{рент}=26$ кэВ [338,384]. С увеличением дозы облучения эффективность инактивации микроорганизмов $\varepsilon_{рент}^{цм}$ возрастает до уровня эффективности $\varepsilon_{эл}^{цм}$ (рис. 4.4). С использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) показано, что для начального количества жизнеспособных микроорганизмов 10^4 КОЕ·г⁻¹ в гомогенате при обработке в мощности дозы 2 Гр·с⁻¹ в диапазоне доз 250–800 Гр эффективность повреждения микроорганизмов $\varepsilon^{цм}$ электронами статистически значимо выше ($p \leq 0,05$) эффективности их повреждения рентгеновским излучением (рис. 4.4).

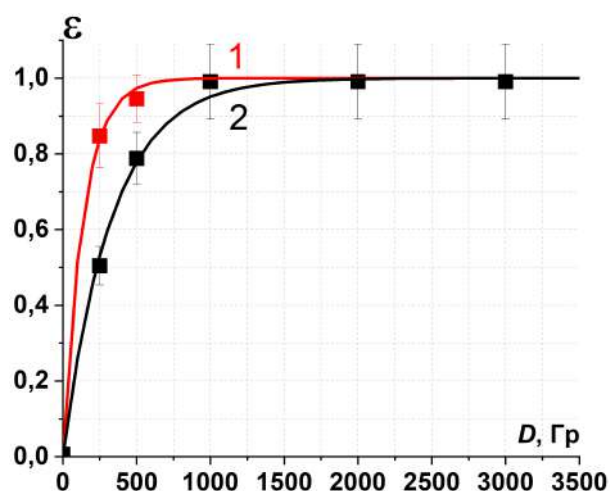


Рисунок 4.4. — Сравнение экспериментальных (символы) и рассчитанных (линии) зависимостей эффективности повреждения микроорганизмов $\varepsilon^{\text{IM}}(D)$ в гомогенате индейки при облучении пучком электронами (кривая 1) и рентгеновским излучением (кривая 2). Аппроксимация экспериментальных данных по формуле (4.1) выполнена с коэффициентами: электроны – $K_1 = 0,99 \pm 0,01$, $\alpha = (0,0071 \pm 0,0003) \text{ Гр}^{-1}$, $R^2 = 0,99$; рентгеновское излучение – $K_1 = 0,96 \pm 0,03$, $\alpha = (0,0031 \pm 0,0001) \text{ Гр}^{-1}$, $R^2 = 0,99$.

Охлажденное мясо форели

В работе проводилось облучение гомогената форели с начальным количеством жизнеспособных клеток $N_0 = (1 \pm 0,2) \cdot 10^6$ КОЕ/г ускоренными электронами с $E_{\text{max}}^{\text{эл}} = 1$ МэВ и рентгеновским излучением с $E_{\text{max}}^{\text{рент}} = 26$ кэВ при одной и той же мощности дозы 2 Гр/с. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$. Установлено, что как и для индейки, количество микроорганизмов в гомогенате форели снижалось с увеличением дозы облучения независимо от типа источника (рис. 4.5) [385].

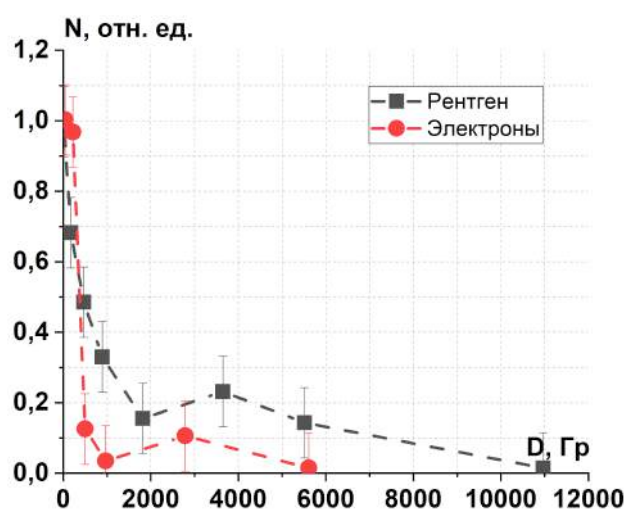


Рисунок 4.5 — Зависимость относительного количества жизнеспособных микроорганизмов в охлажденном мясе форели, нормированного на начальное количество жизнеспособных клеток, от дозы рентгеновского (черная кривая) и электронного (красная кривая) излучения.

На рисунке 4.6 представлена зависимость $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}(D)$, рассчитанная по формуле (1). Из рисунка видно, что в диапазоне доз от 250 Гр до 1000 Гр эффективность воздействия $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}$ ускоренных электронов с максимальной энергией $E_{\text{max}}^{\text{эл}} = 1$ МэВ на микроорганизмы в форели выше примерно в 1,2-2 раза по сравнению с эффективностью воздействия рентгеновским излучением $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}$ с $E_{\text{max}}^{\text{рент}} = 26$ кэВ. С использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) показано, что для начального количества жизнеспособных микроорганизмов 10^6 КОЕ·г⁻¹ в гомогенате форели при обработке в мощности дозы 2 Гр·с⁻¹ в диапазоне доз 250–1000 Гр эффективность повреждения микроорганизмов $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}$ электронами статистически значимо выше ($p \leq 0,05$) эффективности их повреждения рентгеновским излучением (рис. 4.4). С увеличением дозы эффективность инактивации микроорганизмов $\varepsilon_{\text{рент}}^{\text{цм}}$ возрастает до уровня эффективности $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}$ [386].

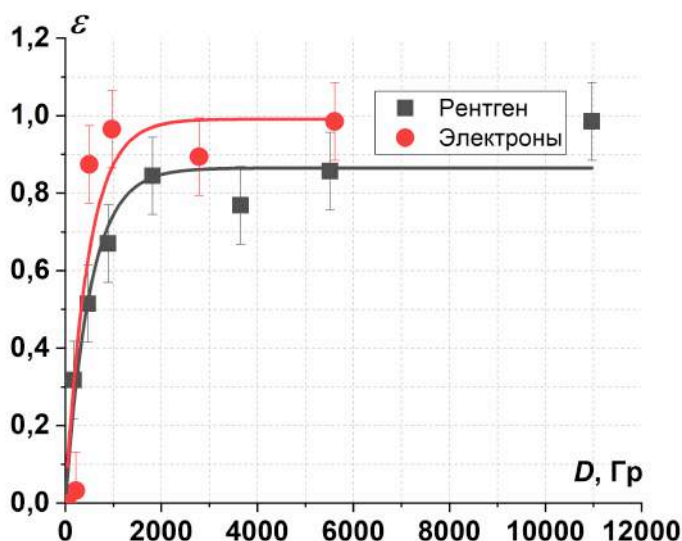


Рисунок 4.6 — Сравнение эффективности $\varepsilon_{\text{эл}}^{\text{цм}}$ инактивации микроорганизмов в индейке от дозы облучения ускоренными электронами (красная кривая) и $\varepsilon_{\text{рент}}^{\text{цм}}$ рентгеновским излучением (черная кривая) при мощности дозы 2 Гр/с. Аппроксимация экспериментальных данных по формуле (4.1) дана с коэффициентами $K_1^{\text{эл}} = 0,99 \pm 0,01$, $\alpha^{\text{эл}} = (0,0021 \pm 0,0006)$ (Гр⁻¹), $R^2 = 0,95$ для электронов, $K_1^{\text{рент}} = 0,86 \pm 0,04$, $\alpha^{\text{рент}} = (0,0015 \pm 0,0004)$ (Гр⁻¹) $R^2 = 0,97$ для рентгеновского излучения.

Для объяснения различия в эффективности воздействия ускоренных электронов и рентгеновского излучения были построены распределения поглощенной дозы по глубине облучаемого слоя мяса индейки (рис. 4.7а). В случае облучения ускоренными электронами толщина слоя составила 2 мм, при облучении рентгеновским излучением — 7 мм. Из рисунка

видно, что более высокая эффективность инактивации микроорганизмов электронами при $D \geq D_{\text{крит}}$ (на рисунке $D_{\text{крит}}$ изображена условно) связана с большей однородностью распределения поглощенной дозы $K_1^{\text{эл}} = (0,62 \pm 0,03)$ отн. ед. по сравнению с рентгеновским излучением $K_1^{\text{рент}} = (0,07 \pm 0,01)$ отн. ед. (рис.4.7а). С увеличением дозы D и/или максимальной энергии фотонов $E_{\text{max}}^{\text{рент}}$ эффективность инактивации микроорганизмов $\varepsilon^{\text{рент}}$ возрастает до уровня эффективности $\varepsilon^{\text{эл}}$ (рис. 4.7б).

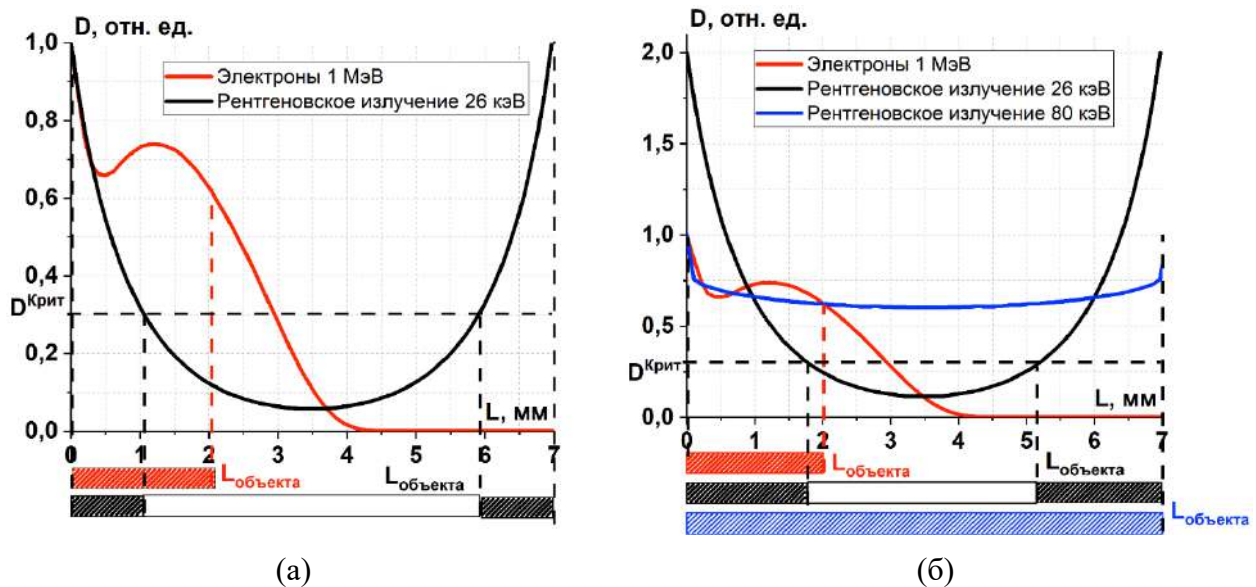


Рисунок 4.7 — а — Распределения поглощенной дозы, нормированные на максимальное значение дозы по глубине водного фантома при облучении электронами с $E_{\text{max}}^{\text{эл}}=1$ МэВ (красная кривая) и рентгеновским излучением с $E_{\text{max}}^{\text{рент}}=26$ кэВ (черная кривая) в дозе D ; б — при облучении рентгеновским излучением с $E_{\text{max}}^{\text{рент}}=26$ кэВ в дозе $2D$ (черная кривая) и при облучении рентгеновским излучением в дозе D с $E_{\text{max}}^{\text{рент}}=80$ кэВ (синяя кривая). Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Таким образом, эффективность радиационной обработки зависит от фактора K_l , который определяется коэффициентом однородности распределения поглощенной дозы, K_1' и значением дозы $D_{\text{крит}}$, необходимой для повреждения биологической мишени. До облучения биообъекта в дозе, при которой с учетом значения коэффициента K_1' не все целевые биологические мишени получают дозу, необходимую для их повреждения, влияние фактора K_1' является определяющим для результирующей эффективности ε . С увеличением дозы увеличивается критическая толщина биообъекта $L_{\text{крит}}$, на которой все целевые мишени получают дозу $D \geq D_{\text{крит}}$, и далее определяющим фактором, влияющим на эффективность K , является доза облучения.

4.3 Экспериментальные результаты влияния свойств биообъекта (начальное количество жизнеспособных микроорганизмов; разный состав питательных веществ; тип микроорганизмов) на эффективность подавления микроорганизмов

Начальная концентрация бактерий *Escherichia coli* в модельных системах

Проведено исследование по влиянию ускоренных электронов с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ на эффективность бактерий *Escherichia coli* в физиологическом растворе при различной начальной концентрации $N_0 = 10^3 \frac{КОЕ}{г}, 10^4 \frac{КОЕ}{г}, 10^5 \frac{КОЕ}{г}$. Облучение образцов проводилось в диапазоне доз от 150 Гр до 4000 Гр. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

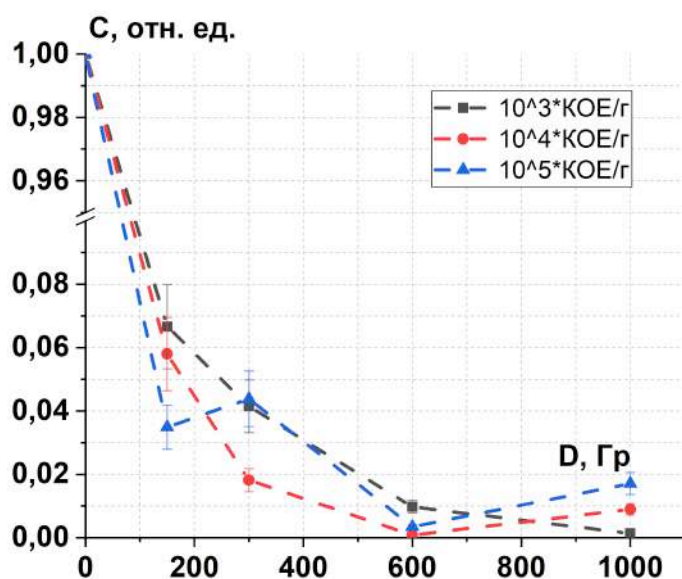


Рисунок 4.8 — Зависимости относительной концентрации *Escherichia coli* от дозы облучения для различных начальных концентраций 10^3 КОЕ/г (черная кривая), 10^4 КОЕ/г (красная кривая) и 10^5 КОЕ/г (синяя кривая).

Экспериментально установлено, что в диапазоне доз до 200 Гр с увеличением начальной концентрации бактерий *Escherichia coli* с 10^3 КОЕ/г до 10^5 КОЕ/г значение D_{10} увеличивается от (208 ± 31) Гр до (564 ± 73) Гр, соответственно. При начальной концентрации 10^4 КОЕ/г значение D_{10} составило (330 ± 63) Гр. В диапазоне доз свыше 200 Гр не наблюдалось статистически значимых различий в количестве жизнеспособных клеток при различной начальной концентрации бактерий.

Разный состав питательных веществ

Для исследования влияния различного содержания влаги и питательных веществ в биообъекте на эффективность повреждения целевых мишеней были подготовлены образцы гомогената форели с подсевом бактерий *E. coli* при концентрации 10^6 КОЕ/г, а также образцы суспензий бактерий *E. coli* в физиологическом растворе в концентрации 10^6 КОЕ/г. Облучение проводилось на ускорителе электронов с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ в диапазоне доз от 100 Гр до 5000 Гр. Мощность дозы составляла 2 Гр/с. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

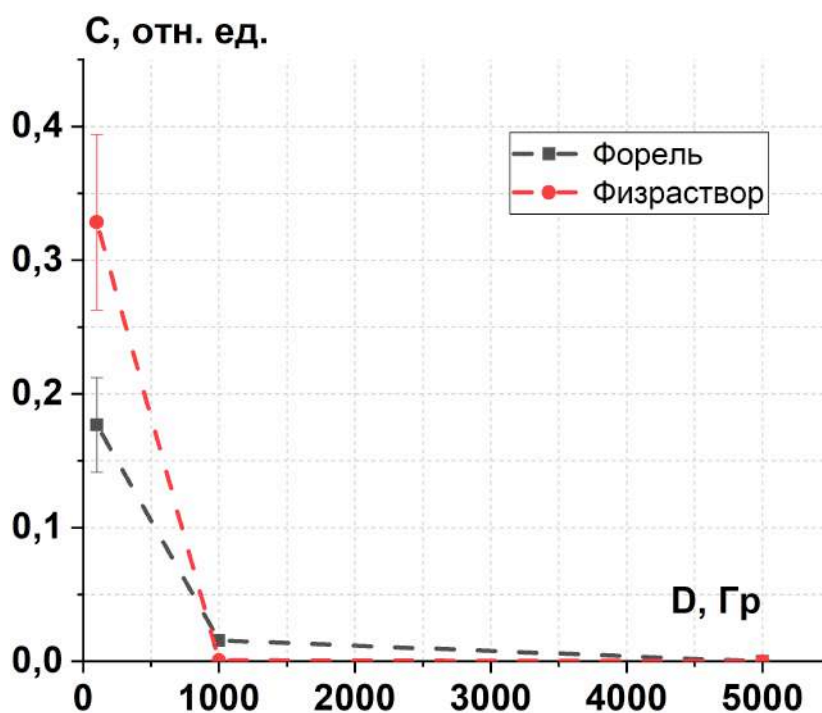


Рисунок 4.9 — Зависимость относительной концентрации бактерий *E. coli* в физиологическом растворе (красная кривая), *E. coli*, инокулированные в гомогенат форели (черная кривая) от дозы облучения.

Было получено, что выживаемость бактерий различается для продуктов с разным содержанием влаги. Так, при облучении гомогената форели снижение количества жизнеспособных бактерий *E. coli* в 10 раз происходит при дозе $D_{10}=(0,64 \pm 0,13)$ кГр, а при облучении *E. coli* в физиологическом растворе доза D_{10} составляет $(0,33 \pm 0,02)$ кГр. При дозе облучения 5000 Гр во всех образцах жизнеспособных бактерий выявлено не было.

С увеличением содержания воды увеличивается количество свободных радикалов — продуктов радиолиза воды при облучении, которые в дальнейшем вступают в реакции с биологическими мембранами клеток, приводящие к возникновению пор на мембранах и гибели микроорганизмов. Таким образом, для биообъекта с большим содержанием влаги доза, необходимая для подавления целевых мишеней будет ниже, чем доза, необходимая для подавления тех же микроорганизмов в биообъекте с меньшим содержанием влаги. Реальный

биообъект, мясо рыбы или птицы, обладает гетерогенностью, которая препятствует диффузии радикалов, что также влияет на эффективность косвенного воздействия излучения в отношении подавления микроорганизмов.

Тип микроорганизмов (бактерий *Escherichia coli* и грибы *Aspergillus fumigatus*)

Данные по результатам микробиологического исследования влияния ускоренных электронов в различных дозах на количество жизнеспособных клеток бактерий *Escherichia coli* представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 — Концентрация жизнеспособных клеток бактерий *Escherichia coli* при различных начальных концентрациях и дозах облучения

К	150 Гр	300 Гр	600 Гр	1000 Гр	4000 Гр
N_0 , КОЕ/г	N, КОЕ/г				
$(4.2 \pm 0.4) \cdot 10^3$	$(0.28 \pm 0.03) \cdot 10^3$	$(0.18 \pm 0.03) \cdot 10^3$	$(0.010 \pm 0.005) \cdot 10^3$	НО ¹	НО
$(4.3 \pm 0.6) \cdot 10^4$	$(0.3 \pm 0.5) \cdot 10^4$	$(0.08 \pm 0.06) \cdot 10^4$	$(0.040 \pm 0.007) \cdot 10^4$	НО	НО
$(5.0 \pm 0.7) \cdot 10^5$	$(0.18 \pm 0.03) \cdot 10^5$	$(0.22 \pm 0.03) \cdot 10^5$	$(0.09 \pm 0.01) \cdot 10^5$	$(0.020 \pm 0.005) \cdot 10^5$	НО

Из данных таблицы 3 видно, что с увеличением дозы облучения происходит нелинейное снижение концентрации жизнеспособных клеток в суспензиях. Установлено, что с увеличением начальной концентрации бактерий с 10^3 КОЕ/г до 10^5 КОЕ/г значение D_{10} увеличивается от (200 ± 3) Гр до (560 ± 7) Гр, соответственно. Таким образом, при увеличении начальной концентрации микроорганизмов в 10 раз, доза, необходимая для уменьшения популяции бактерий в 10 раз, увеличивается в 1.5 — 2 раза.

Данные по результатам микробиологического исследования влияния ускоренных электронов в различных дозах на количество грибов *Aspergillus fumigatus* представлены в таблице 4.2. После облучения грибы высевались на различные питательные среды с целью оценки влияния среды на выживаемость микроорганизмов после радиационной обработки.

Таблица 4.2 — Концентрация жизнеспособных клеток грибов *Aspergillus fumigatus* при различных дозах облучения

Среда	К	250 Гр	500 Гр	1000 Гр	1500 Гр	2000 Гр	3000 Гр
Сабуро	$(3.7 \pm 0.3) \cdot 10^6$	$(3.1 \pm 0.3) \cdot 10^6$	$(1.1 \pm 0.2) \cdot 10^6$	$(0.58 \pm 0.06) \cdot 10^6$	$(0.22 \pm 0.03) \cdot 10^6$	$(0.12 \pm 0.02) \cdot 10^6$	$(0.10 \pm 0.01) \cdot 10^6$
МС среда*	$(2.6 \pm 0.2) \cdot 10^6$	$(2.1 \pm 0.1) \cdot 10^6$	$(0.81 \pm 0.03) \cdot 10^6$	$(0.42 \pm 0.03) \cdot 10^6$	$(0.16 \pm 0.01) \cdot 10^6$	$(0.06 \pm 0.01) \cdot 10^6$	$(0.05 \pm 0.01) \cdot 10^6$

МС среда* — солевой фон среды Чапека-Докса с заменой сахарозы на 2% коллаген

¹ НО — не обнаружен

Из данных таблицы 4.2 видно, что облучение в максимальной дозе 3000 Гр не приводит к полному ингибированию роста гриба *Aspergillus fumigatus*, при облучении в диапазоне доз от 250 Гр до 3000 Гр происходит снижение концентрации жизнеспособных клеток гриба по сравнению с контрольными необлученными образцами как при росте на богатой углеводами среде Сабууро, так и на модифицированной среде Чапека-Докса. Однако при облучении в дозах от 250 до 1500 Гр снижение количества КОЕ при культивировании на трудно утилизируемом субстрате сравнимо с контрольными значениями и составляет от 26 до 32%, дальнейшее увеличение дозы вызывает рост этого показателя в 1,5 раза. По-видимому, полученные результаты свидетельствуют о том, что при высоких дозах облучения нарушается синтез коллагенолитических протеаз грибом, за счет активности которых осуществляется рост микромицета на модифицированной среде.

На рисунке 4.10 представлены зависимости концентраций жизнеспособных клеток в суспензиях грибов, нормированные на начальные концентрации грибов, от дозы облучения. Из рисунка 4.10 видно, что статистически значимых различий в концентрациях жизнеспособных клеток, выращенных на разных питательных средах после облучения в различных дозах, обнаружено не было. Значения дозы D_{10} совпали в пределах погрешности измерений для обеих питательных сред и составили (1143 ± 93) Гр и (1094 ± 112) Гр для среды Сабууро и модифицированной среды Чапека-Докса, соответственно.

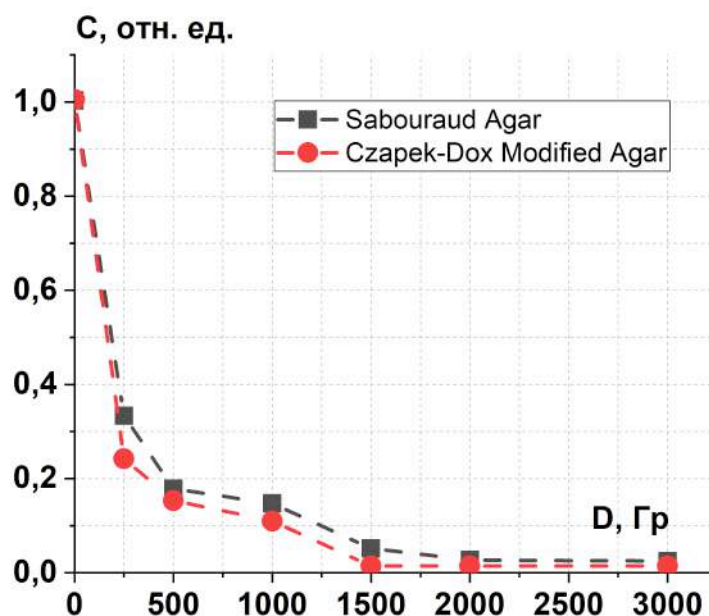


Рисунок 4.10 — Зависимость концентрации *Aspergillus fumigatus* от дозы облучения от дозы облучения D для различных питательных сред: среда Чапека-Докса (красная кривая), среда Сабууро (черная кривая).

В работах [387-391] по облучению гамма-излучением, генерируемым радиоизотопами ^{137}Cs и ^{60}Co , и ускоренными электронами свинины, курицы, куриного и говяжьего фарша

с содержанием бактерий *E.coli* в концентрациях от 10^5 КОЕ/г до 10^9 КОЕ/г значения D_{10} увеличивались от 220 Гр до 630 Гр в зависимости от типа продукта, его температуры хранения и начальной концентрации бактерий. В нашем исследовании доза D_{10} увеличивалась от 200 Гр до 560 Гр при увеличении начальной концентрации бактерий от 10^3 КОЕ/г до 10^5 КОЕ/г, что хорошо согласуется с данными других авторов.

В работе [392] при облучении бактерий *Escherichia coli* в физиологическом растворе с начальной концентрацией 10^5 КОЕ/г ускоренными электронами с энергией 10 МэВ значение D_{10} составило 270 Гр, что ниже почти в 2 раза по сравнению с результатами, полученными в данном исследовании, что может быть связано с различными значениями фактора однородности распределения поглощенной дозы K'_1 , различным энергетическим спектром электронов, различным распределением линейных потерь энергии и пространственным распределением актов ионизации в объеме облучаемых образцов.

В работе [393] по облучению гамма-излучением от радиоизотопа ^{60}Co двух штаммов грибов *Aspergillus alutaceus* и *Aspergillus flavus* с начальной концентрацией 10^5 КОЕ/г в физиологическом растворе значение дозы D_{10} составило 360 Гр и 520 Гр, соответственно, что меньше значений D_{10} , полученных в данном исследовании для начальной концентрации грибов 10^6 КОЕ/г, поскольку чем больше начальная концентрация грибов, тем большая доза необходима для подавления популяции грибов в 10 раз, что согласуется с результатами облучения бактерий, полученных в данном исследовании.

4.4. Кинетика изменения микробиологических параметров после обработки ускоренными электронами. Экспериментальные данные и математическая модель

Зависимости «доза-эффект» и «время-эффект»

Для оценки влияния дозы радиационной обработки на сроки хранения биообъектов был проведен цикл исследований по мониторингу количества жизнеспособных клеток в гомогенате индейки и форели в течение длительного периода при температуре 5°C после радиационной обработки ускоренными электронами в диапазоне доз 240–5600 Гр. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$ в течение 15 суток после облучения. На рис. 4.11 представлен график зависимости концентрации жизнеспособных клеток в гомогенате форели с начальным количеством жизнеспособных клеток $(6,6 \pm 1,8) \cdot 10^3$ КОЕ/г, облученного пучком электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ в диапазоне доз 240–5600 Гр, и для необлученных образцов гомогената в зависимости от времени после воздействия электронным излучением.

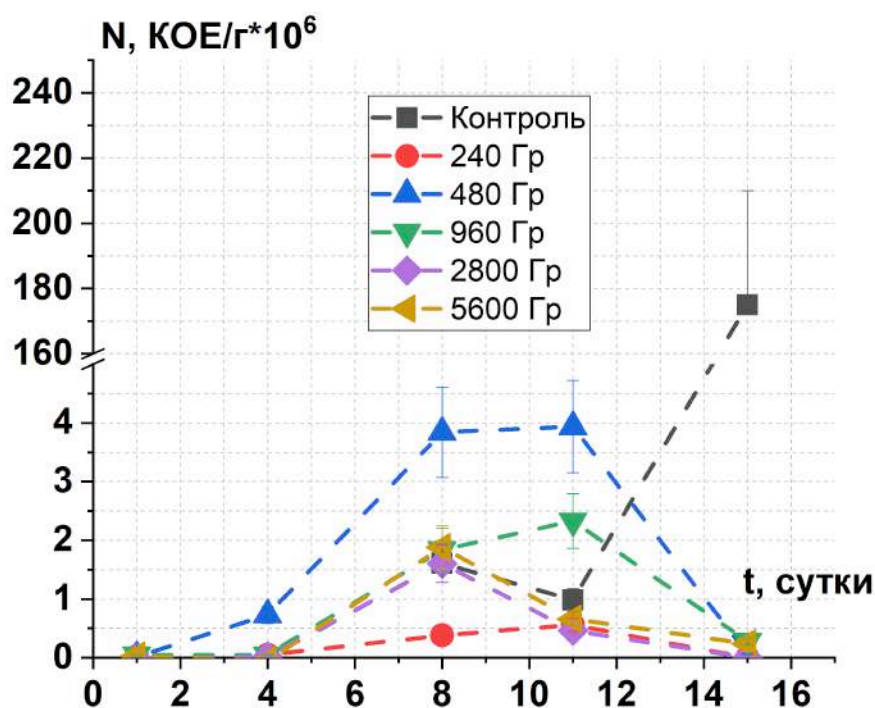


Рисунок 4.11 — Зависимость общей концентрации жизнеспособных клеток в облученных и контрольных образцах форели от времени после воздействия ускоренными электронами в различных дозах.

По результатам мониторинга микробиологических показателей гомогената форели было получено, что спустя 15 суток хранения образцов обсемененность необлученных образцов почти в 200 раз превысила предельно допустимый показатель концентрации микроорганизмов, в то время как показатели образцов, облученных в диапазоне доз (240 — 5600) Гр, лежали в пределах (10^5 — 10^6) КОЕ/г. Однако, с 8-ые по 11-ые сутки наблюдались относительные флуктуации количества жизнеспособных клеток в всех образцах. Морфологический анализ колоний, высеванных из необлученных и облученных образцов гомогената, показал наличие различных популяций микроорганизмов, а также изменения в диаметре колоний, начиная с дозы облучения 960 Гр. Развитие нескольких сообществ, обладающих различной степенью радиорезистентности к ионизирующему излучению и индивидуальными характеристиками в условиях ограниченного питательного ресурса гомогената происходит асинхронно, что объясняет колебания количества жизнеспособных клеток в облученных образцах во время хранения. Таким образом, зависимость общей концентрации жизнеспособных клеток в облученных и контрольных образцах от времени хранения носила немонотонный [392,393].

Математическое моделирование

Математическое описание поведения кривых выживаемости различных популяций бактерий в гомогенатах рыбного фарша, обработанного электронами в различных дозах,

базировалось на основе классической соревновательной модели Лотки-Вольтерра [394]. Исходя из немонотонного поведения экспериментальных зависимостей концентрации бактерий от времени после воздействия ионизирующим излучением (рис. 4.11), можно сделать предположение о наличии как минимум двух популяций микроорганизмов, присутствующих в рыбном фарше.

Пусть все бактерии первого вида N_1 могут взаимодействовать со всеми бактериями второго вида N_2 , тогда количество потенциальных взаимодействий бактерий пропорционально N_1N_2 . Взаимодействия могут иметь разные последствия для обеих популяций. Если бактерии являются симбионтами, то их взаимодействия взаимовыгодны и приведут к увеличению численности обоих видов. При взаимоотношениях типа «хищник-жертва» один вид будет уменьшаться в численности, а другой — увеличиваться. При прямой конкуренции оба вида будут уменьшаться в численности.

Система уравнений, описывающих изменение численности двух изолированных от внешних факторов популяций в ограниченной питательной среде с течением времени t :

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = \alpha_1 N_1 (F - b_1 N_1 - b_2 N_2) + g_1 N_1 N_2 \\ \frac{dN_2}{dt} = \alpha_2 N_2 (F - b_1 N_1 - b_2 N_2) + g_2 N_1 N_2, \\ \frac{dF}{dt} = -\gamma (b_1 N_1 + b_2 N_2), \end{cases} \quad (4.2)$$

где N_i — общее количество бактерий популяции вида i , α_i — коэффициент размножения популяции i -ого вида, b_i — коэффициент, характеризующий скорость потребления питательных веществ одной бактерией популяции i -ого вида, F — безразмерная величина, пропорциональная среднему количеству питательных веществ, находящихся в области досягаемости для одной клетки. Если $F > bN$, то питательная среда может обеспечить увеличение численности популяции; если $F < bN$, то питательная среда «перенаселена», и общее число бактерий уменьшится; если $F = bN$, то питательная среда «насыщена», и численность бактерий не изменится. Коэффициент γ характеризует зависимость скорости уменьшения количества питательных веществ за счет потребления их бактериями, g_i — коэффициент, описывающий характер взаимодействия популяций, а его модуль — интенсивность, $i = 1, 2$.

Из рис. 4.11 видно, что зависимость общего количества жизнеспособных клеток контрольного образца от времени имеет два пика на 8-ые и 15-ые сутки. Кроме того, исходя из уменьшения суммарной численности бактерий между двумя пиками, можно сделать вывод об уменьшении численности хотя бы одного вида бактерий. Предположим, что бактерии вида I , используя свое преимущество в исходной численности N_1 и/или скорости размножения α_1 , в первые сутки наблюдения заняли большую часть пространства питательной среды,

достигнув максимума на 8 сутки, но при взаимодействии с бактериями вида 2 к 15-ым суткам были практически полностью уничтожены, уступив бактериям вида 2 почти все пространство питательной среды. Видно, что по сравнению с видом 1, вид 2 достиг гораздо большей численности на 15 сутки, что позволяет сделать вывод о пренебрежимо малой зависимости вида 2 от объема питательной среды. Тогда кинетика бактерий вида 2 будет описываться стандартной экспоненциальной зависимостью.

Система уравнений (4.2) в упрощенном виде с учетом вышеуказанных предположений:

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = \alpha_1 N_1 (F - b_1 N_1) + g_1 N_1 N_2 \\ \frac{dN_2}{dt} = \alpha_2 N_2 \\ \frac{dF}{dt} = -\gamma b_1 N_1 \end{cases} \quad (4.3)$$

Тогда система уравнений (4.3) с учетом решения для популяции N_2 представима как

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = \alpha_1 N_1 (F - b_1 N_1) + g_1 N_1 N_2 \\ N_2(t) = N_2(t_0) \exp(\alpha_2(t - t_0)) \\ \frac{dF}{dt} = -\gamma b_1 N_1 \end{cases} \quad (4.4)$$

Величины F , γ и b имеют абстрактный характер и могут быть умножены на произвольный множитель. Не ограничивая общности, положим $F(t_0)=1, \gamma=1$.

Таким образом, для того чтобы полностью задать модель, необходимы значения следующих параметров: $N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1$. Для решения системы (4.4) использовался метод Рунге-Кутты 4-го порядка. Были получены зависимости $N_1(t, N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1)$ и $N_2(t, N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1)$, которые аппроксимировали экспериментальные данные.

Исходя из экспериментальных данных (рис. 4.11), для каждой дозы и контрольных образцов можно использовать 6 экспериментальных точек $N_i(t_i)$, соответствующих измерениям концентрации жизнеспособных клеток в фарше через каждые 3 суток после проведения облучения, что позволяет записать систему из 6-ти уравнений вида:

$$N_1(t_i, N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1) + N_2(t_i, N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1) - y_i = 0, \quad (4.5)$$

где $i=1, 2, \dots, 6$.

Далее, используя метод наименьших квадратов с весами в качестве погрешностей экспериментальных данных, были определены значения параметров $N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1$, дающие наилучшее приближение к экспериментальным данным. В таблице 4.3 приведены рассчитанные значения параметров $N_1(t_0), N_2(t_0), \alpha_1, \alpha_2, b_1, g_1$ для контрольных образцов и образцов, облученных в различных дозах. Для каждой построенной модели для различных доз были посчитаны коэффициенты корреляции, значения которых также указаны в табл. 4.3.

Таблица 4.3 — Данные параметров математической модели

Доза, кГр	$N_1(t_0)$, КОЕ/г·10 ⁵	$N_2(t_0)$, КОЕ/г·10 ⁷	α_1 , 1/сутки	α_2 , 1/сутки	b_1 , г/КОЕ	g_1 , г/(КОЕ·сутки)	$R_{\text{корр}}$
0 (к)	6	6.01	1.77	1.30	0.2	25.9	0.99
0.24	0.81·6	0.451·6.01	0.7·1.77	0.61·1.30	2.0·0.2	1.01·25.9	0.99
0.96	0.74·6	0.452·6.01	0.77·1.77	0.59·1.30	0.6·0.2	0.99·25.9	0.89
2.8	0.42·6	0.449·6.01	1.77	0.595·1.30	0.2	0.98·25.9	0.99
5.6	0.25·6	0.45·6.01	0.9·1.77	0.58·1.30	1.25·0.2	1.02·25.9	0.96

Исходя из данных табл. 4.3, была построена изменения общей концентрации бактерий, находящихся в ограниченном пространстве от времени, соответствующие экспериментальным данным для различных доз облучения (рис. 4.12).

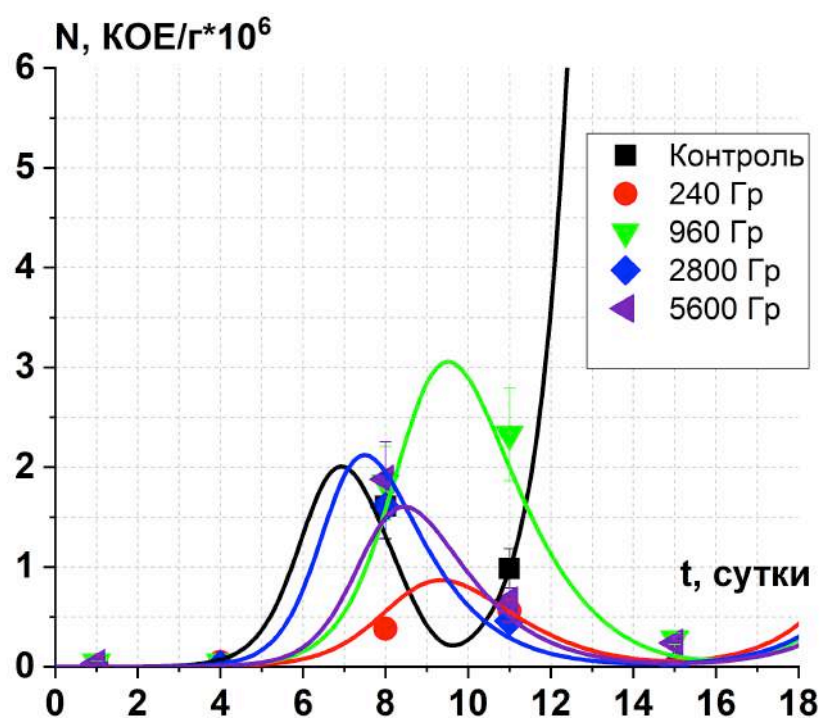


Рисунок 4.12 — Рассчитанные с помощью численных методов и экспериментальные зависимости концентрации жизнеспособных клеток в необлученных образцах гомогената форели и в образцах, облученных в дозах 240 Гр (красная кривая), 960 Гр (зеленая кривая), 2800 Гр (синяя кривая) и 5600 Гр (фиолетовая кривая), от времени хранения при температуре 5°C.

Разработанная модель позволяет определить время, за которое количество микроорганизмов в биообъекте, обработанном в заданной дозе, достигает заданного уровня. Расчеты показали, что в необлученном гомогенате фарша форели общее количество жизнеспособных клеток достигает уровня $10^6 \text{ КОЕ} \cdot \text{г}^{-1}$ спустя 5,7 суток хранения при температуре 5°C, при этом в гомогенате, обработанном в дозах 2800 Гр и 5600 Гр, этот показатель составляет 6,3 и 7,4 суток, соответственно.

Исходя из построенной модели можно рассчитать, на какие сутки для образцов, облученных в различных дозах, после относительных флуктуаций количество микроорганизмов превысит уровень $5 \cdot 10^6$ КОЕ/г (рис. 4.13). Так, при дозе 240 Гр после прохождения относительных флуктуаций количество микроорганизмов превысит уровень $5 \cdot 10^6$ КОЕ/г на 17 сутки по сравнению с 12-тью сутками для необлученного гомогената.

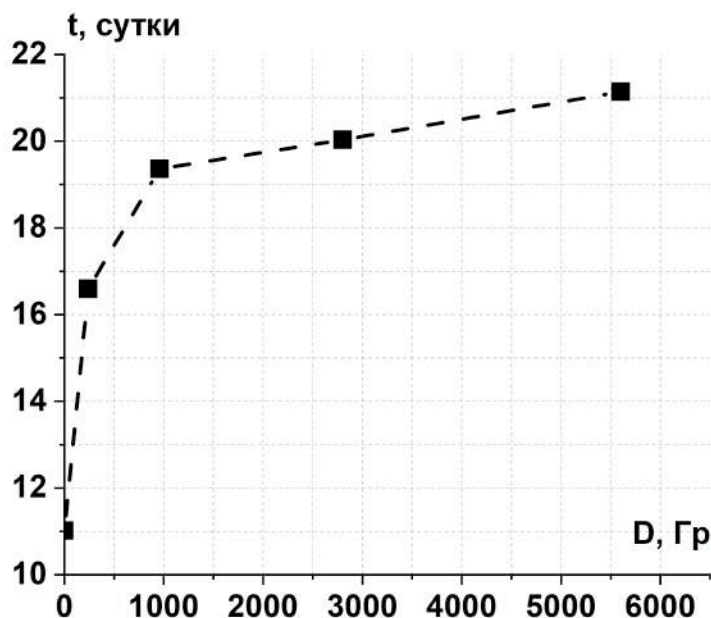


Рисунок 4.13 — Зависимость времени после воздействия электронным излучением, когда общая концентрация бактерий превышает $5 \cdot 10^6$ КОЕ/г от дозы облучения.

Разработанная модель позволяет определить время после радиационной обработки биообъекта в заданной дозе, за которое суммарная численность популяций микроорганизмов не превысит предельно допустимый уровень микробиологических показателей, определенный стандартами для различных категорий пищевой продукции.

Выводы к Главе 4

1. В диапазоне доз 250–800 Гр эффективность воздействия пучка электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ на микроорганизмы в биообъекте с начальной концентрацией $(1 \pm 0,2) \cdot 10^4$ КОЕ·г⁻¹ выше по сравнению с воздействием рентгеновского излучения с $E_{\text{макс}} = 26$ кэВ при одной и той же мощности дозы 2 Гр·с⁻¹.
2. Установлено, что у образцов, облученных ускоренными электронами в дозах до 500 Гр, наблюдалась большая эффективность повреждения целевых мишеней (микроорганизмов) при мощности дозы 1 Гр/с и 10 Гр/с по сравнению с мощностью дозы 100 Гр/с. Так, значения дозы D_{10} составили $(0,47 \pm 0,04)$ кГр, $(0,53 \pm 0,05)$ кГр и $(1,288 \pm 0,017)$ кГр для мощностей доз 1 Гр/с, 10 Гр/с и 100 Гр/с, соответственно. Показано, что при облучении биообъектов в дозах свыше 1000 Гр эффективность подавления микроорганизмов не зависит от мощности дозы в диапазоне от 1 Гр/с до 100 Гр/с.
3. Разработанная модель изменения численности популяций со временем после радиационной обработки позволяет оценить дозу, при воздействии в которой суммарная численность популяций микроорганизмов со временем хранения достигает заданного предельного уровня.
4. Установлено, что с увеличением начальной концентрации бактерий *Escherichia coli* с 10^3 КОЕ/г до 10^5 КОЕ/г значение D_{10} увеличивается от $(0,20 \pm 0,03)$ кГр до $(0,56 \pm 0,07)$ кГр, соответственно. При начальной концентрации 10^4 КОЕ/г значение D_{10} составило $(0,31 \pm 0,06)$ кГр.
5. Получено, что эффективность подавления бактерий ускоренными электронами различается для продуктов с разным содержанием влаги. Так, при облучении гомогената форели снижение количества жизнеспособных бактерий *E.coli* в 10 раз происходит при дозе в $(0,64 \pm 0,13)$ кГр, а при облучении *E.coli* в физиологическом растворе доза D_{10} составляет $(0,33 \pm 0,02)$ кГр. При дозе облучения 5 кГр во всех образцах жизнеспособных бактерий выявлено не было.
6. Показано, что грибы *Aspergillus fumigatus* более радиоустойчивы к воздействию ускоренными электронами по сравнению с бактериями *Escherichia coli*, что необходимо учитывать при выборе дозы облучения при проведении радиационной обработки продуктов с различным микробиологическим составом.

Глава 5. Контроль радиационно-химических превращений летучих органических соединений и биофизических изменений в биологическом объекте

5.1 Влияние параметров излучения и характеристик объекта на радиационно-химические превращения летучих органических соединений

При радиационной обработке наряду с инактивацией микроорганизмов повреждаются окружающие молекулярные структуры — липиды, белки, углеводы и т.д. Поскольку состав и концентрация летучих органических соединений (ЛОС) в биообъектах очень чувствительны к различным физико-химическим воздействиям, исследование влияния параметров радиационного воздействия на радиационно-химические превращения ЛОС в биообъектах и модельных системах позволяет определить критерии выбора оптимального диапазона доз радиационной обработки биообъектов. В главе сравниваются состав и концентрации ЛОС в биообъектах при облучении ускоренными электронами и рентгеновским излучением, приводятся результаты радиационно-химических превращений ЛОС в модельных системах при облучении ускоренными электронами с различной мощностью дозы. Выявляются общие закономерности в поведении ЛОС в биообъектах с различным белково-жиро-углеводным составом.

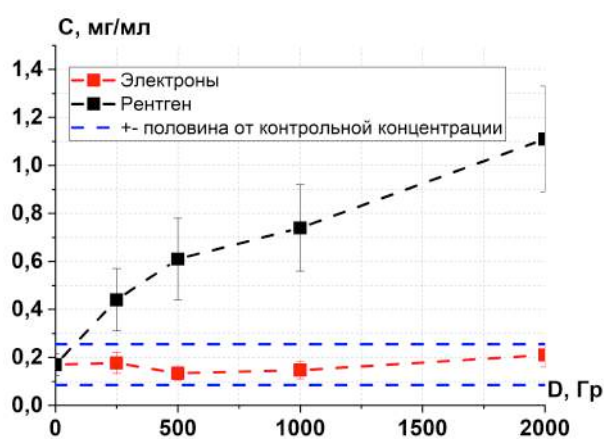
Тип излучения (ускоренные электроны и рентгеновское излучение)

ГХ/МС анализ образцов различных биообъектов выявил как общие, так и различные закономерности в поведении различных классов ЛОС, альдегидов, кетонов и спиртов, в образцах мяса птицы, облученных ускоренными электронами и рентгеновским излучением [338]. Было проведено двустороннее облучение образцов фарша индейки рентгеновским излучением с использованием установки ДРОН УМ-2 с источником питания ПУР5/50 и рентгеновской трубкой БСВ-23 с медным анодом. Фарш массой 0,5 г помещали в 2-мл полипропиленовые пробирки типа эппендорф диаметром 7 мм. Образец фарша помещался непосредственно перед бериллиевым окном рентгеновской трубки. Ток трубки составлял 26 мА, а напряжение — 30 кВ. Одностороннее облучение фарша индейки массой 0,5 г в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эппендорф ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{\text{max}}^{\text{эл}} = 1$ МэВ при токе пучка 50 нА. Образцы фарша облучались ускоренными электронами и рентгеновским излучением в дозах 250, 500, 1000 и 2000 Гр. Распределение поглощенной дозы по глубине обрабатываемых образцов представлено на рис. 4.7а. Согласно данным компьютерного моделирования с использованием GEANT 4, коэффициент

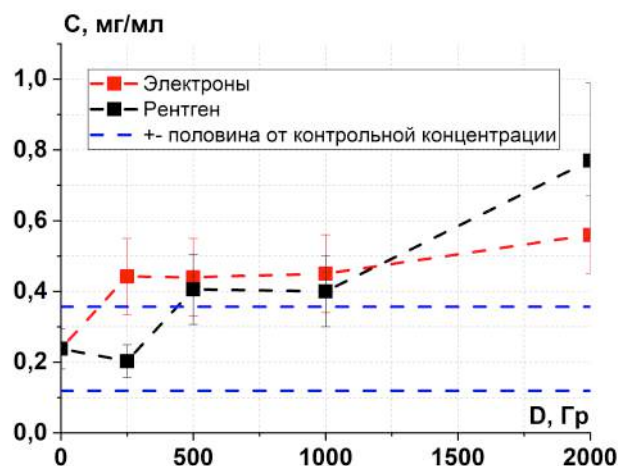
однородности одностороннего облучения электронами составил $K_1'^{\text{эл}} = (0,62 \pm 0,03)$ отн. ед. и двустороннего облучения рентгеновским излучением составил $K_1'^{\text{рент}} = (0,07 \pm 0,01)$ отн. ед. Для одного измерения профиля летучих органических соединений использовалось 2 г фарша, т.е. 4 пробирки эппендорф. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

На рисунках 5.1 представлены зависимости суммарных концентраций спиртов (а), альдегидов (б) и кетонов (в), идентифицированных в мясе индейки, обработанной электронами и рентгеновским излучением, а также показаны границы концентраций, отличающиеся от концентраций необлученных образцов не более, чем на 50%. Из рисунка видно, что в то время, как зависимости концентраций альдегидов и кетонов от дозы облучения для ускоренных электронов и рентгеновского излучения имеют схожий характер, концентрация суммарных спиртов в образцах индейки, обработанной рентгеновским излучением, монотонно увеличивается с увеличением дозы облучения, при этом для ускоренных электронов значения концентраций спиртов в исследуемых образцах практически не меняется при облучении в дозах до 2000 Гр.

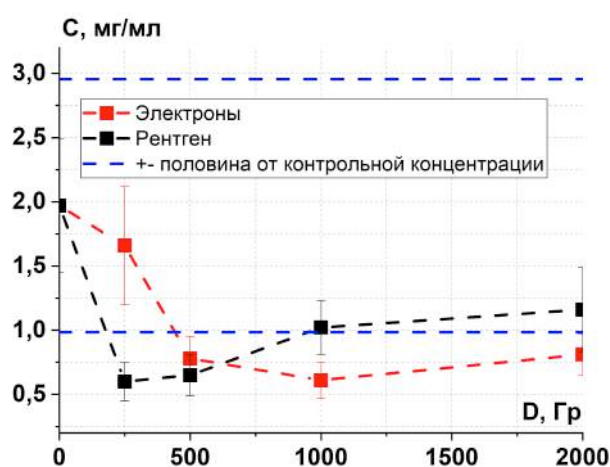
Наибольшее отклонение от контрольных показателей концентраций ЛОС необлученных образцов индейки было зафиксировано у спиртов при облучении рентгеновским излучением: при облучении в диапазоне доз от 250 Гр до 2000 Гр концентрация спиртов возросла от 0,4 мг/мл до 1 мг/мл, превысив контрольные показатели продукции в 2-5 раз (рис. 5.1а). Обработка образцов ускоренными электронами не привела к существенным изменениям концентрации спиртов в диапазоне доз от 250 Гр до 2000 Гр, значения концентраций находились в пределах 50%-ого отклонения от показателей необлученных образцов продукции. Суммарная концентрация альдегидов превысила границы 50%-ого отклонения от контрольных показателей в образцах, облученных ускоренными электронами в дозах от 250 Гр до 2000 Гр, при облучении рентгеновским излучением — в диапазоне доз от 500 Гр до 2000 Гр, при этом максимальное отклонение от показателей необлученных образцов было зафиксировано при обработке в дозе 2000 Гр (рис. 5.1б). Суммарная концентрация кетонов была ниже границы 50%-ого отклонения от контрольных показателей при обработке ускоренными электронами в дозах от 250 Гр и 500 Гр, при облучении рентгеновским излучением — в диапазоне доз от 500 Гр до 2000 Гр (рис. 5.1в).



(а)



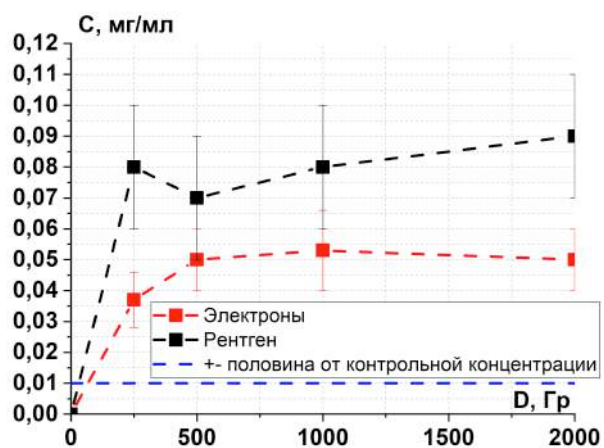
(б)



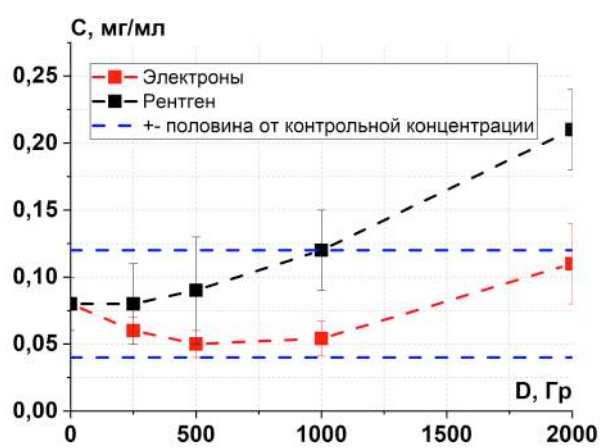
(в)

Рисунок 5.1 — Зависимости суммарных концентраций спиртов (а), альдегидов (б) и кетонов (в) в мясе индейки, от дозы облучения ускоренными электронами и рентгеновским излучением.

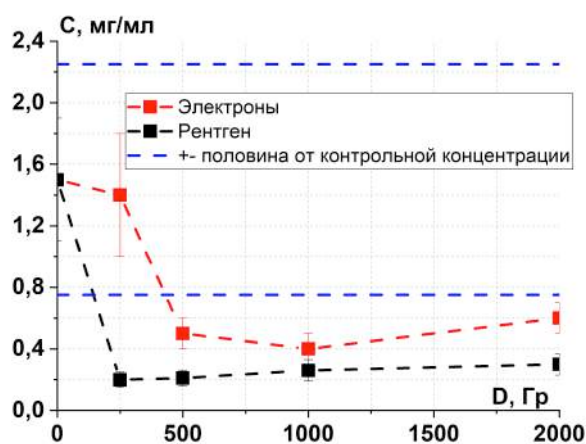
Сравнение поведения отдельных ЛОС в образцах индейки выявило как схожие, так и различные зависимости концентраций C соединений от дозы D облучения. Так, спирт изопропанол, 2-этилгексанол, кетоны 2,3-бутандион, ацетон, альдегиды пентаналь и гексаналь имели схожие зависимости $C(D)$ в образцах, облученных различными типами излучений (рис. 5.2а-е). Явные различия в зависимостях $C(D)$ показали спирты гексанол, 2,3 бутандиол, кетон гидрокси-бутанон (рис. 5.3а-в). Для соединений, задетектированных в облученных образцах индейки и не обнаруженных в необлученных образцах индейки, показана граница, соответствующая концентрации 0,01 мг/мл.



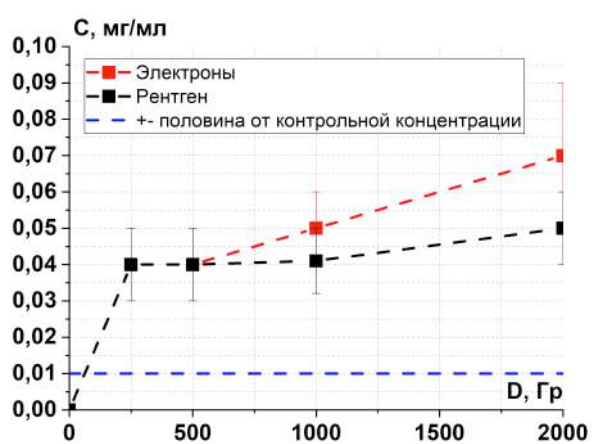
(а)



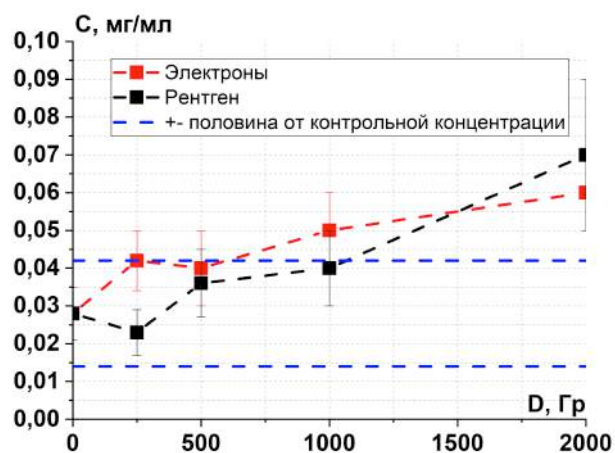
(б)



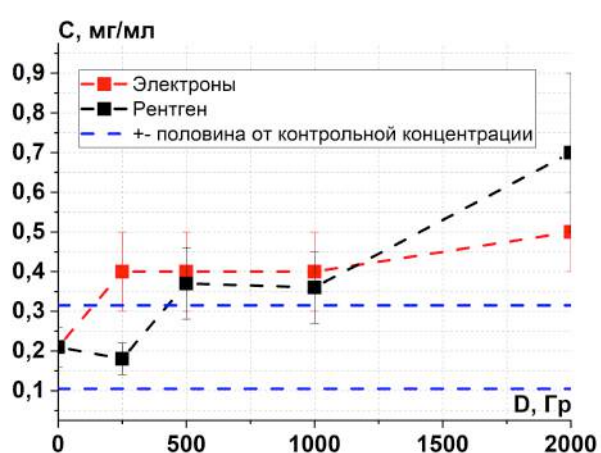
(в)



(г)

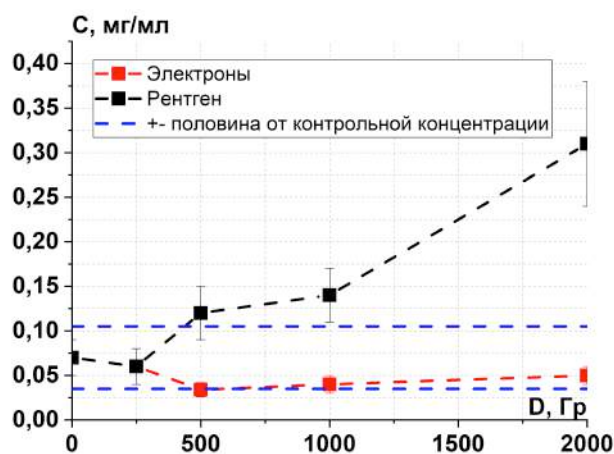


(д)

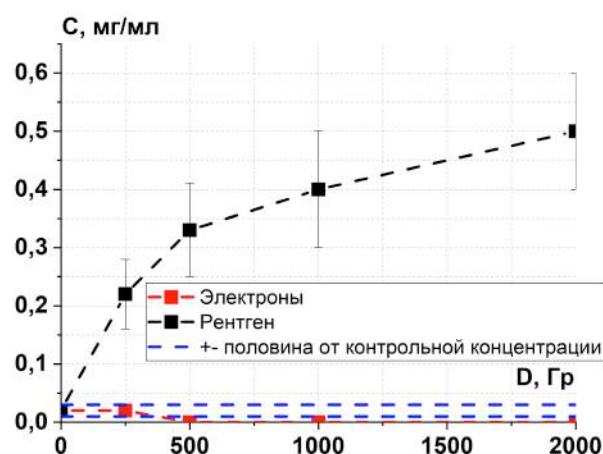


(е)

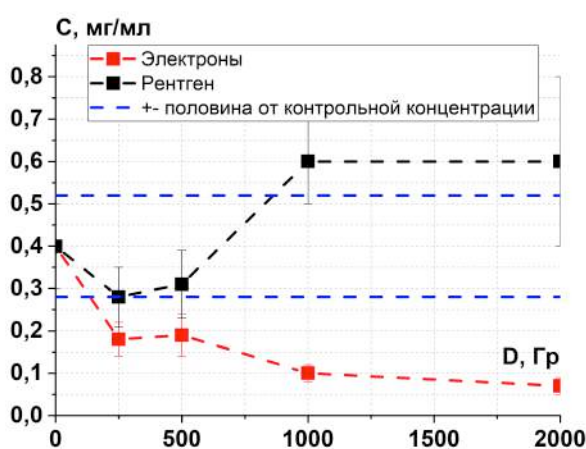
Рисунок 5.2 — Зависимости концентраций: (а) — 2-этил-гексанола, (б) — изопропанола и (в)- 2,3-бутандиона, (г) — ацетона, (д) — пентаналя и (е) гексаналя, идентифицированных в мясе индейки, от дозы облучения ускоренными электронами (красная кривая) и рентгеновским излучением (черная кривая).



(a)



(б)



(в)

Рисунок 5.3 — Зависимости концентраций: (а) — гексанола, (б) — 2,3-бутандиола, (в) — гидроксибутанона, идентифицированных в мясе индейки, от дозы облучения ускоренными электронами (красная кривая) и рентгеновским излучением (черная кривая).

Из рис.5.2 и 5.3 видно, что общий выход ЛОС в мясе индейки выше у образцов, обработанных рентгеновским излучением по сравнению с образцами, облученными ускоренными электронами, при этом для большинства соединений, начиная с дозы 250 Гр, были уже зафиксированы 7 соединений, концентрации которых выходили за границы 50%-ого отклонения от контрольных показателей. Согласно литературным данным, альдегиды, являющиеся продуктами окисления жирных кислот [395,396], имеют специфический запах и вносят определяющий вклад в органолептические показатели пищевой продукции [203]. В образцах индейки концентрация альдегидов пентаналь и гексаналь превысила границы выделенного диапазона концентраций при облучении ускоренными электронами в дозе 1000 Гр, а при облучении рентгеновским излучением — в дозе 2000 Гр. Спирт изопропанол и кетон

ацетон были зафиксированы только в облученных образцах индейки, причем данные соединения были обнаружены во всем исследуемом диапазоне доз от 250 Гр до 2000 Гр.

Различия в характере зависимостей концентраций отдельных ЛОС от дозы облучения в биообъектах, облученных ускоренными электронами и рентгеновским излучением, могут определяться различными факторами. Летучие соединения, являющиеся продуктом распада жирных кислот, образуются в результате разрыва химических связей за счет передачи энергии молекулам вещества. Характер взаимодействия электронов с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ и рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент}=26$ кэВ при одной и той же мощности дозы 2 Гр/с с биологическими структурами различен. В начале пути электроны теряют более половины своей кинетической энергии в лобовых столкновениях с атомами вещества, сопровождающихся выбиванием низкоэнергетических электронов с энергией около 1 кэВ, образующих шпоры — компактные группы пар ионов (от 1 до 5), расположенные внутри некоторого конечного, сферического объема. Поскольку низкоэнергетические электроны способны к ионизации, они образуют так называемые "ветви ионизации" в направлениях, отличных от первоначального направления первичных электронов. Проходя через вещество, первичные электроны теряют оставшуюся половину своей энергии при столкновениях с молекулами, причем средняя энергия потери составляет 30-100 эВ. Треки, созданные этими электронами, становятся все ближе и ближе друг к другу и в конце концов начинают перекрываться, образуя цилиндрические треки с высокой плотностью ионизации. В конце пути первичного электрона движение электронов становится тепловым и диффузионным и порождает большое количество актов ионизации. При этом по мере уменьшения энергии первичного электрона ионизационные потери на единицу его пути возрастают. При взаимодействии рентгеновского излучения с биообъектом в результате фотоэффекта и эффекта Комптона образуются электроны. Их акты ионизации сосредоточены в основном в изолированных ветвях ионизации. В результате сильного рассеяния эти акты ионизации равномерно распределены в объеме образца. Таким образом, различные распределения пространственных актов ионизации и возбуждения могут приводить к различному распределению химических эффектов.

Существует большое количество общих закономерностей для обоих типов излучения независимо от типа продукта (индейка, курица, говядина, форель, семга): с увеличением дозы растет общий радиационно-химический выход ЛОС и увеличивается концентрация альдегидов при облучении биообъектов.

Мощность дозы

Для оценки влияния мощности дозы на радиационно-химические превращения и на общий выход ЛОС под действием излучения был проведена серия экспериментов

по облучению ускоренными электронами стандартных образцов ЛОС спиртов гексанола-1 и пентанола-1, кетона пентанона-2, и альдегида пентаналь в физиологическом растворе с начальной концентрацией 50 мг/мл. Одностороннее облучение растворов объемом 0,5 мл в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эппендорф ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ. Для оценки влияния мощности дозы ток пучка варьировался и составил 50 нА (для обеспечения мощность дозы, поглощенной растворами, $P_1 = 1$ Гр/с) и 500 нА (мощность дозы $P_2 = 10$ Гр/с). Растворы облучались ускоренными электронами в дозах 100, 200, 300, 600, 900 и 2000 Гр. Распределение поглощенной дозы по глубине обрабатываемых образцов представлено на рис. 4.7а (красная кривая). Коэффициент однородности одностороннего облучения электронами составил $K_1^{эл} = (0,62 \pm 0,03)$ отн.ед. Для одного измерения профиля летучих органических соединений использовалось 2 мл раствора, т.е. 4 пробирки эппендорф. Количество измерений на одну дозу составило $n=3$.

На рисунке 5.4 представлены зависимости концентрации гексанола-1 и продуктов его распада от дозы D облучения ускоренными электронами при $P_1 = 1$ Гр/с (а) и $P_2 = 10$ Гр/с (б). Как видно из рисунков, с увеличением дозы облучения концентрация гексанола уменьшалась вследствие его распада на другие ЛОС. При облучении в дозе 100 Гр в растворе гексанола был обнаружен гексаналь, с увеличением дозы облучения в растворе гексанола появились другие летучие органические соединения, причем, чем больше доза облучения, тем больше соединений было обнаружено.

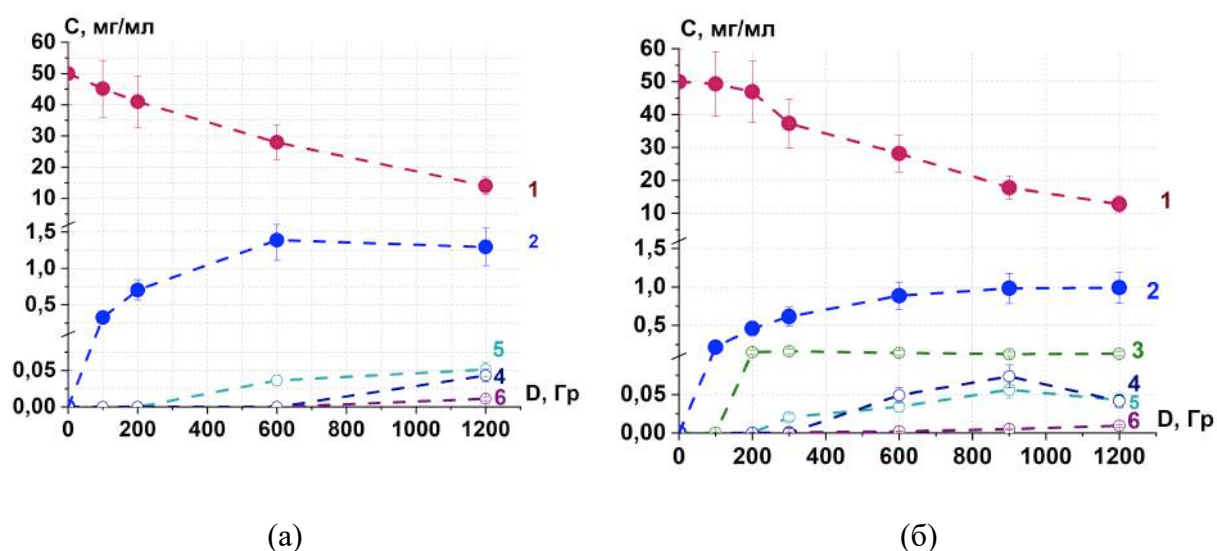


Рисунок 5.4 — Зависимости концентрации спирта гексанола-1 (кривая 1) и продуктов его распада альдегида гексаналя (кривая 2), спирта 2-метил-пропанола (кривая 3), ацетальдегида (кривая 4), альдегида пентаналь (кривая 5) и кетона пентанона (кривая 6) при облучении электронами при $P_1 = 1$ Гр/с (а) и $P_2 = 10$ Гр/с (б).

Идентификация каждого нового ЛОС в результате распада гексанола при определенной дозе облучения (рис.5.4) свидетельствует о том, что для образования определенного соединения из спирта гексанола необходимо, чтобы на молекулу гексанола пришлось определенное количество актов ионизации, приводящих в разрыву химических связей, или определенное количество АФК, образовавшихся в результате радиолиза воды, провзаимодействовало с молекулой гексанола. Так, например, при облучении в дозе 600 Гр при $P_1 = 1$ Гр/с был идентифицирован альдегид пентаналь, и его концентрация увеличилась с увеличением дозы облучения, при этом ацетальдегид и пентанон-2 были идентифицированы при дозе облучения 1200 Гр. Таким образом, для образования ацетальдегида и пентанона-2 необходимо большее количество разрывов химических связей молекулы гексанола, чем для образования альдегида гексаноля. На рисунке 5.5 представлена схема реакции возможного распада гексанола и образования ЛОС, идентифицированных в растворе гексанола после облучения ускоренными электронами в различных дозах. Согласно схеме, (рис.5.5) для образования гексаноля необходим один гидроксильный радикал $OH^\bullet$, поэтому концентрация гексаноля возрастает в растворе гексанола, начиная с $D=100$ Гр при мощности $P_1 = 1$ Гр/с, т.е. гексаноаль идентифицируется при дозах ниже 100 Гр (рис. 5.4а). Для образования пентаноля необходимы два взаимодействия с $OH^\bullet$, таким, образом, для него доза, при которой происходит его идентификация, будет выше, что согласуется с результатами экспериментальных исследований, поскольку концентрация пентаноля возрастает в растворе гексанола при облучении в дозе $D=200$ Гр при $P_1 = 1$ Гр/с (рис.5.4а).

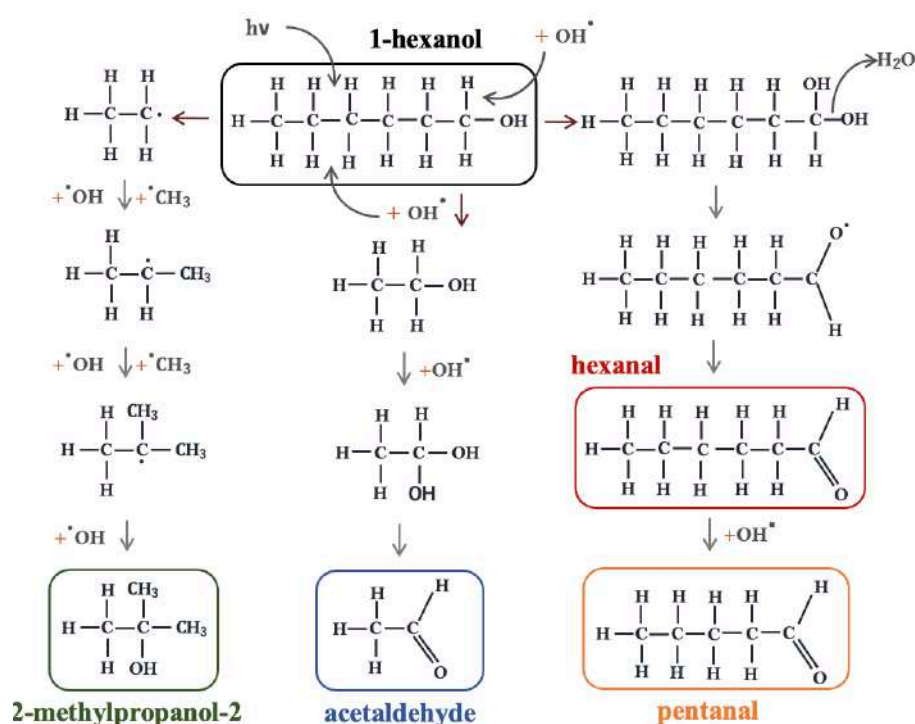


Рисунок 5.5 — Схема радиационно-химических превращений спирта гексанола.

Сравнивая облучение электронами раствора гексанола при разных мощностях доз (рис.5.4 а,б), можно сделать вывод о том, что с увеличением мощности дозы общий выход ЛОС увеличивается. При облучении с $P_2 = 10$ Гр/с идентифицировано новое соединение, третбутанол, которое не обнаруживается в растворе гексанола, облученном при $P_1 = 1$ Гр/с. Обнаружено, что доза, при которой идентифицируется данное соединение, сдвигается в сторону меньших доз с увеличением мощности дозы. Так, при облучении раствора при $P_2 = 10$ Гр/с пентаналь был идентифицирован в растворе гексанола при облучении в дозе $D=300$ Гр, а при $P_1 = 1$ Гр/с — в дозе $D=600$ Гр. Сравнивая скорость накопления ЛОС с увеличением дозы облучения, обнаружено, что с увеличением мощности дозы скорость образования ЛОС на единицу поглощенной дозы увеличивается. Обнаружено, что летучие органические соединения под действием ионизирующего излучения превращаются в ряд более низкомолекулярных ЛОС, при этом установлена явная экспоненциально убывающая зависимость концентрации гексанола с увеличением дозы облучения. Зависимости концентраций образовавшихся соединений от дозы облучения носят как монотонно-возрастающий характер, например, для альдегида гексанола и кетона пентанона, так и немонотонный характер, как например, для ацетальдегида и пентанола. Убывание концентрации ацетальдегида и пентанола при облучении в дозе 1200 Гр объясняется распадом соединений непосредственно во время облучения пучком ускоренных электронов.

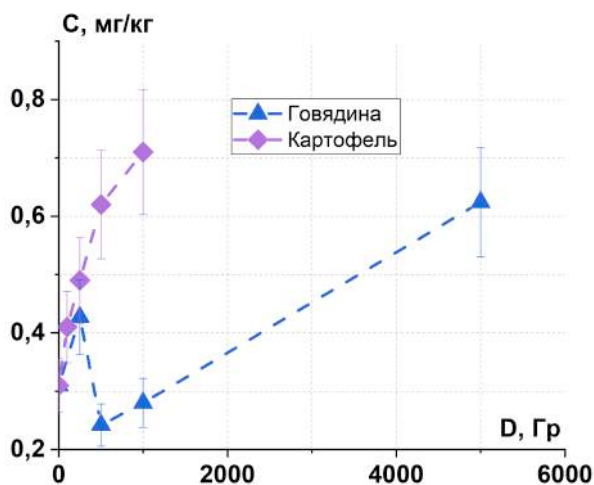
Таким образом, показано в экспериментах по облучению суспензии стандартного образца спирта гексанола-1 в физиологическом растворе электронами в дозах от 100 Гр до 1200 Гр при мощности дозы (P) 1 Гр/с и 10 Гр/с, что общая концентрация ЛОС, являющихся продуктами распада гексанола-1, скорость их накопления на единицу поглощенной дозы, а также количество идентифицированных соединений тем выше, чем больше P в диапазоне доз от 200 Гр и выше. Обнаружено, что для каждого продукта распада гексанола-1 существует доза его идентификации $D_{ид}$, и чем выше мощность дозы, тем ниже значение $D_{ид}$ для данного ЛОС. Различия в значениях $D_{ид}$ объясняются различным количеством актов ионизации и/или различным количеством активных форм кислорода на молекулу спирта гексанола-1, необходимых для образования различных ЛОС.

Разный белково-жиро-углеводный состав (говядина, индейка, семга, курица, картофель)

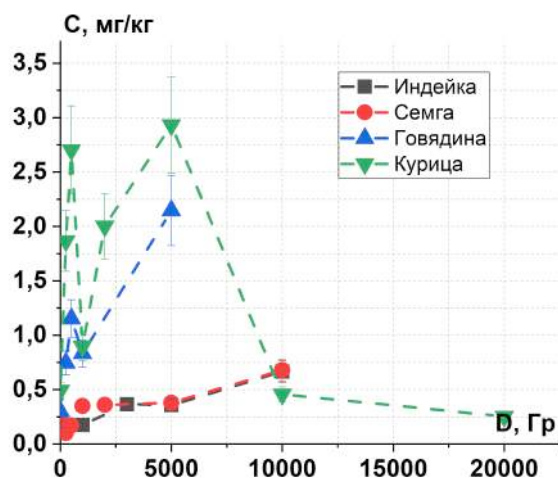
Одностороннее облучение образцов фарша говядины [397], индейки [398], семги [399], курицы [400] и картофеля массой 0,5 мл в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эппендорф ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ. Ток пучка во всех сессиях

облучения составил 50 нА. Растворы облучались ускоренными электронами в дозах 100, 250, 500, 1000, 2000, 5000 и 10000 Гр. Распределение поглощенной дозы по глубине обрабатываемых образцов представлено на рис. 4.7а (красная кривая). Коэффициент однородности одностороннего облучения электронами составил $K_1'^{эл} = (0,62 \pm 0,03)$ отн. ед. Для одного измерения профиля летучих органических соединений одного типа биообъекта использовалось 2 г фарша, т.е. 4 пробирки эппендорф. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

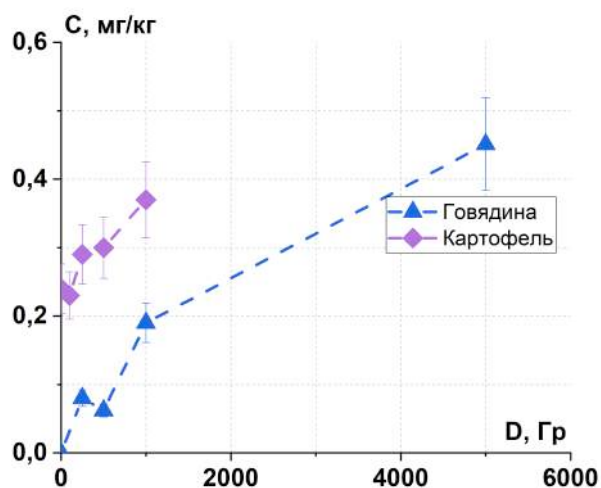
Сравнение поведения ЛОС в различных биообъектах выявило схожие закономерности зависимостей концентрации ЛОС от дозы облучения. Обнаружено, что концентрации альдегидов 2-метил пропаналя, гексаналя, бутаналя, наноналя, октаналя, пентаналя в различных биообъектах увеличивались в диапазоне доз от 1000 Гр до 5000 Гр, при этом при облучении в дозах от 250 Гр до 5000 Гр для всех идентифицированных альдегидов (рис.5.6 а,б,в,г,д,е), как и для остальных ЛОС спиртов и кетонов (рис.5.6 ж,з), наблюдался немонотонный характер зависимостей $C(D)$. При облучении биообъектов в дозе 10000 Гр концентрация большинства ЛОС снижалась, что свидетельствует о распаде ЛОС на другие низкомолекулярные соединения непосредственно при облучении.



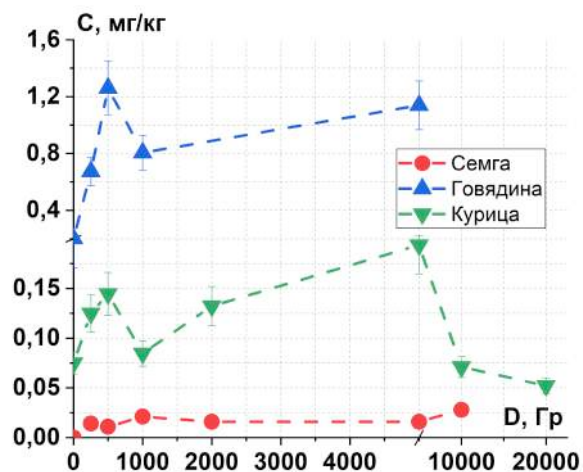
(а)



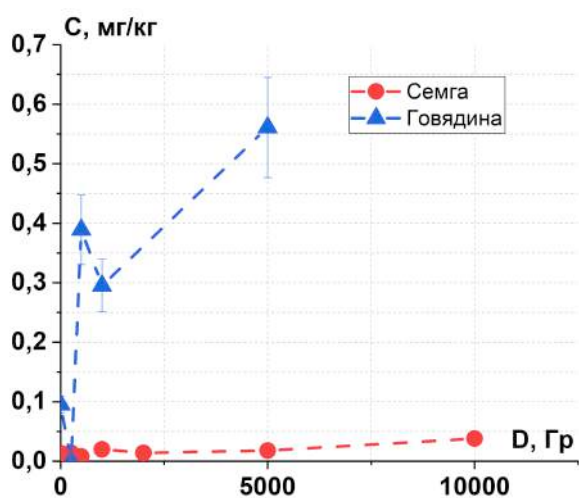
(б)



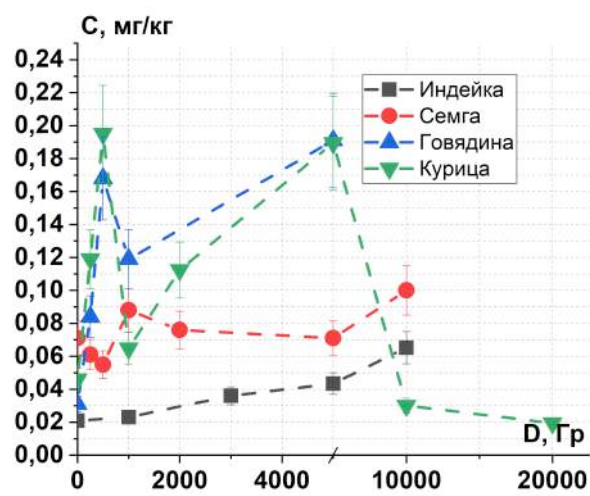
(в)



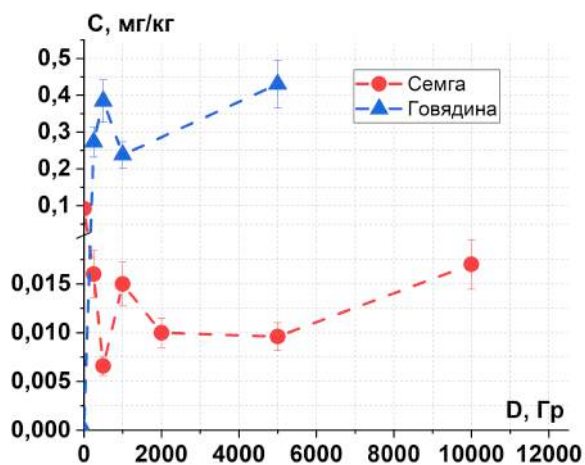
(г)



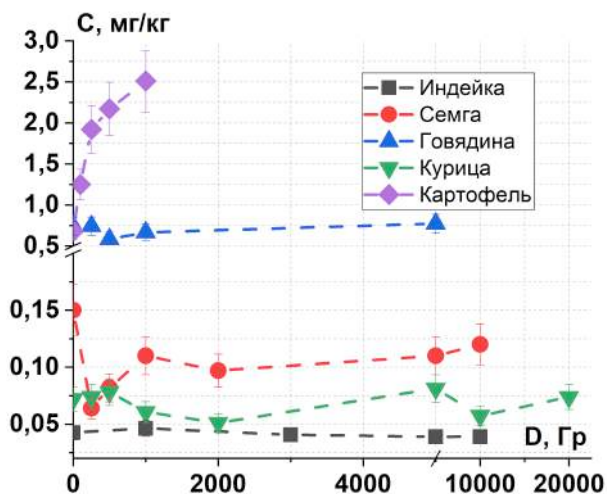
(д)



(е)



(ж)



(з)

Рисунок 5.6 — Зависимости относительных концентраций ЛОС от дозы облучения: а — 2-метил пропаналь, б — гексаналь, в — бутаналь, г — гептаналь, д — нонаналь, е — пентаналь, ж — октаналь, з — ацетон. Концентрации ЛОС нормированы на концентрацию

ЛОС в необлученных образцах биообъектов (говядина (желтая кривая), курица (фиолетовая кривая), индейка (синяя кривая), семга (красная кривая), картофель (зеленая кривая)).

Наибольшее количество альдегидов после радиационной обработки было идентифицировано в говядине (рис.5.7).

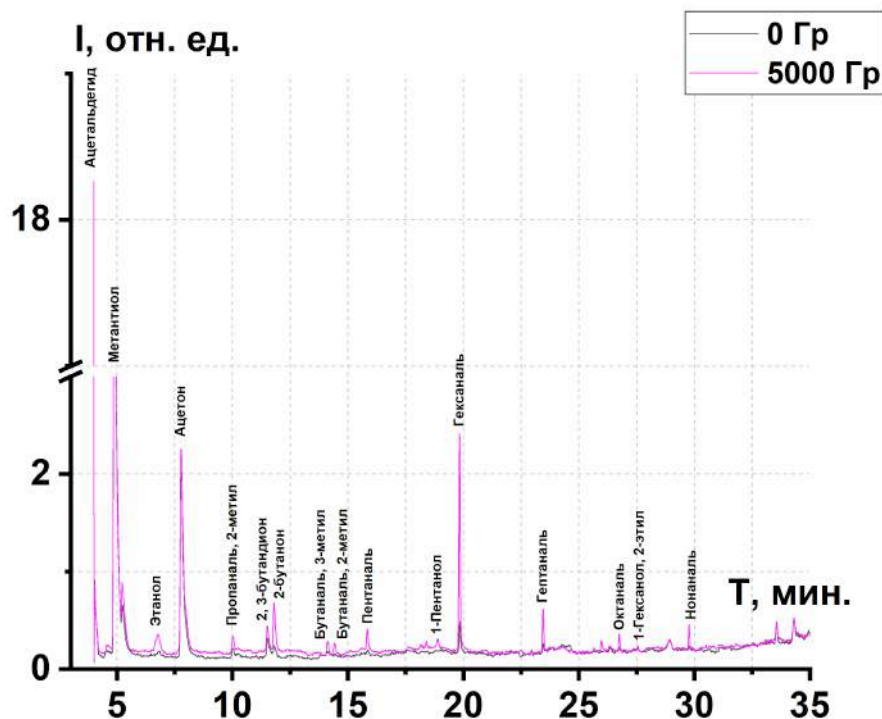


Рисунок 5.7 — Хроматограммы образца говядины, облученного в дозе 5000 Гр (фиолетовая кривая), и необлученного образца (черная кривая) говядины.

Большинство альдегидов (пентаналь, гексаналь, гептаналь, октаналь, нонаналь) показывают резкое увеличение концентрации в образцах, облученных 250 Гр и 500 Гр с последующим более плавным ростом концентрации, в то время как облучение 5000 Гр приводит к концентрации ЛОС, превышающей контрольные значения в 1,9-7 раз. Важно отметить, что если альдегиды, являющиеся окислительными производными липидов, присутствуют в необлученных образцах говядины (рис.5.8, выделено красным), то альдегиды бутаналь,2-метил- и бутаналь,3-метил- (рис.5.8, выделено фиолетовым), являющиеся окислительными производными белков, идентифицируются только в облученных образцах. Таким образом, обнаружено, что наибольший вклад в увеличение концентрации ЛОС вносят альдегиды, образующиеся в результате распада липидов. В то время, как увеличение концентрации альдегидов, образованных в результате окисления липидов, в 2-3 раза по сравнению с необлученными образцами биообъекта наблюдается при облучении в дозах от 500 Гр и выше, для альдегидов, образующихся в результате окисления аминокислот, соизмеримое увеличение концентрации наблюдается при облучении в дозе 5000 Гр.

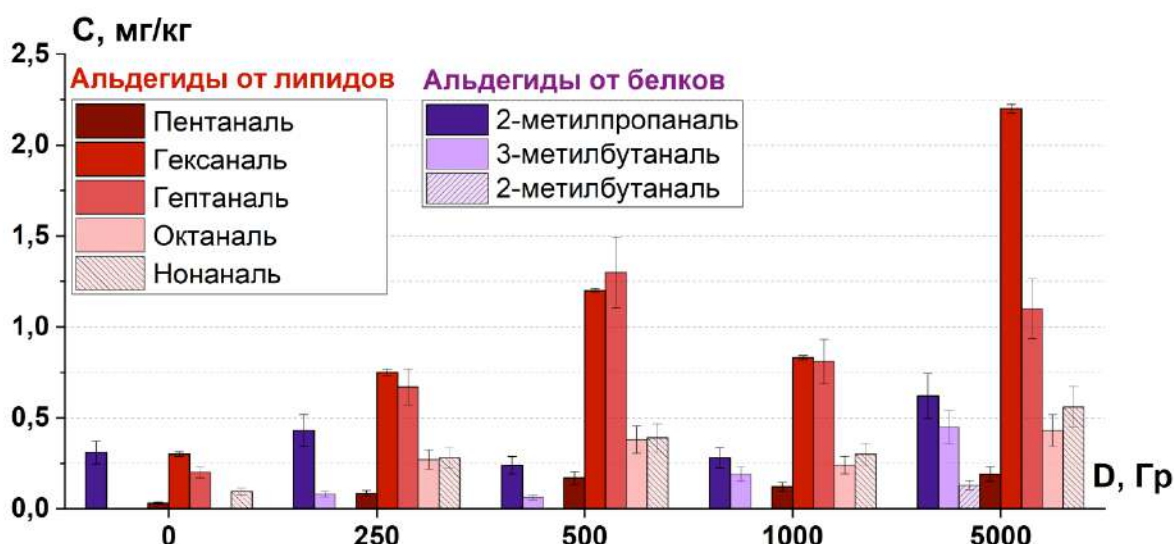


Рисунок 5.8 — Гистограммы концентрации альдегидов, идентифицированных в образцах говядины, облученных ускоренными электронами.

Зависимости $C(D)$ для одних и тех же ЛОС в различных биообъектах носят различный характер, что объясняется различным составом белков, липидов, углеводов, т.е. различным составом окружающих молекулярных структур. В мясных и рыбных продуктах высока концентрация липидов, содержащих жирные кислоты. В процессе облучения свободные радикалы, индуцированные радиолизом, окисляют жирные кислоты, которые могут распадаться на ЛОС. Гидроксильные радикалы $\text{OH}\cdot$ могут реагировать с ненасыщенными жирными кислотами, у которых дефицит электронов в карбонильных группах и углерод-углеродных двойных связях (рис. 5.9 а). После этого образовавшееся соединение может вступить в реакцию с молекулой O_2 , в результате чего образуется H_2O и радикал $\text{OO}\cdot$. Поскольку этот радикал нестабилен, атом кислорода отщепляется от радикала, оставляя ион $\text{O}\cdot$ с одним неспаренным электроном, который может оторвать атом водорода от молекулы H_2O . Образующиеся в результате этой реакции спирты могут окисляться при реакции с радикалами $\text{OH}\cdot$ и $\text{OO}\cdot$.

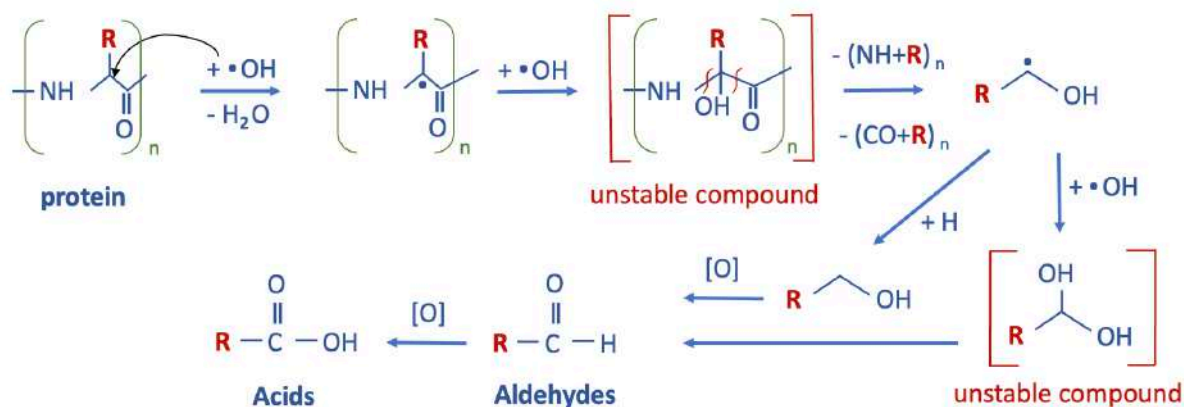
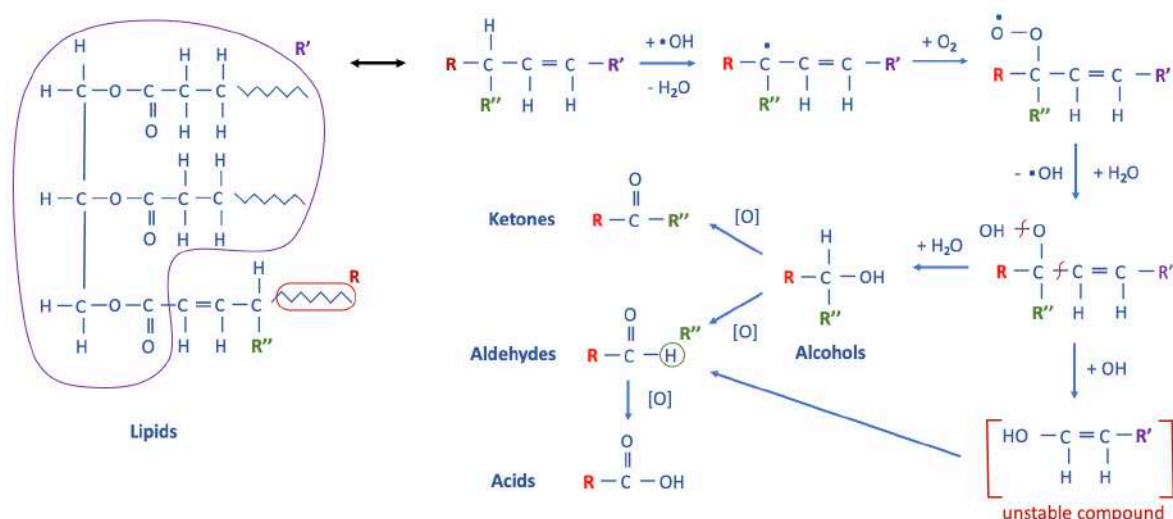


Рисунок 5.9 — Упрощенные схемы образования альдегидов и кетонов как продуктов окисления спиртов (а) и при разложении термодинамически неустойчивого соединения (б).

Органический радикал, образующийся в результате этой реакции, может реагировать либо с гидроксильным радикалом $\text{OH}\cdot$, либо с молекулой H_2O . Возникающее при этом переходное нестабильное соединение может высвободить молекулу H_2O , а две двойные связи углерод-углерод могут образовать двойную связь $\text{C}=\text{O}$. В результате могут образовываться альдегиды или кетоны. Таким образом, мы проиллюстрировали один из возможных вариантов образования спиртов, которые в дальнейшем могут распадаться на альдегиды или кетоны (рис. 5.9а). Альдегиды являются нестабильными соединениями, поэтому они могут разлагаться на карбоновые кислоты, превращаться в другие альдегиды или увеличиваться в количестве за счет распада других веществ. Кетоны являются стабильными соединениями, поэтому вероятность радикальных реакций с ними невелика.

Жирные кислоты могут разлагаться и другим способом. Гидроксильные радикалы $\text{OH}\cdot$ могут взаимодействовать с ненасыщенными жирными кислотами, присоединяясь к углерод-углеродным двойным связям с помощью кратных связей. В результате такая комбинация становится термодинамически неустойчивой и распадается на молекулы, из которых образуются альдегиды или кетоны (рис. 5.9б). Кроме того, радикалы $\text{OH}\cdot$ могут взаимодействовать со связями C-H и окислять жирную кислоту до частей, из которых образуются спирты. Первичные спирты окисляются до альдегидов, вторичные — до кетонов. Обратные процессы восстановления спиртов из альдегидов и кетонов в радикальных реакциях не происходят. Возможны и другие многовариантные химические превращения.

Таким образом, воздействие ионизирующего излучения запускает последовательность химических превращений летучих органических молекул в биообъектах, которые, в конечном счете, влияют на состояние и их качество после радиационной обработки. С увеличением дозы растет концентрация летучих органических соединений при облучении биообъектов.

5.2 Механизмы радиационно-химических превращений летучих органических соединений во время облучения биообъектов и при их последующем хранении

Радиационно-химические превращения ЛОС во время облучения

Для объяснения механизмов радиационно-химических превращений ЛОС в биообъектах в момент обработки и характера немонотонных зависимостей концентраций ЛОС от дозы были проведены экспериментальные исследования по облучению стандартных образцов ЛОС в различных начальных концентрациях. Одностороннее облучение растворов стандартных образцов ЛОС в физиологическом растворе объемом 0,5 мл в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эппендорф ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{\text{max}}^{\text{эл}} = 1$ МэВ. Растворы облучались ускоренными электронами в дозах 100, 200, 300, 600, 900 и 2000 Гр. Коэффициент однородности одностороннего облучения электронами составил $K_1'^{\text{эл}} = (0,62 \pm 0,03)$ отн. ед. Для одного измерения профиля летучих органических соединений использовалось 2 мл раствора, т.е. 4 пробирки эппендорф. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

Облучение ускоренными электронами растворов стандартных образцов ЛОС в физиологическом растворе с начальными концентрациями $C_{01} = 1$ мг/мл и $C_{02} = 50$ мг/мл выявило экспоненциальный спад концентрации различных классов ЛОС от дозы облучения (рис. 5.4а.б) независимо от концентрации соединения. На рисунке 5.10 представлены зависимости концентраций спирта гексанола-1 и продукта его распада альдегида гексанала для различных начальных концентраций гексанола. Обнаружено, что чем выше начальная

концентрация C_0 спирта гексанола, тем меньше скорость его распада на единицу поглощенной дозы (рис.5.10). Концентрация гексаналь с увеличением дозы облучения носила немонотонный характер: возрастание концентрации с дозой облучения и затем спад концентрации.

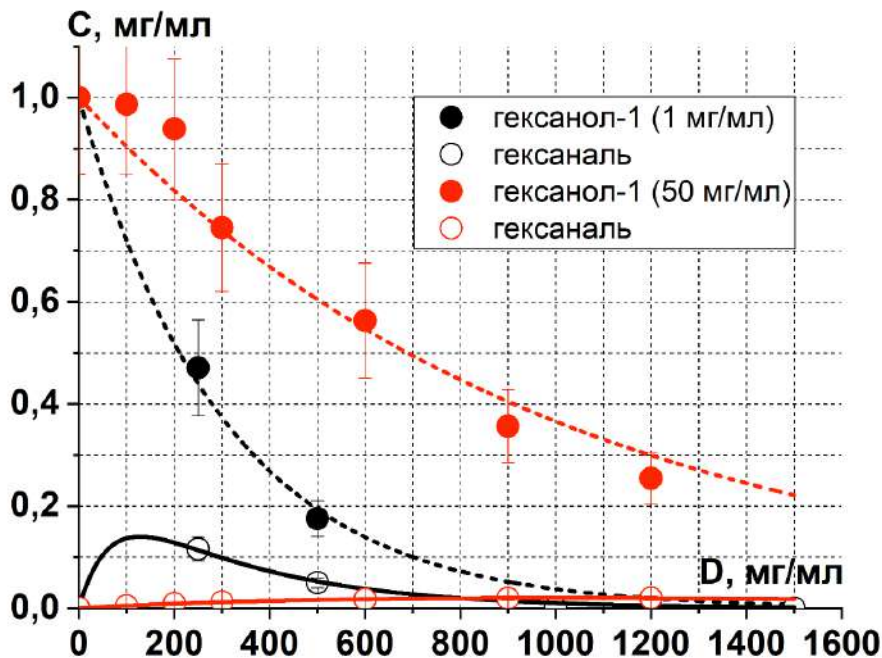


Рисунок 5.10 — Зависимости концентраций спирта гексанола-1 (штрихованные кривые) и продукта его распада альдегида гексанала (сплошные кривые) при начальной концентрации гексанола $C_{01} = 1$ мг/мл (черные кривые) и $C_{02} = 50$ мг/мл (красные кривые) от дозы облучения.

На основании немонотонного характера зависимости гексаналь от дозы облучения было сделано предположение, что при радиационной обработке происходят два конкурирующих процесса: распад данного соединения (например, альдегида гексаналь) и его накопление как продукта распада другого ЛОС (например, спирта гексанола-1). Таким образом, система уравнений, описывающая дозовую зависимость концентраций первичного соединения A с концентрацией C^A и продукта его распада соединения B с концентрацией C^B , являющегося продуктом распада соединения A представима в виде:

$$\begin{cases} \frac{dC^A}{dD} = -k_A C^A \\ \frac{dC^B}{dD} = q \frac{-dC^A}{dD} - k_B C^B D \\ C^A(D=0) = C_0^A \text{ и } C^B(D=0) = C_0^B \end{cases}, \quad (5.1)$$

где k_A , k_B , (Гр^{-1}) — постоянные распада соединений A и B , q — доля соединений A , которая под действием излучения превращается в соединение B .

Решение системы (5.1):

$$\begin{cases} C^A(D) = C_0^A e^{-k_A D}, \\ C^B(D) = C_0^B e^{-k_B D} - \frac{q k_A C_0^A}{k_B - k_A} (e^{-k_A D} - e^{-k_B D}). \end{cases} \quad (5.2)$$

С учетом дополнительных каналов распада и накопления ЛОС дозовая зависимость концентрации C^B представима в виде:

$$C^B(D) = C_0^B e^{-k_B D} - \frac{q k_A C_0^A}{k_B - k_A} (e^{-k_A D} - e^{-k_B D}) + f(D), \quad (5.3)$$

где функция $f(D)$ линейно зависит от дозы в диапазоне от 250 Гр до 10000 Гр. Аппроксимация экспериментальных данных по формулам системы (12) дана с коэффициентами: гексанол ($C_0 = 1$ мг/мл): $k_A = 0,0033$ Гр $^{-1}$, $C_0^A = 1 \frac{\text{мг}}{\text{мл}}$, $R^2 = 0,98$; гексаналь: $k_B = 0,0033$ Гр $^{-1}$, $C_0^B = 0 \frac{\text{мг}}{\text{мл}}$, $q = 0,44$, $R^2 = 0,99$; гексанол ($C_0 = 50$ мг/мл): $k_A = 0,001$ Гр $^{-1}$, $C_0^A = 50 \frac{\text{мг}}{\text{мл}}$, $R^2 = 0,97$; гексаналь: $k_B = 0,001$ Гр $^{-1}$, $C_0^B = 0 \frac{\text{мг}}{\text{мл}}$, $q = 0,05$, $R^2 = 0,98$.

С помощью функции (5.3) представлена аппроксимация экспериментальных данных ЛОС в говядине (рис.5.11) с коэффициентами, представленными в таблице 1.

Таблица 5.1 — Рассчитанные коэффициенты функции (5.3) для различных ЛОС, идентифицируемых в образцах говядины.

Соединение	k_A (Гр $^{-1}$)	k_B (Гр $^{-1}$)	C_0^A (мг/кг)	C_0^B (мг/кг)	q (Гр $^{-1}$)	R
Гексаналь	2.22	2.22	1.89	0.27	0.43	0.99
1-пентанол	1.77	1.77	0.28	0.08	0.07	1.00
Диметил сульфид	0.01	37.1	362.1	0.12	0.03	1.00
2-бутанон	1.34	335.2	64.6	0.17	0.34	1.00

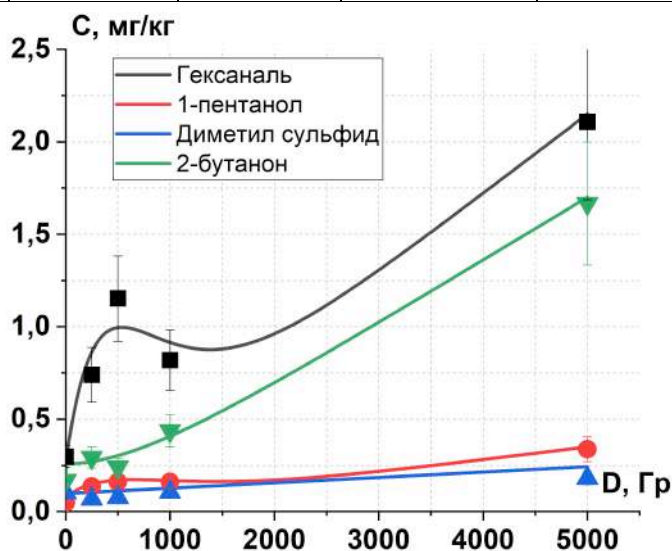


Рисунок 5.11 — Рассчитанные по формуле (5.3) и экспериментальные зависимости концентраций альдегида гексаналь (черная кривая), кетона 1-пентанола (красная кривая), серосодержащего соединения диметил сульфида (синяя кривая) и кетона 2-бутанона (зеленая кривая) в образцах говядины после при обработке электронами.

На рисунке 5.12 представлены рассчитанные по формуле (5.3) и экспериментальные зависимости концентраций различных ЛОС, идентифицированных в различных биообъектах. Таким образом, разработанная модель адекватно описывает зависимости всех ЛОС от дозы, идентифицируемых в биообъектах с различным белково-жиро-углеводным составом [398].

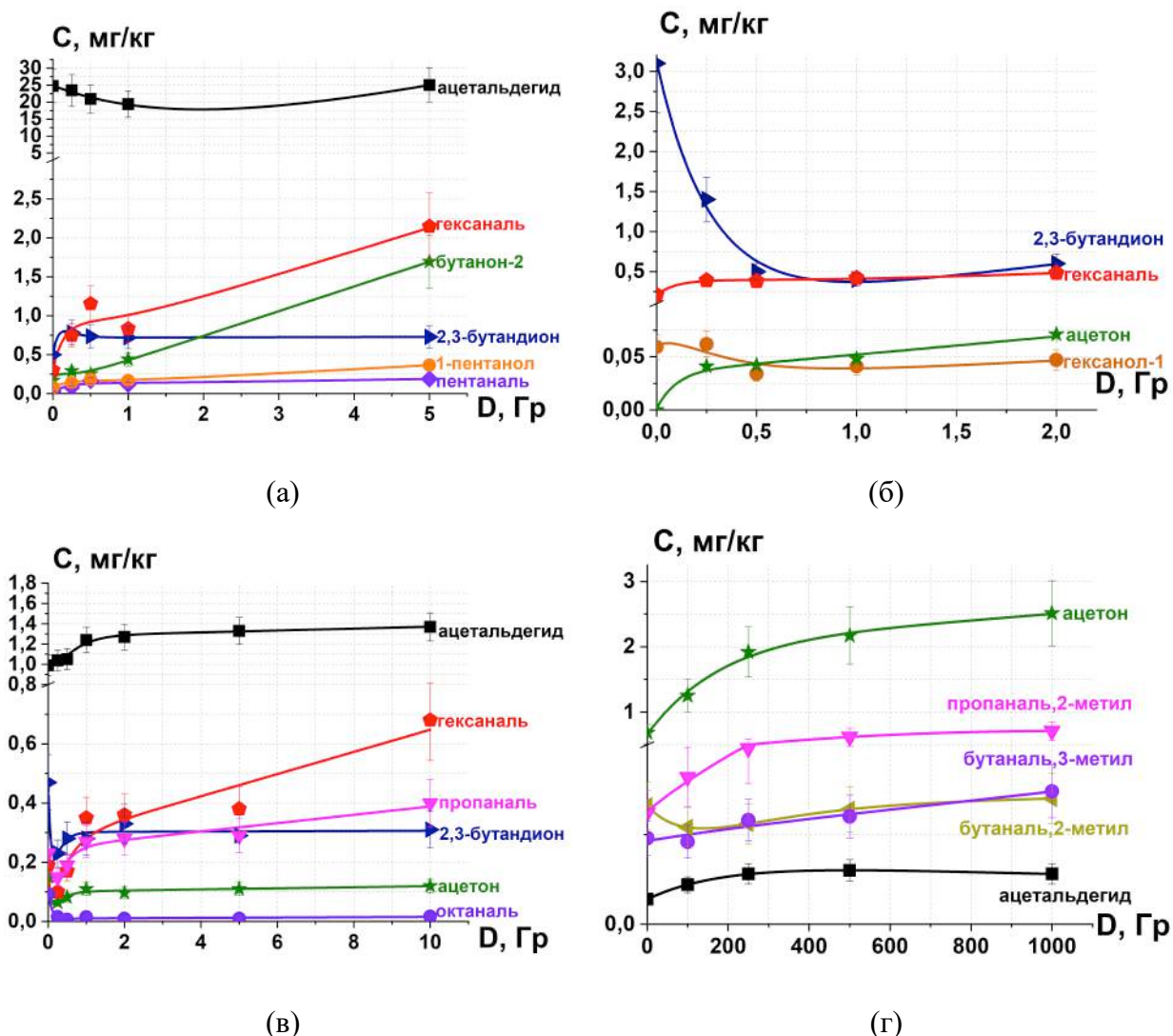


Рисунок 5.12 —Рассчитанные по формуле (5.3) и экспериментальные зависимости концентраций ЛОС, идентифицированных в необлученных и облученных образцах говядины (а), индейки (б), семги (в) и картофеля (г), от дозы облучения электронами.

Радиационно-химические превращения ЛОС в облученных биообъектах при хранении

Для оценки влияния времени хранения на содержание ЛОС в биообъектах после проведения радиационной обработки был проведен мониторинг ЛОС в различных биообъектах, облученных электронами с энергией 1 МэВ в дозах 250-5000 Гр. Одностороннее облучение образцов фарша говядины массой 0,5 мл в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эпендорф ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ. Ток пучка во всех

сессиях облучения составил 50 нА. Коэффициент однородности одностороннего облучения электронами составил $K_1'^{эл} = (0,62 \pm 0,03)$ отн.ед. Для одного измерения в сутки профиля летучих органических соединений использовалось 2 г фарша, т.е. 4 пробирки эппендорф. Количество измерений на одну дозу составило n=5. Измерения профиля ЛОС проводились в течение 4 суток после радиационной обработки.

На рисунке 5.13 представлены классы ЛОС, включая соотношение между суммарными концентрациями соединений различных классов, измеренными сразу после облучения (рисунок 5.13а), на 2-й (рисунок 5.13б) и 4-й (рисунок 5.13в) день наблюдения в необлученных образцах говядины и в образцах, облученных в дозе 5000 Гр.

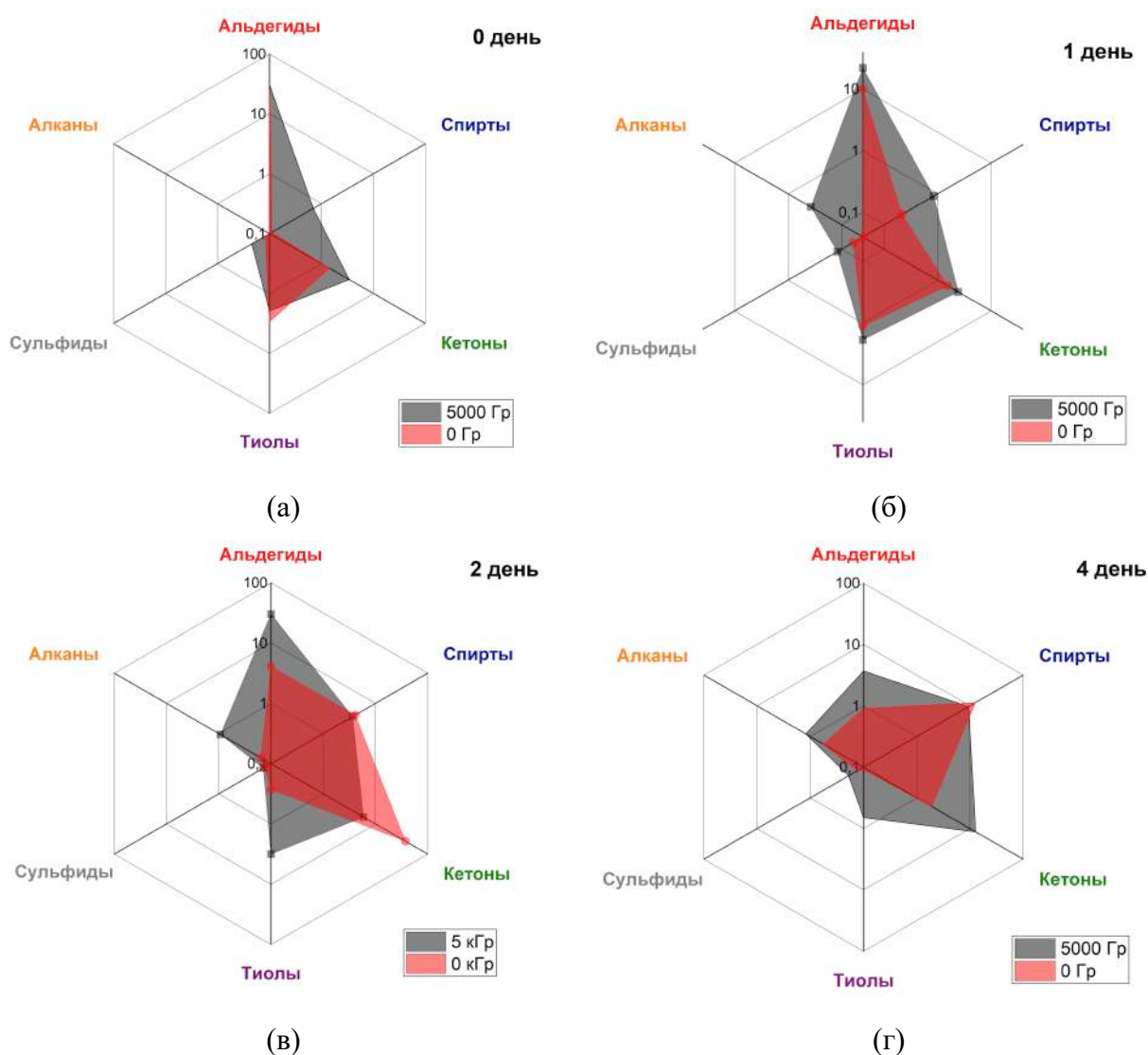


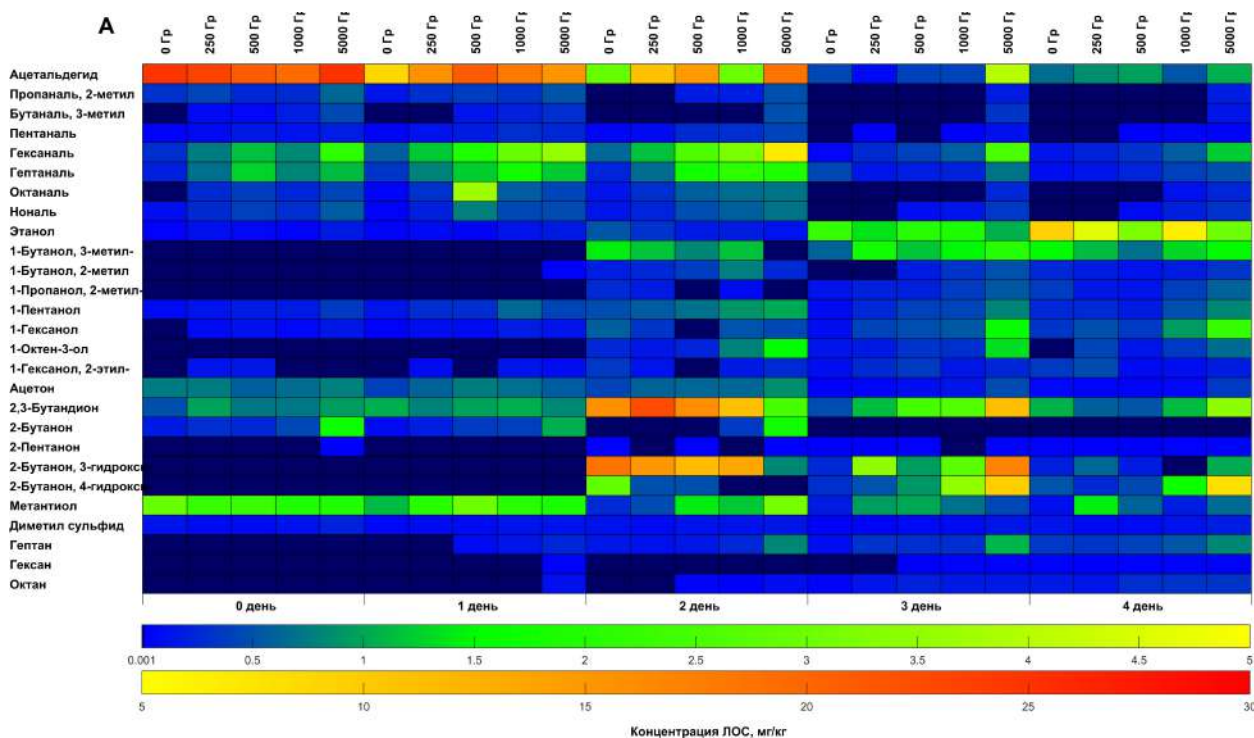
Рисунок 5.13 – Летучие соединения, идентифицированные в необлученных образцах говядины и в образцах говядины, облученных 5000 Гр, измеренные в день 0 (а), день 1 (б), день 2 (в) и день 4 (г) во время хранения.

Сразу после облучения спирты и серосодержащие соединения, которые не были обнаружены в необлученных образцах говядины, были зафиксированы в образцах говядины,

облученных разными дозами, и существует определенная зависимость концентрации от дозы облучения. В начале исследования некоторые соединения, которые впоследствии были обнаружены как в необлученных, так и в облученных образцах говядины, отсутствовали и появлялись постепенно с течением времени (рис. 5.13а).

В то же время в необлученных и облученных образцах говядины в течение двух дней после облучения были обнаружены некоторые кетоны (рис. 5.13 а,б,в), которые исчезали в течение срока хранения. Интересно, что в образцах облученной говядины все альдегиды были обнаружены сразу после облучения и в течение всех четырех дней наблюдения (рис. 5.13). Большинство спиртов были обнаружены после двух дней хранения как в необлученных, так и в облученных образцах (рис. 5.13г). Алканы не были обнаружены сразу после облучения ни в необлученных, ни в облученных образцах говядины (рис. 5.13а). Два серосодержащих соединения, которые были обнаружены в день 0 в необлученных и облученных образцах говядины, также были обнаружены в течение всех четырех дней хранения (рис. 5.13). Половина кетонов, обнаруженных в образцах говядины во время эксперимента, была обнаружена в день 0, в то время как оставшаяся часть кетонов появлялась с течением времени (рис.5.13).

На рисунке 5.14 показаны концентрации ЛОС в говядине, облученной в различных дозах, и в образцах необлученной говядины, которые были определены в течение четырех дней хранения. Представлены данные концентраций ЛОС в (мг/кг) (рис.5.14а) и концентраций, нормированных на максимальное значение каждого соединения (рис.5.14б).



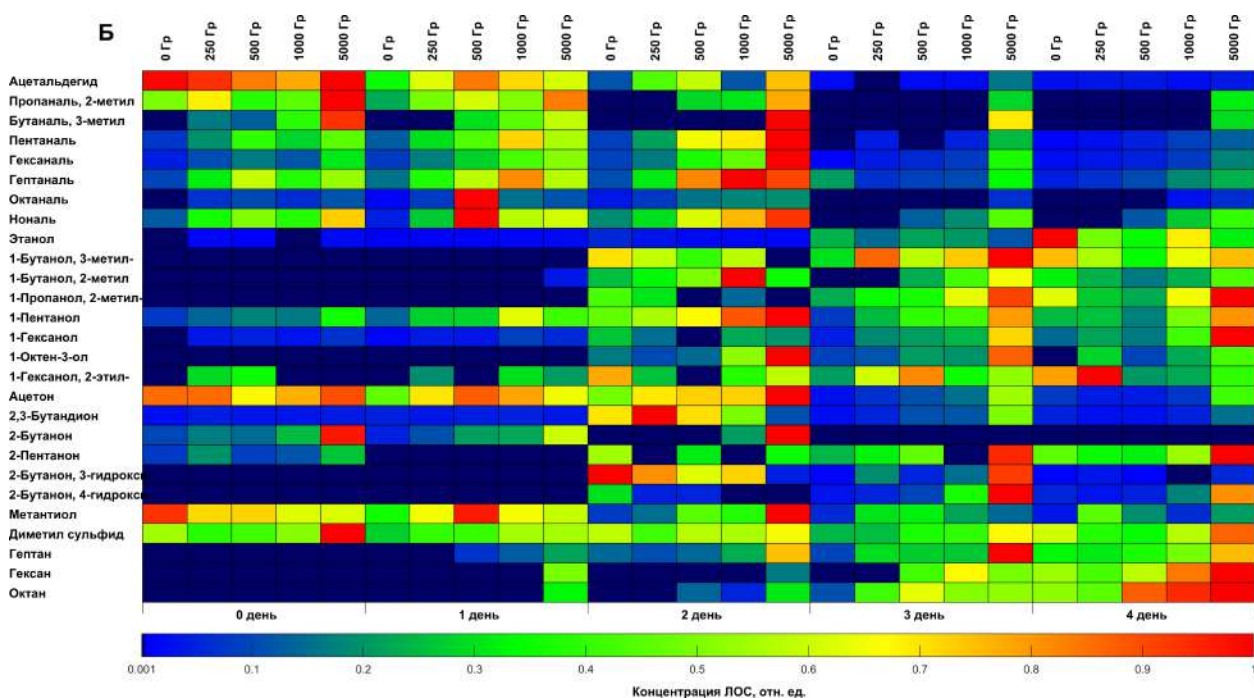


Рисунок 5.14 — Тепловая карта концентрации летучих органических соединений

в говядине, облученной разными дозами в течение четырех дней хранения: (а)

в мг/кг, (б) в относительных единицах. Темно-синие клетки показывают, что соединение не было обнаружено.

Тепловые карты показывают, что в зависимости от дня хранения преобладают различные классы соединений. В то время как высокое содержание альдегидов и метантиола наблюдалось с 0 по 2 день после облучения, а кетоны и спирты увеличивались в концентрации со 2 по 3 день и со 2 по 4 день соответственно, алканы показали дозозависимый рост с 3 по 4 день после облучения. Поскольку ЛОС определяют запах говядины, можно сделать вывод, что преобладание альдегидов и серосодержащих соединений приводит к тому, что говядина источает специфический запах сразу после облучения. Специфический запах говядины через 3-4 дня хранения после облучения является результатом повышенной концентрации спиртов и алкенов.

На рисунках 5.15 а-г представлены кинетики концентраций различных классов ЛОС в образцах говядины, имеющих явную дозово-временную зависимость: альдегидов, образованные при окислении липидов (пентаналь, гексаналь, гептаналь, октаналь, нонаналь) (рис. 5.15а), альдегидов, образованных при окислении белка (бутаналь, 3-метил- и бутаналь, 2-метил-) (рис. 5.15б), алканов (рис. 5.15в), спирта этанола (рис. 5.15г).

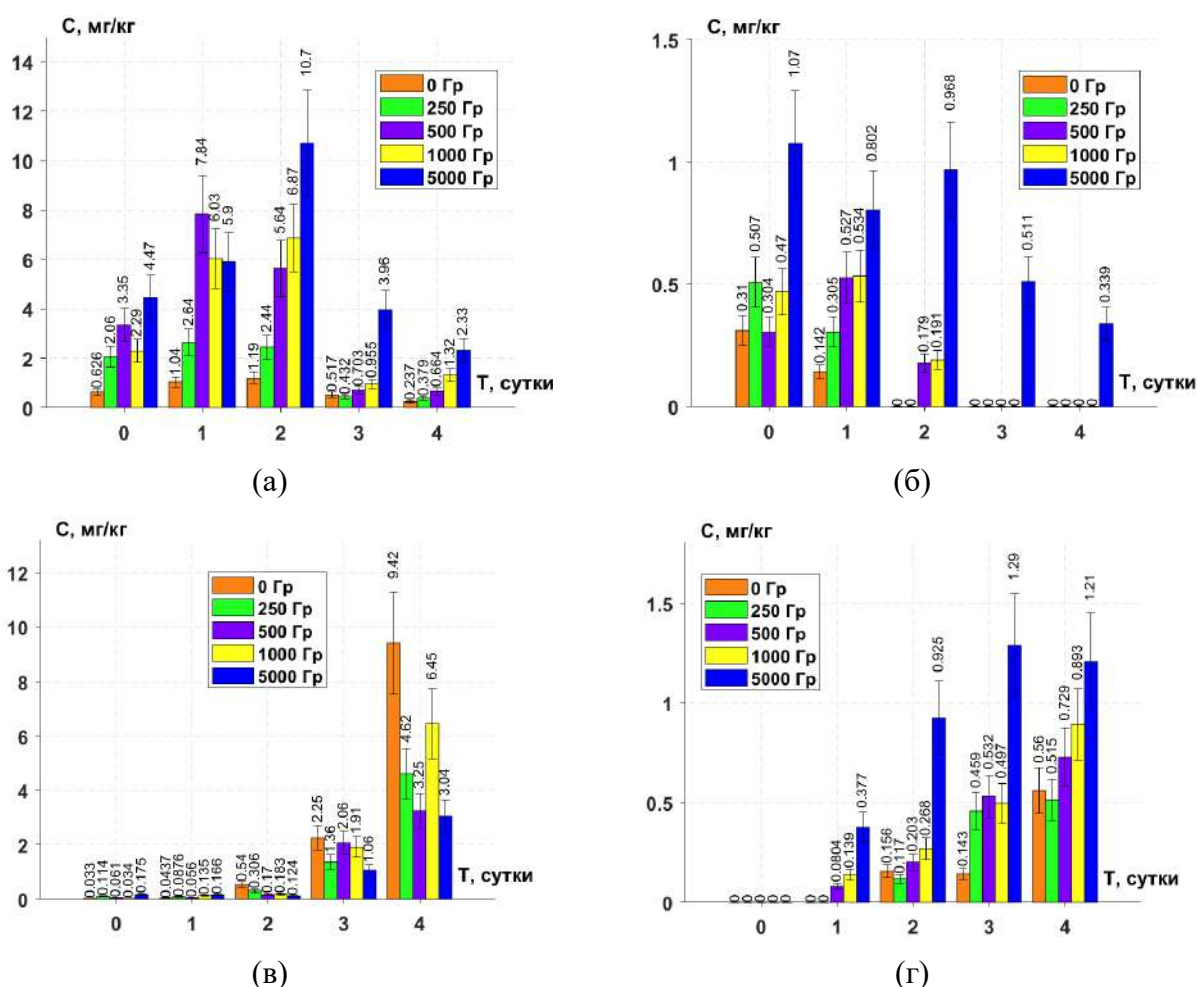


Рисунок 5.15 — Зависимости концентрации в (мг/кг) суммарной концентрации альдегидов, являющихся производными окисления липидов (а), суммарной концентрации альдегидов, являющихся производными окисления белков (б), алканов (в) и этилового спирта (г) в образцах говядины в зависимости от времени хранения.

Альдегиды окисления липидов

Установлено, что продукты окисления липидов, прямоцепочечные альдегиды, ответственные за специфический запах мясных продуктов после [203], показывают схожую зависимость концентрации от дозы и времени хранения: увеличение концентрации на 1 и 2 день после облучения с последующим резким снижением в течение оставшегося периода мониторинга (рис. 5.15а). Обнаружено, что чем выше была доза облучения, тем большее максимальное значение концентрации альдегидов идентифицируется в биообъектах. Более того, пик выхода альдегидов, образующихся при окислении липидов, смещается в сторону увеличения времени наблюдения при увеличении дозы облучения. Следует отметить, что максимальный и наиболее продолжительный эффект выхода альдегидов, образующихся при окислении липидов, наблюдается в биообъектах, облученных в дозах свыше 5000 Гр.

Альдегиды окисления белков

Установлено, что продукт окисления изолейцина разветвленный альдегид бутаналь,3-метил [401], не идентифицируется в необлученных мясных продуктах в течение 4 суток после обработки. Как и для прямцепочечных альдегидов, пик концентрации альдегид бутаналь,3-метил тем выше, чем выше доза облучения, и тем дольше он идентифицируется в облучённых мясных продуктах (рис. 5.15б). Альдегид бутаналь,2-метил идентифицируется сразу после облучения и не обнаруживается в течение последующих четырех дней мониторинга после радиационной обработки.

Спирты

Общая концентрация спиртов во всех необлученных и облученных биообъектах мясного происхождения увеличивается со временем хранения после обработки. Основной вклад в концентрацию спиртов вносит этанол (рис. 5.15в), который является продуктом гидролиза гликогена, инициированного микробными ферментативными [402,403]. Концентрация этого соединения в необлученных биообъектах увеличивается экспоненциально в течение четырех дней хранения, что свидетельствует об увеличении бактериальной активности в необлученных биообъектах. В образцах говядины, облученных дозами от 250 Гр до 5000 Гр, наблюдается увеличение концентрации этанола, причем скорость увеличения этанола уменьшается по мере увеличения дозы облучения, что свидетельствует об инактивации микроорганизмов под действием облучения. Таким образом, чем выше доза облучения, тем ниже концентрация микроорганизмов и тем ниже концентрация этанола.

Кетоны

Общая концентрация всех кетонов, обнаруженных в биообъектах мясного происхождения после радиационной обработки, резко возрастает на 2-й день после облучения в дозах от 0 до 1000 Гр. Основной вклад в общую концентрацию кетонов после облучения вносят 2-бутанон, 3-гидрокси- и 2,3-бутандион, которые отвечают за специфический маслянистый запах [203]. Согласно литературным данным, 3-гидрокси-2-бутанон и 2,3-бутандион накапливаются в мясных продуктах в результате окисления спирта 2,3-бутандиола, который является продуктом окисления жирных кислот, путем разложения дикарбонила и гидроксикарбонила и автолиза полисахарида гликогена, который присутствует в мышечной [404,405]. Поскольку в биообъектах мясного происхождения при хранении не обнаруживается спирт 2,3-бутандиола, 2-бутанон, 3-гидрокси- и 2,3-бутандион образуются в результате автолиза гликогена в присутствии гидролитических ферментов, катализирующих разложение гликогена.

Серосодержащие соединения

Серосодержащие соединения метанетиол и диметилсульфид, обнаруженные в образцах мясной продукции после обработки, образуются в результате деградации серосодержащих аминокислот, таких как метионин, цистеин и [406], которые являются строительными блоками белков. Диметилсульфид ответственен за довольно неприятный запах, который часто обнаруживается в облученных мясных продуктах после обработки излучением [407]. Обнаружено, что концентрация диметилсульфида в мясных продуктах, облученных в дозах от 250 Гр до 1000 Гр, близка к контрольным значениям на протяжении четырех суток после обработки. В образцах, облученных в дозе 5000 Гр, наблюдается статистически значимое увеличение концентрации диметилсульфида в 2-3 раза по сравнению с концентрацией диметилсульфида в необлученных мясных продуктах на протяжении четырех суток после обработки. Немонотонная кинетика концентрации метантиола, обладающего гнилостным запахом, в облученных образцах свидетельствует о конкуренции между накоплением этого соединения, вызванным окислением белков, и распадом метантиола в результате окисления реактивными видами кислорода.

Алканы

Концентрация идентифицированных алканов гептана, гексана и октана, представляющих собой комбинацию двух органических радикалов, образующихся при окислении жирных кислот, нелинейно возрастает в облученных биообъектах с увеличением времени хранения, при этом в необлученных образцах эти соединения не идентифицируются (рис. 5.15г). Алканы обнаруживаются в образцах мясной продукции, облученных в дозах от 500 Гр до 5000 Гр через день после облучения, причем концентрация этих соединений была тем выше, чем выше была доза облучения.

Мониторинг биообъектов мясного происхождения и мяса птицы (говядина, курица, индейка), облученных ускоренными электронами в дозах от 250 Гр до 5000 Гр, показал, что химический выход ЛОС нелинейно зависит от дозы облучения из-за сложных взаимных превращений ЛОС разных классов. Обнаружено, что альдегиды, образующиеся в результате окисления липидов, и альдегиды, образующиеся в результате окисления белков, имеют разный химический выход и скорость накопления сразу после облучения. В то время как интенсивное окисление липидов инициируется при дозе 500 Гр, интенсивность окисления белков становится соизмеримой с окислением липидов для биообъектов, облученных в дозе 5000 Гр [397]. Таким образом, установлено, что для определения границ оптимального диапазона доз радиационной обработки биообъектов необходимо учитывать не только концентрации ЛОС сразу после облучения, но и исследовать поведение ЛОС в биообъектах с течением времени. Зависимости концентраций ЛОС альдегидов, алканов как продуктов

окисления липидов и белков, и спирта этанола как показателя бактериально-ферментативной активности от дозы облучения и времени хранения после радиационной обработки могут определять границы оптимального диапазона радиационной обработки биообъекта.

5.3 Выбор оптимального диапазона доз на основе дозовых и временных зависимости концентраций летучих органических соединений

Математическая модель изменения концентрации альдегидов в биообъектах, образованных при окислении липидов после радиационной обработки, построена, исходя из предположения, что изменение концентрации альдегидов происходит как в результате прямой ионизации липидов ускоренными электронами, так и в результате окисления АФК, образующихся в продукте в результате радиолитического разложения воды. На химической стадии после облучения взаимодействие липидов с АФК приводит к образованию продуктов перекисного окисления липидов — гидропероксидов и липидных радикалов, которые продолжают окислять липиды в течение всего времени наблюдения.

Пусть $l(t)$ — количество неокисленных липидов в биообъектах в момент времени t ; α , $1/c$, — константа скорости окисления липидов, обусловленного как прямым действием радиации, так и косвенным действием АФК; R_0 — количество АФК, присутствующих в биообъекте во время хранения; β — количество АФК на единицу дозы, поглощенной биообъектом. Предположим, что только часть образующихся радикалов участвует в окислении липидов. Пусть $m=m(D)$ — доля АФК, окисляющих липиды. Тогда изменение количества неокисленных липидов с течением времени может быть описано следующим уравнением:

$$\frac{dl}{dt} = -\alpha m(R_0 + \beta D)l. \quad (5.4)$$

Согласно уравнению (5.4), количество не окисленных липидов уменьшается со временем по экспоненциальному закону:

$$l(t) = l_0(D)e^{-\alpha m(R_0 + \beta D)t}, \quad (5.5)$$

где l_0 — исходное количество не окисленных липидов в биообъекте до облучения ускоренными электронами. С учетом того, что только доля липидов окисляется в результате облучения биообъекта, изменение количества окисленных липидов со временем может быть представлено как:

$$l^{ox}(t) = l_0 k(1 - e^{-\alpha m(R_0 + \beta D)t}), \quad (5.6)$$

где k — доля липидов, подвергшихся прямой ионизации ускоренными электронами, а также взаимодействовавших с АФК, образовавшимися в образцах мяса.

Пусть x — количество альдегидов в образцах говядины. С учетом того, что только часть q окисленных липидов образует альдегиды, скорость увеличения количества альдегидов в биообъекте со временем выражается как:

$$\frac{dx}{dt} = q \frac{dl^{ox}}{dt}. \quad (5.7)$$

С учетом (5.7) уравнение, описывающее увеличение концентрации альдегидов в результате окисления липидов:

$$\frac{dx}{dt} = ql_o k \alpha m (R_0 + \beta D) e^{-\alpha m (R_0 + \beta D) t}. \quad (5.8)$$

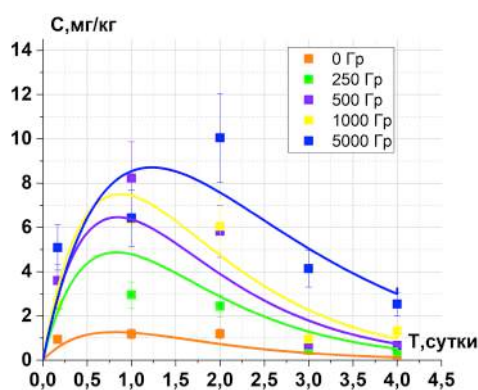
С учетом распада альдегидов в биообъекте с течением времени хранения, уравнение (5.8) преобразуется в следующее неоднородное дифференциальное уравнение первого порядка:

$$\frac{dx}{dt} = ql_o k \alpha m (R_0 + \beta D) e^{-\alpha m (R_0 + \beta D) t} - n \gamma x, \quad (5.9)$$

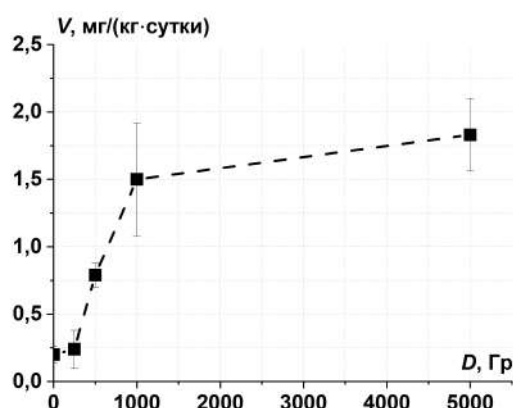
где $\gamma, 1/c$ — константа скорости распада альдегида во времени, $n = n(D)$ — доля альдегидов, распадающихся на другие соединения. Решение уравнения (5.9):

$$x(t) = \frac{ql_o k \alpha m (R_0 + \beta D)}{\alpha m - \gamma n} (e^{-\gamma n t} - e^{-\alpha m (R_0 + \beta D) t}). \quad (5.10)$$

На рисунке 5.16а представлены экспериментальные данные суммарной концентрации альдегидов пентаналь, гексаналь, гептаналь, октаналь и нонаналь в образцах говядины, облученных в дозах от 250 Гр до 5000 Гр в зависимости от времени хранения. На рисунке 5.16а также представлены функции, аппроксимирующие экспериментальные данные, рассчитанные по формуле (5.10). На рисунке 5.16б представлена рассчитанная зависимость (5.10) для концентрации альдегида гексаналь, вносящего наибольший вклад в суммарную концентрацию альдегидов, образующихся при окислении липидов.



(а)



(б)

Рисунок 5.16 — Экспериментальные данные и рассчитанные зависимости суммарной концентрации альдегидов C (а) от времени хранения t , сутки в необлученных образцах говядины, а также в образцах, облученных в дозах от 250 Гр до 5000 Гр, и аппроксимация

экспериментальных зависимостей по формуле (5.10); $\bar{b}$ — рассчитанная скорость увеличения концентрации альдегидов V , мг·(кг·сутки)⁻¹ в зависимости от дозы облучения образцов.

Установлено, что выражения $ql_0k(D)$, $\alpha m(D)(R_0 + \beta D)$, $\gamma n(D)$, являются монотонными и зависят от дозы следующим образом:

$$ql_0k(D) = x_1 + x_2 * (1 - e^{-x_3 * D}), \quad (5.11)$$

$$ql_0k(D) = x_1 + x_2 * (1 - e^{-x_3 * D}), \quad (5.12)$$

$$n(D) = x_6 + x_7 * D, \quad (5.13)$$

где $x_1 = 3,66$, $x_2 = 18,04$, $x_3 = 3,37$, $x_4 = 1,16$, $x_5 = -0,054$, $x_6 = 1,29$, $x_7 = -0,1097$ — рассчитанные коэффициенты аппроксимации, $R^2 = 0,99$. В случае аппроксимации суммарной концентрации альдегидов значения параметров модели являются усредненными по всем альдегидам из липидов. Согласно модели, количество окисленных липидов $ql_0k(D)$, образующих альдегиды, экспоненциально возрастает с увеличением дозы облучения, что объясняется тем, что чем выше доза, тем больше электронов непосредственно действует на липиды, а также больше возникает АФК в результате радиолитического распада воды, и тем больше липидов окисляется при облучении. Согласно модели, количество АФК, включающие как постоянно присутствующие в образцах говядины, так и образующиеся в результате облучения, выраженное как $m(D)(R_0 + \beta D)$, монотонно уменьшается с увеличением дозы облучения, поскольку большая доза может увеличить вероятность взаимодействия радикалов с другими органическими молекулами. Кроме того, с увеличением дозы облучения может повышаться вероятность нейтрализации радикалов. Как показывает модель, количество альдегидов, разлагающихся на другие соединения, выраженное как $\gamma n(D)$ уменьшается с увеличением дозы облучения, что можно объяснить тем, что на вероятность вступления альдегидов в различные химические реакции, приводящие к их распаду, влияют другие биохимические процессы, происходящие в облученных биообъектах во время хранения.

Исходя из характера поведения зависимости концентраций альдегидов в облученных образцах гомогената в первые двое суток наблюдения (рис. 5.15а, 5.16а), установлено, что скорость нарастания суммарной концентрации альдегидов V увеличивается в 3,3-7,5 раза при облучении в диапазоне доз 500–1000 Гр по сравнению показателями необлученного гомогената и гомогената, облученного в дозе 250 Гр (рис. 5.16б). Возрастание скорости V свидетельствует о существенном развитии процессов перекисного окисления липидов в гомогенате, обработанном в диапазоне доз 500–1000 Гр. Этот факт позволяет обосновать выбор дозы, соответствующей верхней границе оптимального диапазона доз, при которой начинается активное развитие повреждения нецелевых мишеней. Также при выборе верхней границы можно учитывать предельно допустимый уровень концентрации альдегидов в мясе.

Содержание спирта этанола является показателем повреждения целевых мишеней в биообъектах после радиационной обработки. Спустя 4 суток после обработки в диапазоне доз 250–5000 Гр наблюдалась дозовая зависимость уменьшения содержания этанола в гомогенате по сравнению с необлученными образцами. Наблюдались статистически значимые различия концентраций этанола в 2 раза при обработке в дозе 250 Гр по сравнению с показателями необлученных образцов ($p \leq 0,01$, one-way ANOVA). Таким образом, дозы 250–300 Гр можно принять за основу при установлении левой границы оптимального диапазона доз радиационной обработки гомогената говядины.

Разработанная модель, описывающая кинетику концентраций летучих органических соединений альдегидов, являющихся токсичными соединениями, обеспечивает возможность выбора границ оптимального диапазона доз биообъектов. Выработанный подход к выбору критериев оптимального диапазона доз посредством анализа концентраций летучих соединений в биообъектах в результате радиационной обработки может быть применен для широкого спектра биообъектов.

Концентрации летучих органических соединений – маркеры радиационной обработки биообъектов

В работе экспериментально установлено, что суммарная концентрация альдегидов (пропаналь, 2-метил, бутаналь, 2-метил, бутаналь, 3-метил, пентаналь, гексаналь, гептаналь, октаналь, нанональ) является маркером интенсивности окисления липидов и белков в биообъектах после радиационной обработки, т.е. определяет эффективность повреждения окружающих биологических молекулярных структур с эффективностью $\varepsilon^{\text{нцм}} = F(K_1^{\text{нцм}}, K_2^{\text{нцм}}, K_3^{\text{нцм}})$. Выявлено, что концентрация спирта этанола является косвенным индикатором эффективности повреждения микроорганизмов $\varepsilon^{\text{цм}}$, целевых мишеней радиационной обработки биообъекта (рис. 5.17). При этом установлено, что параметры источника (тип излучения, доза, мощность дозы) и характеристики биообъекта (состав органических молекул) влияют на эффективность повреждения окружающих биологических молекулярных структур и на концентрацию ЛОС, как индикаторов окислительных и ферментативно-бактериальных процессов, протекающих в биообъектах после радиационной обработки.

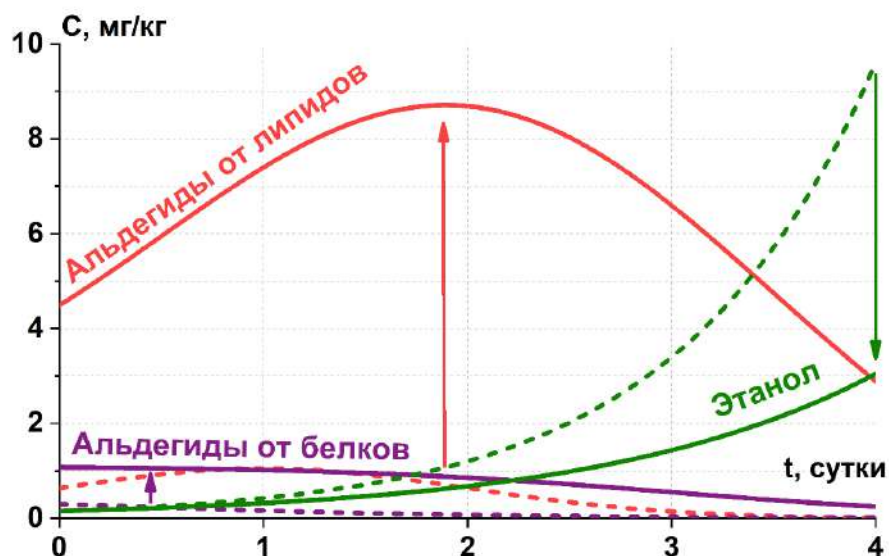


Рисунок 5.17 —Схематичное изображение зависимости концентраций альдегидов от липидов (красная линия) и от белков (фиолетовая линия), спирта этанола (зеленая линия) в образцах говядины от времени хранения образцов говядины, облученных в дозе 5000 Гр (сплошные линии), и в необлученных образцах (штрихованные линии). Стрелками показано изменение концентрации ЛОС с увеличением дозы от 0 до 5000 Гр.

Исследование состава ЛОС в различных биообъектах выявило ряд соединений, идентифицированных в течение двух часов после обработки в диапазоне доз от 250 Гр до 2000 Гр только в облученных образцах биообъектов. На рисунке 5.18 представлены экспериментальные зависимости относительных концентраций 3-метил-бутанала, обнаруженного в облученных говядине и индейке, а также метанетиола и ацетона, обнаруженных в обработанных образцах картошки и семги, соответственно (рис.5.18). Значения концентраций нормированы на максимальное значение концентрации данного соединения, обнаруженного в различных биообъектах при облучении в диапазоне доз от 250 Гр до 2000 Гр. Поскольку соединения отсутствуют в необлученных образцах биообъектов, они являются продуктами распада окружающих биомакромолекул — мишеней, которые под действием излучения распадаются. С учетом экспериментальных данных, эффективность повреждения биомаркомлекул K определяется фактором однородности облучения K_1 и фактором K_2 , зависящем от параметров мишени, характеризуемых величиной α (Гр⁻¹) — чувствительностью биологической мишени в рамках математической модели, описывающей зависимость повреждения мишени от дозы как $K_2 = 1 - e^{-\alpha D}$. Таким образом, концентрация ЛОС представляет собой маркер повреждения биомакромолекул, характеризует эффективность их повреждения и описывается по формуле:

$$\varepsilon = K_1 \cdot K_2 = K_1 \cdot (1 - e^{-\alpha D}) \quad (5.14)$$

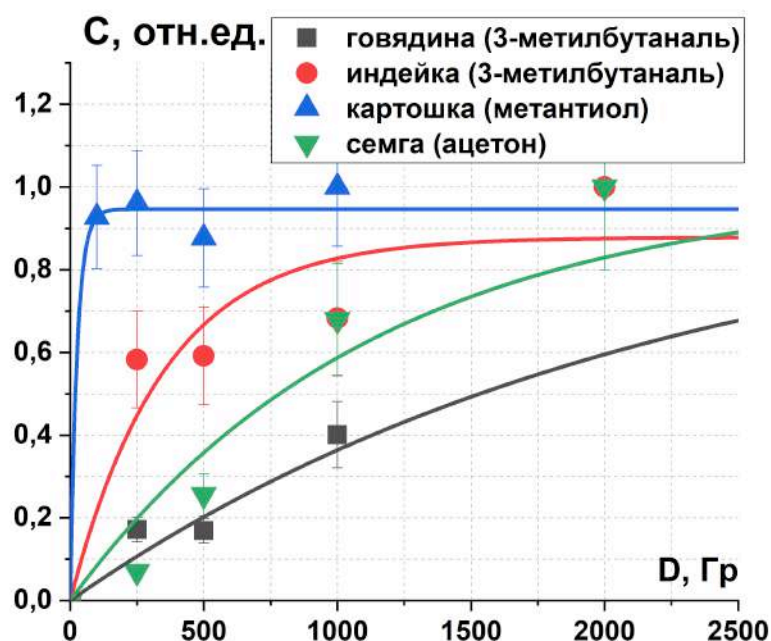


Рисунок 5.18 — Зависимости относительных концентраций летучих соединений 3-метилбутаналь в говядине (черная кривая) и индейке (красная кривая), метантиола в картошке (синяя кривая) и ацетона в семге (зеленая кривая), от дозы облучения.

Аппроксимации экспериментальных данных даны по формуле (5.14) с параметрами: 3-метил-бутаналь (говядина): $K_1 = (0,99 \pm 0,01)$ отн.ед., $\alpha = (0,00045 \pm 0,00016)$ (Гр⁻¹), $R = 0,97$; 3-метил-бутаналь (индейка): $K_1 = (0,87 \pm 0,12)$ отн.ед., $\alpha = (0,0029 \pm 0,0013)$ (Гр⁻¹), $R = 0,9$; метантиол (картофель): $K_1 = (0,94 \pm 0,03)$ отн.ед., $\alpha = (0,04 \pm 0,01)$ (Гр⁻¹), $R^2 = 0,98$; ацетон (семга): $K_1 = (0,99 \pm 0,01)$ отн.ед., $\alpha = (0,00088 \pm 0,00016)$ (Гр⁻¹), $R^2 = 0,91$.

5.4 Концентрация производных форм миоглобина как маркер окислительных процессов в биообъектах после воздействия пучка электронов

Спектрофотометрический метод количественной оценки концентраций производных миоглобина в биообъектах (рис. 5.19) основан на нелинейной аппроксимации экспериментально измеренного спектра раствора миоглобина, полученного путем экстрагирования биообъектов в 0,01М фосфатно-буферного раствора с концентрацией NaCl 0,137 моль/л, теоретической кривой $A(\lambda_l)$, описываемой формулой:

$$A_l(\lambda_l)_{theory} = \varepsilon_{Mb,l} C_{Mb} L + \varepsilon_{MbO_2,l} C_{MbO_2} L + \varepsilon_{MetMb,l} C_{MetMb} L + \frac{B}{\lambda^4} + S, \quad (5.15)$$

где l — индекс длины волны; $\varepsilon_{Mb,l}(\lambda_l)$, $\varepsilon_{MbO_2,l}(\lambda_l)$ и $\varepsilon_{MetMb,l}(\lambda_l)$ — молярные поглощения дезоксимиоглобина (Mb), оксимиоглобина (MbO₂) и метмиоглобина (MetMb),

соответственно, C_{Mb} , C_{MbO_2} и C_{MetMb} — концентрации Mb, MbO₂ и MetMb, соответственно; L = 1 см — толщина слоя раствора; B , S — коэффициенты рассеяния.

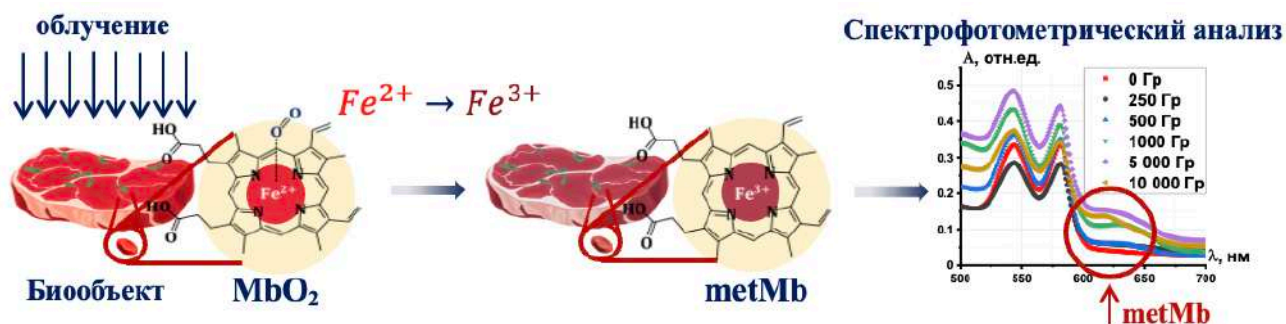
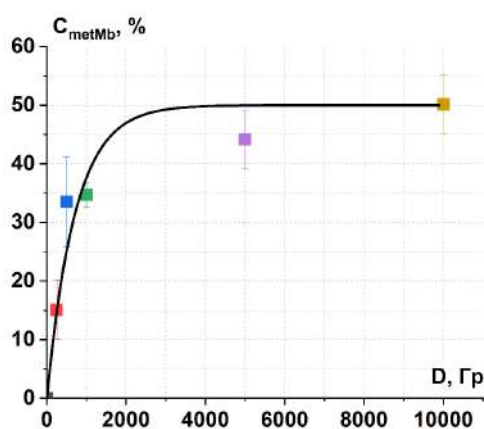


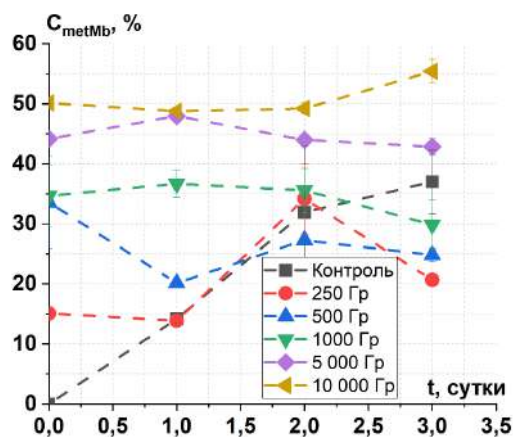
Рисунок 5.19 —Методический подход к определению производных миоглобина в биообъекте.

Двустороннее облучение кусков говядины массой $(4 \pm 0,2)$ г в форме параллелепипеда высотой (6 ± 1) мм, длиной $(2,0 \pm 0,2)$ см и шириной $(2,0 \pm 0,2)$ см в чашках петри диаметром 4 см ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ при токе пучка 50 нА. Образцы мяса облучались ускоренными электронами и рентгеновским излучением в дозах 250, 500, 1000, 5000 и 10000 Гр. Для одного измерения профиля летучих органических соединений использовалось 4 г фарша, т.е. 1 чашка петри. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

Обнаружено, что в биообъектах при малых сроках хранения при температуре 4-5°C миоглобин присутствует в форме оксимиоглобина, концентрация метмиоглобина C_{MetMb} не превышает 5%. Экспериментально установлено, что облучение ускоренными электронами биообъектов, например, говядины, приводит к увеличению концентрации метмиоглобина (metMb) C_{MetMb} (рис. 5.20а). На рисунке 5.20б показана зависимость C_{MetMb} от времени хранения образцов говядины. Из графика видно, что C_{MetMb} в необлученных образцах возрастает с 0% до 35% в течение 3 дней наблюдения, а C_{MetMb} в растворе, полученном из образцов говядины, облученных в дозах 250 Гр и 500 Гр, показывает аналогичную зависимость с 1-го на 2-ой дня хранения. При этом C_{MetMb} в растворах, полученных из образцов говядины, облученных в дозах 1000 Гр, 5000 Гр и 10000 Гр, существенно не меняется в течение 3 дней хранения [408].



(а)



(б)

Рисунок 5.20 —Относительная концентрации метгемоглобина в образцах говядины в зависимости от дозы, измеренные через час после облучения (а), в зависимости от времени хранения необлученных образцов (черная кривая) и облученных в дозе 250 Гр (красная кривая), 500 Гр (синяя кривая), 1000 Гр (зеленая кривая), 5000 Гр (фиолетовая кривая) и 10000 Гр (желтая кривая) (б).

Механизмы образования активных форм кислорода при хранении биологических объектов во время и после радиационной обработки

Уровень метмиоглобина в образцах говядины при облучении биообъектов зависит от факторов, определяющих эффективность окисления белка миоглобина $\varepsilon^{\text{мет}} = F(K_1^{\text{мет}}, K_2^{\text{мет}}, K_3^{\text{мет}})$ за счет прямого действия излучения (рис. 5.20а). При дальнейшем хранении концентрация метмиоглобина C_{MetMb} в биообъектах определяется биохимическими процессами, происходящими в биообъектах при хранении. Экспериментальные данные на рисунке 5.20б показывают, что зависимость C_{MetMb} в необлученных образцах говядины от времени хранения имеет сигмоидальный характер в течение периода наблюдения 3 суток, что свидетельствует о наличии связи между уровнем metMb и количеством бактерий в говядине. Увеличение концентрации metMb в образцах говядины также происходит за счет автоокисления миоглобина, вызванного контактом говядины с кислородом во время хранения. Причина снижения концентрации metMb в образцах говядины в процессе хранения может быть обусловлена автовосстановлением metMb до MbO₂, которое происходит под воздействием различных антиоксидантных процессов. На рисунке 5.20б показано, что концентрация metMb в образцах говядины, облученных в дозах 250 Гр и 500 Гр, снижается через сутки после облучения, что свидетельствует о том, что в образцах говядины в процессе хранения происходит автовосстановление metMb до MbO₂.

Математическое описание изменения концентрации metMb в биообъекте после радиационной обработки базируется на представлении молекул миоглобина как динамических статистических ансамблей, взаимно переходящих друг в друга в процессе облучения и хранения (рис. 5.21).

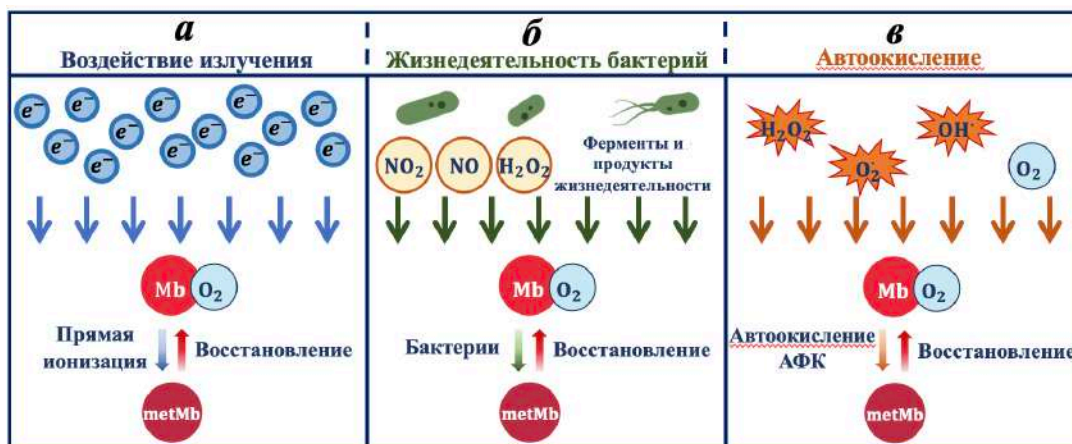


Рисунок 5.21 — Молекулы миоглобина — статистические динамические ансамбли, определяющиеся: а) воздействием ионизирующего излучения; б) жизнедеятельностью бактерий; в) автоокислением.

На рисунке 5.21 представлены следующие ансамбли:

- ансамбль N_1 — молекулы metMb, которые появляются в результате окисления MbO₂ под прямым действием ускоренных электронов при облучении;
- ансамбль N_2 — молекулы metMb, образующиеся в результате деятельности бактерий в течение всего периода хранения;
- ансамбль N_3 — молекулы metMb, которые образуются в результате автоокисления MbO₂ в присутствии АФК, присутствующих как в необлученных, так и в облученных образцах;
- ансамбль N_4 — депо молекул MbO₂, которые за время наблюдения могут превращаться в молекулы metMb за счет окисления и обратно за счет автовосстановления.

Основные допущения модели:

1. Каждый ансамбль возникает под воздействием определенных факторов, таких как прямое воздействие ускоренных электронов, бактериальная активность и автоокисление.
2. В начале наблюдения $t=0$ молекулы гемоглобина N в образцах говядины представлены только в виде молекул MbO₂, т.е. $N(t=0)=N_4(t=0)=100\%$. При дальнейших превращениях производных гемоглобина сумма всех молекул в четырех ансамблях всегда равна 100%;
3. В модели предполагается, что за время наблюдения происходят взаимные превращения MbO₂ в metMb и обратно, а процесс перехода MbO₂ в дезоксимиоглобин Mb и обратно

не учитывается. Концентрация Mb принимается равной 0% в течение всего времени наблюдения.

Ансамбль N_1

Пусть σ - эффективное сечение взаимодействия электрона с ионом Fe^{2+} , которое соответствует размеру иона железа Fe^{2+} и составляет порядка 10^{-16} см^2 . Пусть φ_N — плотность потока электронов, рассчитываемая по формуле: $\varphi_N = \frac{\Delta N_e}{\Delta S \Delta t}$, где ΔN_e — количество электронов, пересекающих поверхность площадью ΔS , ориентированную перпендикулярно первоначальному направлению электронов в пучке в течение времени Δt . Согласно экспериментальным параметрам облучения образцов мяса, средняя плотность потока электронов при облучении образцов составила $\varphi_N = 3 \cdot 10^{10} \text{ 1/(см}^2 \cdot \text{с)}$.

Будем считать, что количество ионов Fe^{2+} , уменьшающихся в единицу времени при воздействии ускоренных электронов за счет окисления до Fe^{3+} , прямо пропорционально плотности потока, сечению взаимодействия σ , а также количеству ионов Fe^{2+} в данный момент времени. Дифференциальное уравнение уменьшения количества ионов железа $N_{Fe^{2+}}$ за счет окисления до Fe^{3+} за время облучения t_{exp} можно записать в виде:

$$\frac{dN_{Fe^{2+}}}{dt_{exp}} = -\varphi_N \sigma N_{Fe^{2+}}, \quad (5.16)$$

при этом в момент начала облучения $N_{Fe^{2+}}(t_{obl} = 0) = 100\%$.

Так как суммарная концентрация MbO_2 и $metMb$ остается постоянной в течение времени наблюдения, то $N_{Fe^{2+}} + N_{Fe^{3+}} = const$, и в момент времени $t = 0$ $N_{Fe^{3+}}(t_{exp} = 0) = 0\%$. Тогда с учетом решения уравнения (5.17) концентрация $metMb$ будет увеличиваться с увеличением времени облучения по закону:

$$N_1(t_{exp}) = N_{Fe^{2+}} - N_{Fe^{2+}} * e^{-\varphi_N \sigma t_{exp}} = N_{Fe^{2+}}(1 - e^{-\varphi_N \sigma t_{exp}}). \quad (5.18)$$

С учетом того, что доза, поглощенная опытными образцами, пропорциональна времени облучения и мощности дозы, среднее значение которой составило $P = (4 \pm 0,6) \text{ Гр/с}$, то зависимость концентрации $metMb$ в образцах мяса говядины за счет воздействия ускоренных электронов, от дозы облучения описывается выражением:

$$N_1(D) = N_{Fe^{3+}}(t_{exp}) = N_{Fe^{2+}}(1 - e^{-\varphi_N \sigma P D}) = N_{Fe^{2+}}(1 - e^{-\alpha D}), \quad (5.19)$$

где $\alpha \approx 10^{-3} \text{ 1/Гр}$ — коэффициент, учитывающий параметры облучения и начальную концентрацию MbO_2 в образцах говядины.

Поскольку миоглобин является биологической мишенью для ускоренных электронов, то согласно экспериментальным данным (рис.5.20 а), Аппроксимация экспериментальных данных (рис.5.20 а) приведена по формуле (4.1): $\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot (1 - e^{-\alpha D})$. Установлено, что влияние фактора неоднородности радиобиологической чувствительности молекул

миоглобина при облучении говядины в диапазоне доз от 250 Гр до 10000 Гр не проявилось. Аппроксимация экспериментальных данных на рисунке (5.20а) по формуле (5.14) дана с коэффициентами $K_1 = (0,6 \pm 0,01)$ отн.ед., $\alpha = (0,0014 \pm 0,0001)$ (Гр⁻¹), $R^2 = 0,97$. Рассчитанная по формуле (4.1) однородность облучения $K_1(D)$ говядины ускоренными электронами близка рассчитанному значению однородности распределения поглощенной дозы в водном фантоме в форме параллелепипеда $K_1^{Geant} = (0,62 \pm 0,03)$ отн.ед., размеры которого соответствуют размерам кусков говядины, обрабатываемых электронами.

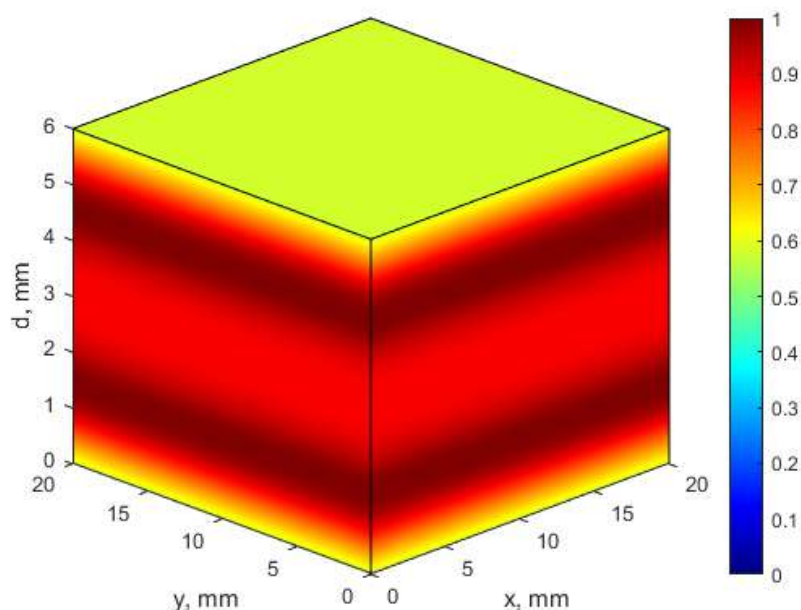


Рисунок. 5.22 — 3D карта распределения относительной поглощенной дозы в водном фантоме в форме параллелепипеда высотой 6 мм, длиной 20 мм и шириной 20 мм при обработке ускоренными электронами с $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ.

Данная зависимость $K(D)$ может служить калибровочной кривой для определения дозы, поглощенной образцами мяса.

Тот факт, что только часть MbO₂ превращается в metMb, может определяться следующими физическими факторами:

- неравномерным распределением средних ионизационных потерь $\left(\frac{dE}{dx}\right)$, МэВ/см в биообъекте;
- дискретным характером взаимодействия электронов с веществом;
- однородностью распределения поглощенной дозы K_1' в объеме биообъекта;

Таким образом, имеет место пространственная неоднородность биологического эффекта в опытных образцах биообъекта при воздействии ускоренных электронов, которую нужно принимать во внимание при планировании радиационной обработки биообъектов. Таким

образом, уровень *metMb* в образцах мяса говядины после радиационной обработки можно рассматривать и как маркер окислительных процессов, вызванных излучением, и как индикатор неравномерности облучения и дискретного характера взаимодействия электронов и молекул миоглобина. Примечательно, что полученные результаты могут лечь в основу разработки биодозиметра при облучении биообъектов в дозах 100–5000 Гр.

Кинетика ансамбля N_2

Исходя из сигмоидального характера изменения концентрации метгемоглобина в контрольных необлученных образцах (рис.5.20б) предположим, что количество молекул *metMb*, принадлежащих ансамблю N_2 , в говядине пропорционально количеству бактерий x , в данный момент времени, населяющих продукт. Согласно моделям [394], численность популяции бактерий x с учетом их взаимной конкуренции, размножения и естественной гибели изменяется со временем t по закону:

$$x(t) = \frac{x_0 \varepsilon e^{\varepsilon t}}{\delta x_0 e^{\varepsilon t} - \delta x_0 + \varepsilon}, \quad (5.20)$$

где ε — коэффициент роста, равный разнице между коэффициентом размножения γ и σ , коэффициентом естественной гибели, δ — коэффициент конкуренции, $x=x_0$ — начальная концентрация бактерий в продукте в момент времени $t=0$.

В облученных биообъектах бактерии после воздействия ускоренных электронов инактивируются, т.е. скорость их размножения γ уменьшается, коэффициент естественной гибели σ увеличивается, а коэффициент роста $\varepsilon=\gamma-\sigma$ уменьшается с увеличением дозы облучения. Кроме этого, возможно уменьшение начальной концентрации бактерий $x_0(D)$ за счет гибели бактерий непосредственно в процессе облучения. Тогда численность популяций бактерий после облучения в дозе D будет описываться соотношением вида:

$$x_D(t) = \frac{x_0(D) \varepsilon(D) e^{\varepsilon(D)t}}{\delta(D) x_0(D) e^{\varepsilon(D)t} - \delta(D) x_0(D) + \varepsilon(D)}, \quad (5.21)$$

где $\varepsilon(D)$, $\delta(D)$, $x_0(D)$ — коэффициенты модели Ферхюльста, зависящие от дозы облучения.

В связи с тем, что в результате жизнедеятельности бактерий возникает *metMb* [409], предположим, что количество молекул *metMb* пропорционально концентрации бактерий в опытных образцах

$$N_2(t) = kx(t), \quad (5.22)$$

где k — коэффициент пропорциональности.

Кинетика количества молекул *metMb* из ансамбля N_2 в необлученном биообъекте будет описываться соотношением:

$$N_{2control}(t) = \frac{kx_0 \varepsilon e^{\varepsilon t}}{\delta x_0 e^{\varepsilon t} - \delta x_0 + \varepsilon}. \quad (5.23)$$

С учетом соотношения (5.23) зависимость $C_{metHb}, \%$ в облученных образцах от времени хранения может быть описана соотношением:

$$N_{2D}(t) = \frac{kx_0(D)\epsilon(D)e^{\epsilon(D)t}}{\delta(D)x_0(D)e^{\epsilon(D)t} - \delta(D)x_0(D) + \epsilon(D)}. \quad (5.24)$$

Кинетика ансамбля N_3

Окисление MbO_2 до $metMb$ в биообъекте при хранении может происходить за счет окисления ионов Fe^{2+} при взаимодействии с кислородом. Дифференциальное уравнение увеличения количества молекул $metMb$ в биообъекте за счет окисления в присутствии кислорода можно записать в виде:

$$\frac{dN_3}{dt} = gN_3, \quad (5.25)$$

где $g, 1/сум$ — скорость образования $metMb$. Временное изменение концентрации $metMb$ из ансамбля N_3 с течением времени хранения будет описываться соотношением:

$$N_3(t) = N_{30}e^{gt}. \quad (5.26)$$

Самовосстановление метмиоглобина в оксимиоглобин

Пусть $b, 1/сум$ — скорость восстановления $metMb$, принадлежащего ансамблю N_1 , до MbO_2 из ансамбля N_4 . Предположим, что количество восстановленного $metMb$ пропорционально его концентрации в данный момент времени. Тогда закон уменьшения количества молекул $metMb$ после радиационной обработки с течением времени за счет самовосстановления можно записать как:

$$\frac{dN_1}{dt} = -bN_1. \quad (5.27)$$

Тогда концентрация $metMb$ в биообъекте с учетом (5.26) будет изменяться со временем по формуле:

$$N_1^{red}(t) = N_1(D) * e^{-bt} = N_{Fe^{2+}}(1 - e^{-\alpha D}) * e^{-bt}. \quad (5.28)$$

Молекулы $metMb$ из ансамблей N_2 и N_3 также могут восстанавливаться со скоростью b до MbO_2 из ансамбля N_4 . Тогда количество молекул $metMb$, образовавшихся в образцах мяса в результате жизнедеятельности бактерий как в облученных, так и в необлученных биообъектах, а также за счет окисления кислородом могут быть описаны соотношениями:

$$N_{2D}^{red}(t) = \frac{kx_0(D)\epsilon(D)e^{\epsilon(D)t}}{\delta(D)x_0(D)e^{\epsilon(D)t} - \delta(D)x_0(D) + \epsilon(D)} * e^{-bt}, \quad (5.29)$$

$$N_{2control}^{red}(t) = \frac{kx_0\epsilon e^{\epsilon t}}{\delta x_0 e^{\epsilon t} - \delta x_0 + \epsilon} * e^{-bt} \quad (5.30)$$

$$N_3(t) = N_{30}(e^{(g-b)t} - 1). \quad (5.31)$$

Кинетика количества молекулы $metMb$, принадлежащих различным статистическим ансамблям, описывается функцией:

$$N = (N_1 + N_2 + N_3) \cdot e^{-bt}. \quad (5.32)$$

Аппроксимация экспериментальных данных (рис. 5.23) по формуле (5.31) дана с коэффициентами: 0 Гр: $\epsilon = 3,02 \text{ сут}^{-1}$, $\delta = 0,08 \text{ сут}^{-1}$, $b = 0,4 \text{ Гр}^{-1}$, $N_{30} = 1\%$, $g = 1 \text{ сут}^{-1}$, $R^2 = 0,98$; 250 Гр: $N_1 = 15\%$, $\epsilon = 2,9 \text{ сут}^{-1}$, $\delta = 0,13 \text{ сут}^{-1}$, $b = 16 \text{ Гр}^{-1}$, $N_{30} = 3,6\%$, $g = 1 \text{ сут}^{-1}$, $R^2 = 0,96$; 500 Гр: $N_1 = 34\%$, $\epsilon = 2,8 \text{ сут}^{-1}$, $\delta = 0,2 \text{ сут}^{-1}$, $b = 12 \text{ Гр}^{-1}$, $N_{30} = 11,7\%$, $g = 12 \text{ сут}^{-1}$, $R^2 = 0,97$. Значения параметров N_1 соответствуют экспериментальным значениям концентраций metMb, представленных на рис. 5. 20a. Значение параметра x_0 определены $x_0 = 1\%$ для всех доз облучения. Согласно модели, при облучении в дозе 1000 Гр и 5000 Гр не происходит самовосстановления metMb до MbO₂, что свидетельствует о необратимых биофизических изменениях в биообъекте.

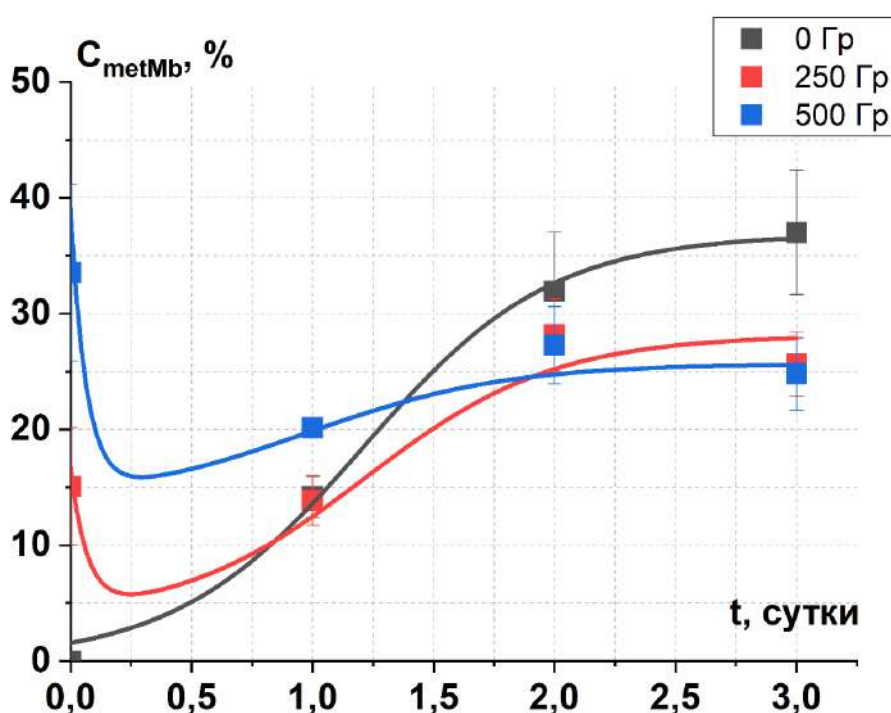


Рисунок 5.23 — Экспериментальные данные $C_{\text{metMb}}, \%$ и рассчитанные по формуле (5.29) зависимости $N(t)$ в необлученных образцах мяса (черная кривая), в образцах, облученных в дозе 250 Гр (красная кривая) и 500 Гр (синяя кривая).

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что молекулы миоглобина после облучения биообъектов представимы в виде отдельных динамических статистических ансамблей, взаимно переходящих друг в друга в процессе облучения и с течением времени хранения. Рассмотренные биофизические механизмы, приводящие к изменению уровня метмиоглобина в биообъектах с течением времени, легли в основу создания кинетической модели изменения концентрации метмиоглобина в образцах говядины после воздействия ускоренных электронов. По результатам проведенных исследований можно уровень метмиоглобина является количественным маркером окислительных процессов, вызванных

прямым действием излучения и активными формами кислорода, образованными в биообъектах во время облучения и при хранении. Разработанная модель учитывает начальные эффекты окисления миоглобина под действием излучения и латентные механизмы окисления, связанные с развитием бактериальной активности в биообъектах при хранении после радиационной обработки. Таким образом, уровень метмиоглобина, измеренный сразу после облучения, можно рассматривать как показатель эффективности повреждения нецелевых и целевых мишеней.

5.5. Количественная оценка повреждений нативной структуры белка как маркер воздействия ионизирующего излучения с различными физическими характеристиками

При изучении влияния излучения на структурные характеристики белка производилась количественная оценка содержания нативного белка бычьего сывороточного альбумина (БСА) в физиологическом растворе путем измерения концентраций трех выбранных пептидов: FKDLGEEHFK (T35-44), AEFVEVTK (T249-256) и KQTALVELLK (T548-557), которые присутствуют в одном из трех доменов БСА. Присутствие этих трех маркеров нативной структуры БСА в растворе после проведения трипсинолиза указывает на то, что белок находится в активной форме. Воздействие излучения приводит к возникновению потенциальных повреждений пептидов, таким образом, концентрация пептидов $C_{\text{пептид}}$ после дополнительной процедуры трипсинолиза является количественным маркером повреждений белковых молекул после воздействия излучения (рис.5.24).

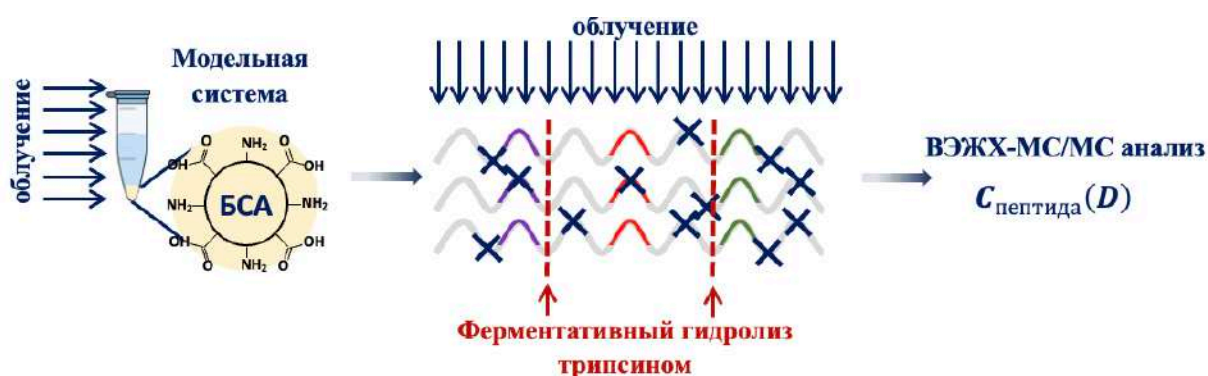


Рисунок 5.24 — Методический подход оценки потенциальных повреждений нативной структуры белка.

Относительную концентрацию пептида оценивали по формуле:

$$C_{\text{пептид}}^{\text{отн}} = \frac{S_{\text{обл}}}{S_{\text{конт}}} \cdot 100\%, \quad (5.33)$$

где $S_{\text{обл}}$ и $S_{\text{конт}}$ — площади пика иона, выбранного для количественной оценки соответствующего пептида в облученном растворе к площади пика данного пептида в контрольном необлученном растворе БСА.

Одностороннее облучение белка БСА в концентрации 0,5 мг/мл в физиологическом растворе объемом 0,5 мл в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эппендорф ускоренными электронами проводилось с использованием ускорителя электронов УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ. Растворы облучались ускоренными электронами в дозах 150, 300, 600, 1000, 4000, 6000 и 8000 Гр. Ток пучка варьировался в диапазоне от 200 нА до 1 мкА для обеспечения необходимой мощности дозы облучения. Для одного измерения концентрации пептидов использовалось 0,5 мл раствора, т.е. 1 пробирка эппендорф. Количество измерений на одну дозу составило $n=5$.

Одностороннее облучение белка БСА в физиологическом растворе объемом 0,5 мл в 2-мл полипропиленовых пробирках типа эппендорф рентгеновским излучением проводилось с использованием рентгеновской установки ЛНК-268 (ООО "Диагностика-М", Россия), состоящей из рентгеновского аппарата РАП 100-10 с рентгеновской трубкой 1БПВ23-100. Напряжение на трубке 80 кВ, ток варьировался в диапазоне от 2 мА до 4 мА для обеспечения необходимой мощности дозы облучения. Образцы облучали в дозах 159, 318, 636, 1060 Гр, 4240 Гр и 6360 Гр.

На рисунке 5.25 представлены зависимости относительных концентраций идентифицированных уникальных пептидов Т35-44 ($m/z=417$), Т249-256 ($m/z=461$), Т548-55 ($m/z=571$), $C_{пептид}^{отн}$ от дозы облучения D раствора БСА ускоренными электронами в диапазоне доз от 300 Гр до 8000 Гр. Показано, что $C_{пептид}^{отн}$ для всех трех выбранных пептидов спадает с увеличением дозы облучения. Различия в значениях $C_{пептид}^{отн}$ для разных выбранных пептидов наблюдаются в диапазоне доз от 600 Гр до 4000 Гр, при дальнейшем увеличении дозы облучения не выявлено статистически значимой разницы в значениях $C_{пептид}^{отн}$ для разных выбранных пептидов [410]. Поскольку в облученных растворах, не подвергавшихся дополнительной процедуре трипсинолиза, концентрация пептидов была на уровне контрольных показателей необлученных растворов БСА, метод ферментативного гидролиза трипсином позволяет выявить потенциальные повреждения нативной структуры белка после воздействия излучения.

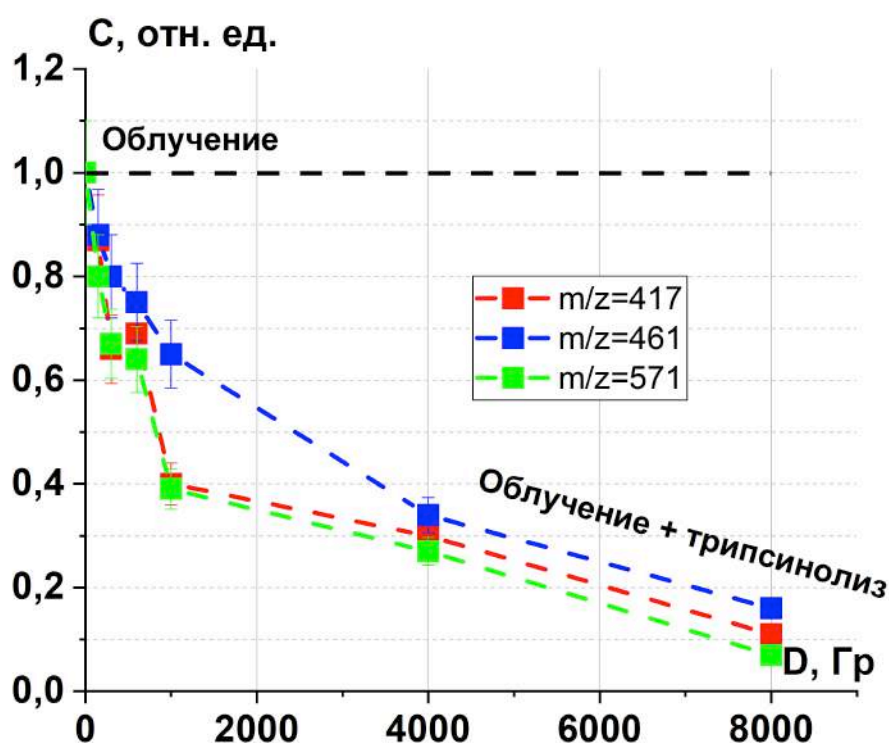


Рисунок 5.25 — Относительная концентрация $C_{\text{пептид}}^{\text{отн}}$ пептидов $m/z=417$ (красная кривая), $m/z=461$ (синяя кривая) и $m/z=571$ (зеленая кривая) после проведения ферментативного гидролиза трипсином белка БСА в зависимости от дозы при облучении ускоренными электронами с мощностью дозы 4 Гр/с. Черная штрихованная линия показывает концентрацию пептидов в растворе БСА после облучения электронами.

Воздействие ускоренных электронов и рентгеновского излучения при различных мощностях дозы

В работе проводилось облучение электронами с $E_{\text{max}}^{\text{эл}}=1$ МэВ при однородности одностороннего облучения $K_1^{\text{Geant}}=(0,62 \pm 0,03)$ отн.ед. при мощностях дозы $P_1=4$ Гр/с и $P_2=20$ Гр/с в диапазоне доз от 150 Гр до 8000 Гр раствора БСА (толщина раствора составила 2 мм) в физиологическом растворе с начальной концентрацией 0,5 мг/мл. С использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) показано, что при обработке в диапазоне доз 150–800 Гр при мощности дозы 20 Гр·с⁻¹ концентрация пептида статистически значимо выше ($p \leq 0,05$), чем при обработке при мощности дозы 4 Гр·с⁻¹ (рис. 5.26). В диапазоне доз 1000–8000 Гр концентрации пептида при мощностях дозы 4 Гр·с⁻¹ и 20 Гр·с⁻¹ статистически значимо не различались.

На рисунке 5.27 представлены результаты облучения раствора БСА рентгеновским излучением в диапазоне доз от 159 Гр до 4240 Гр при мощности дозы $P_1=0,93$ Гр/с (ток трубки 2 мА) и в диапазоне доз от 159 Гр до 6360 Гр при мощности дозы $P_2=1,86$ Гр/с (ток

трубки 4 мА). Установлено, что для мощностей доз 0,93 Гр/с и 1,86 Гр/с не выявлено статистически значимых различий в зависимостях $C_{\text{пептид}}^{\text{отн}}(D)$.

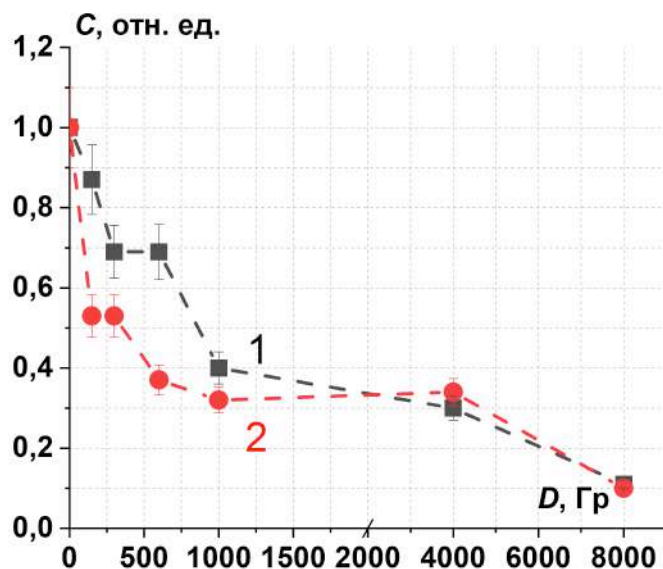


Рисунок 5.26 — Относительная концентрация пептида $m/z=461$ в аминокислотной последовательности белка БСА после проведения ферментативного гидролиза трипсином белка в физиологическом растворе с начальной концентрацией 0,5 мг/мл в зависимости от дозы облучения ускоренными электронами с мощностью дозы $P_1 = 4$ Гр/с (черная кривая) и $P_2 = 20$ Гр/с (красная кривая).

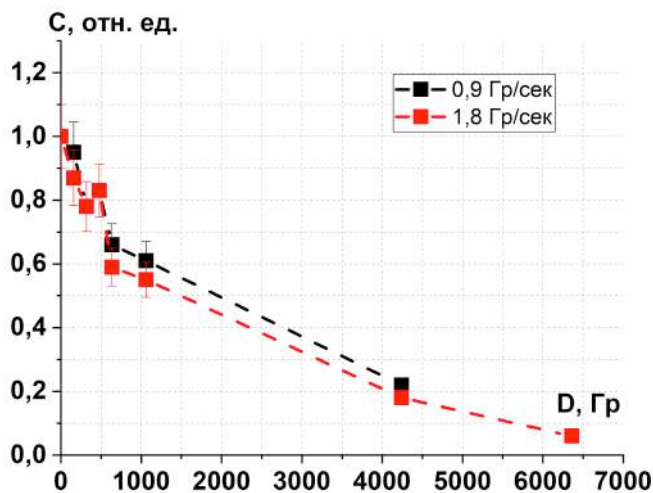


Рисунок 5.27 — Относительная концентрация пептида $m/z=461$ в аминокислотной последовательности белка БСА после проведения ферментативного гидролиза трипсином белка в физиологическом растворе с начальной концентрацией 0,5 мг/мл в зависимости от дозы облучения рентгеновским излучением с мощностью дозы $P_1 = 0,93$ Гр/с (черная кривая) и $P_2 = 1,86$ Гр/с (красная кривая).

Сравнение эффективности повреждения белка в биологическом объекте при облучении пучком электронов и рентгеновским излучением

Поскольку при радиационной обработке наряду с инаktivацией микроорганизмов повреждаются окружающие молекулярные структуры, для оптимизации параметров радиационного воздействия необходимо исследовать влияние характеристик источника на эффективность повреждения белка $\varepsilon^{\text{белок}}$ в модельных системах для выбора критериев оптимального диапазона доз радиационной обработки биообъектов с содержанием белка. В ходе исследования изучалось влияние показателя пространственной однородности распределения поглощенной дозы в объекте $K_1^{\text{белок}}$ и фактора $K_2^{\text{белок}}$, зависимость которого от дозы облучения описывается по формуле (5.14), на количество потенциальных повреждений нативной структуры белка БСА в физиологическом растворе.

Исследования по обработке белка БСА в физиологическом растворе в концентрации 0,5 мг/мл ускоренными электронами с $E_{\text{max}}^{\text{эл}}=1$ МэВ и рентгеновским излучением с $E_{\text{max}}^{\text{рент}}=80$ кэВ при одной и той же мощности дозы 4 Гр/с выявили различия в количестве повреждений нативной структуры белка при обработке ускоренными электронами и рентгеновским излучением. На рисунке 5.28 представлены экспериментальные данные и аппроксимация экспериментальных данных $\varepsilon^{\text{белок}}(D)$, рассчитанные по формуле (5.14). Аппроксимация экспериментальных данных выполнена с коэффициентами: электроны — $K_1 = 0,9 \pm 0,01$, $\alpha=(0,00060 \pm 0,00006)$ Гр⁻¹, $R^2 = 0,96$; рентгеновское излучение — $K_1 = 0,96 \pm 0,04$, $\alpha=(0,00064 \pm 0,00009)$ (Гр⁻¹), $R^2 = 0,97$.

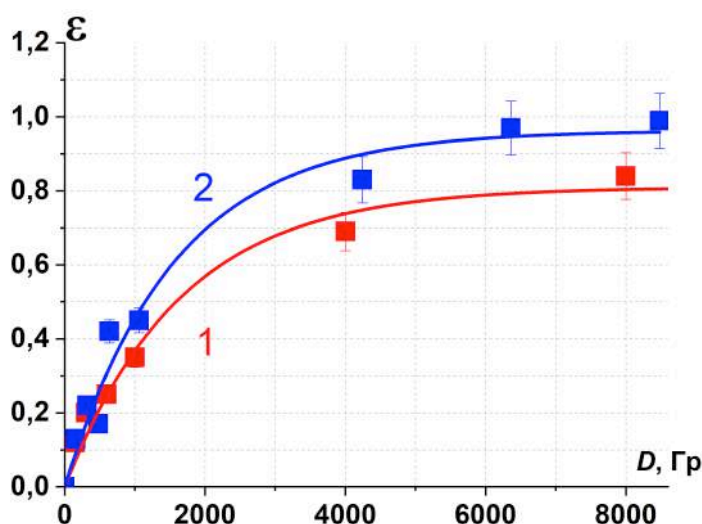
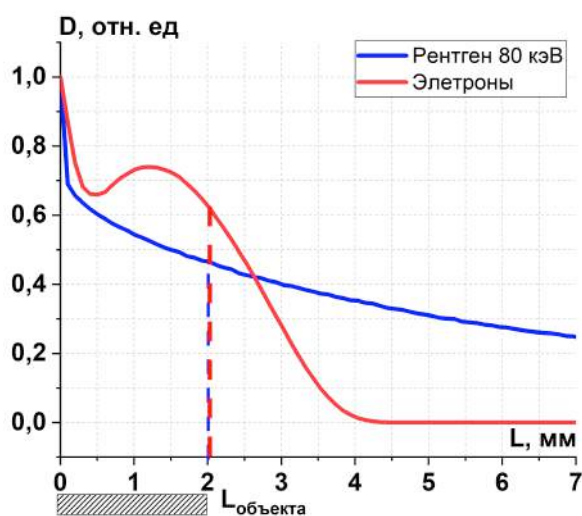
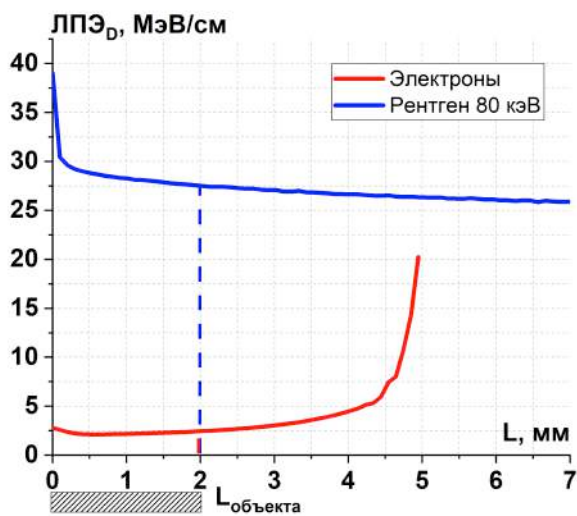


Рисунок 5.28 — Сравнение эффективности повреждения нативной структуры белка от дозы облучения ускоренными электронами и рентгеновским излучением при мощности дозы 4 Гр/с.

С использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) показано, что в диапазоне доз 600–2000 Гр эффективность повреждения белка при обработке рентгеновским излучением статистически значимо выше ($p \leq 0,05$) эффективности их повреждения пучком электронов (рис. 5.28). Для объяснения более высоких значений $\varepsilon^{\text{белок}}$ при облучении рентгеновским излучением по сравнению с воздействием ускоренными электронами на рисунке 5.29 представлены распределение поглощенной дозы по глубине $D(L)$ и глубинное распределение значений ЛПЭ, усредненных по поглощенной энергии $\overline{L_D}(L)$, в объекте из воды при облучении электронами с $E_{\text{max}}^{\text{эл}}=1$ МэВ (красная кривая) и рентгеновским излучением $E_{\text{max}}^{\text{рент}}=80$ кэВ (синяя кривая). Численные эксперименты показали, что однородность распределения поглощенной дозы для толщины объекта $L_{\text{объекта}} = 2$ мм при одностороннем облучении ускоренными электронами составила $K_1^{\text{эл}} = (0,62 \pm 0,03)$ отн. ед., при одностороннем облучении рентгеновским излучением составила $K_1^{\text{рент}} = (0,43 \pm 0,01)$ отн. ед. для толщины объекта $L_{\text{объекта}} = 2$ мм (рис. 5.29а). Таким образом, однородность облучения раствора БСА в случае облучения пучком электронов была выше в 1,44 раза по сравнению с рентгеновским излучением. Согласно рисунку 5.29б, значения усредненных по поглощенной энергии в различных слоях объекта из воды толщиной $L_{\text{объекта}} = 2$ мм составили от 27 МэВ/см до 39 МэВ/см для рентгеновского излучения и от 2,4 МэВ/см до 2,6 МэВ/см для электронов. Таким образом, значения ЛПЭ в растворе при обработке рентгеновским излучением в среднем в 10 раз выше по сравнению с ускоренными электронами. Таким образом, более высокая эффективность повреждения рентгеновским излучением структуры белка при дозах $D > D^{\text{крит}}$, характерной для белка, связана с большим значением усредненных по поглощенной энергии в различных слоях раствора белка значений ЛПЭ.



(а)



(б)

Рисунок 5.29 — Распределения относительной поглощенной дозы (а) и усредненных по поглощенной энергии значений ЛПЭ (б) в объекте из воды при облучении электронами с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ (красная кривая) и рентгеновским излучением $E_{max}^{рент}=80$ кэВ (синяя кривая).
Рассчитано с помощью инструментария GEANT 4.

Поскольку сравнение повреждения микроорганизмов в биообъекте при облучении электронами с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ и рентгеновским излучением $E_{max}^{рент}=26$ кэВ (глава 4, п. 4.2) показало большую эффективность повреждения микроорганизмов ускоренными электронами, что связано с большей однородностью облучения биообъекта при обработке ускоренными электронами, т.е. влиянием фактора K'_1 , в экспериментах по сравнению эффективности повреждения белка ускоренными электронами и рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент}=80$ кэВ основным фактором, влияющим на результирующую эффективность повреждения белка, является фактор K_2 , определяющий вероятность взаимодействия излучения и мишени (белковой молекулы) и зависящий от количества повреждений, приходящихся на молекулу белка, т.е. от ЛПЭ. Таким образом, выбор типа источника (электроны, рентгеновское излучение) и характеристик радиационного воздействия определяется многофакторностью процесса взаимодействия излучения и биологического объекта, что необходимо учитывать при планировании радиационной обработки конкретных биологических объектов.

Экспериментально установлено, что зависимость количества потенциальных повреждений нативной структуры белка бычьего сывороточного альбумина от физических параметров радиационной обработки (тип излучения, доза, мощность дозы, ЛПЭ) как маркера повреждения нецелевых мишеней может быть положена в основу разработки биодозиметров радиационной обработки биологических объектов.

5.6 Обоснование критериев выбора оптимальных характеристик радиационной обработки биообъектов

На основании комплекса исследований и разработанных физико-математических моделей в диссертационной работе предложены два подхода к выработке критериев оптимального диапазона доз радиационной обработки биообъектов. Первый подход основан на исследовании динамики изменения концентраций летучих органических соединений после облучения биообъектов. Установлено, что левая граница диапазона определяется содержанием спирта этанола, являющегося показателем развития бактериальных процессов в биообъектах после обработки. Правая граница диапазона определяется уровнем альдегидов, являющихся маркерами окисления липидов и белков. Так, например, при обработке говяжьей вырезки пучком электронов с $E_{макс} = 1$ МэВ при мощности дозы $4 \text{ Гр} \cdot \text{с}^{-1}$ левая граница диапазона составляет 250–350 Гр, верхняя граница — 500–1000 Гр.

Второй подход основан на одновременном исследовании эффективности повреждения целевых мишеней, микроорганизмов (левая граница диапазона), и нецелевых мишеней, белков (правая граница диапазона). На рис. 5.30а представлены зависимости эффективности повреждения микроорганизмов $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ и метмиоглобина $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$, измеренные в говяжьей вырезке, обработанной пучком электронов. На рис. 5.30 для сравнения представлены эффективность повреждения нативной структуры белка (бычьего сывороточного альбумина) в модельной системе, $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$, обработанного пучком электронов. На рис. 5.30а,б представлена функция оптимизации радиационной обработки $H(D) = \varepsilon^{\text{цм}} \cdot (1 - \varepsilon^{\text{нцм}})$, максимум которой $H_{\text{макс}}$ наблюдается при дозе $D_{\text{опт}}$, при воздействии в которой максимально повреждаются целевые мишени (микроорганизмы) при условии минимального повреждения нецелевых мишеней (белковые молекулы), т.е. при $D = D_{\text{опт}}$ разница между значениями $\varepsilon^{\text{цм}}$ и $\varepsilon^{\text{нцм}}$ максимальна. Оптимальный диапазон доз определяется по уровню $0,9 \cdot H_{\text{макс}}$. Таким образом, принимая во внимание повреждение микроорганизмов и окисление миоглобина, оптимальный диапазон доз составляет около 220–854 Гр. С учетом повреждения микроорганизмов и нативной структуры белка (бычьего сывороточного альбумина) в модельной системе, оптимальный диапазон доз составляет около 204–755 Гр. Диапазоны, определенные с помощью прямых измерений повреждения целевых и нецелевых мишеней, хорошо согласуются с диапазонами, полученными с помощью косвенных измерений концентрации летучих соединений.

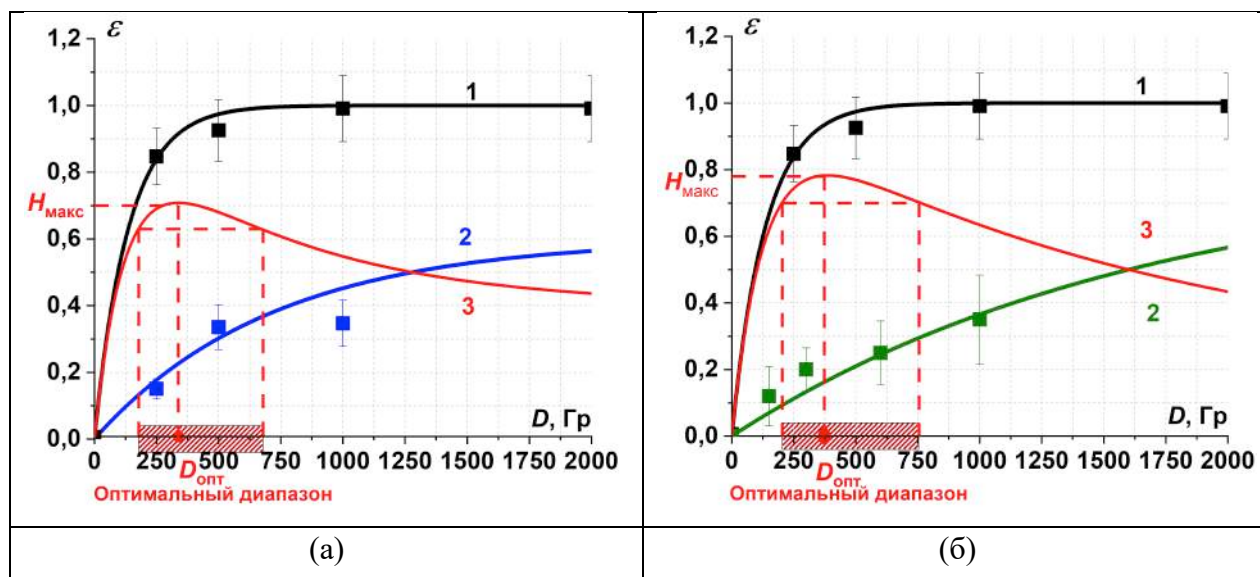


Рисунок 5.30 — а — Экспериментальные данные (символы) и рассчитанные зависимости (линии) эффективности повреждения микроорганизмов $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ (кривая 1) и миоглобина $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$ (кривая 2) в образцах говядины от дозы облучения пучком электронов.

Аппроксимация экспериментальных данных $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ и $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$ по формуле (8) выполнена с коэффициентами: микроорганизмы — $K_1 = 0,99 \pm 0,01$, $\alpha = (0,0073 \pm 0,0003) \text{ Гр}^{-1}$, $R^2 = 0,99$; миоглобин — $K_1 = 0,6 \pm 0,1$, $\alpha = (0,0014 \pm 0,0003) \text{ Гр}^{-1}$, $R^2 = 0,97$; б — Экспериментальные

данные (символы) и рассчитанные зависимости (линии) эффективности повреждения микроорганизмов $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ (кривая 1) и белка (бычий сывороточный альбумин) $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$ (кривая 2) в модельной системе от дозы облучения пучком электронов. Аппроксимация экспериментальных данных $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ и $\varepsilon^{\text{нцм}}(D)$ по формуле (8) выполнена с коэффициентами: микроорганизмы — $K_1 = 0,99 \pm 0,01$, $\alpha = (0,0073 \pm 0,0003) \text{ Гр}^{-1}$, $R^2 = 0,99$; белок — $K_1 = 0,9 \pm 0,01$, $\alpha = (0,00060 \pm 0,00006) \text{ Гр}^{-1}$, $R^2 = 0,96$. Функция оптимизации радиационной обработки $H(D)$ (кривая 3).

На основании комплекса исследований по влиянию воздействия ускоренных электронов и рентгеновского излучения с различными параметрами на биообъекты и модельные системы для повышения эффективности радиационной обработки предлагается проводить планирование радиационной обработки биологических объектов, которое должно осуществляться в несколько этапов. Во-первых, необходимо установить зависимость эффективности подавления целевых мишеней $\varepsilon^{\text{цм}}$ в биообъекте от дозы облучения и далее выбрать дозу, которая обеспечивает заданный уровень инактивации целевых мишеней, т.е. заданный уровень микробиологической безопасности и соответствующее увеличение сроков хранения биообъекта. Во-вторых, необходимо установить зависимость повреждения нецелевых мишеней (липиды, белки) $\varepsilon^{\text{нцм}}$ от дозы облучения. Далее необходимо определить функцию оптимизации радиационной обработки как $H(D) = \varepsilon^{\text{цм}} \cdot (1 - \varepsilon^{\text{нцм}})$, максимум которой $H_{\text{макс}}$ наблюдается при дозе $D_{\text{опт}}$, при воздействии в которой максимально повреждаются целевые мишени (микроорганизмы) при условии минимального повреждения нецелевых мишеней (белковые молекулы), т.е. при $D = D_{\text{опт}}$ разница между значениями $\varepsilon^{\text{цм}}$ и $\varepsilon^{\text{нцм}}$ максимальна. Оптимальный диапазон доз далее определяется по уровню $0,9 \cdot H_{\text{макс}}$. После определения границ диапазона необходимо провести численные эксперименты по подбору оптимальных параметров излучения (тип источника, спектр) с учетом размеров, формы и плотности объекта, при максимально возможной однородности облучения с учетом того, что обработка биообъекта должна проводиться в установленных границах диапазона доз.

5.7 Идентификация облученных и необлученных биологических объектов с использованием флуориметрического метода «отпечатков пальцев»

Метод «отпечатков пальцев» может рассматриваться как метод определения доз, поглощенных различными категориями биообъектов при радиационной обработке. В методе сопоставляются данные, свидетельствующие о биохимических изменениях в облученных образцах биообъектов, поглощающих известные дозы, и данные, полученные при исследовании биообъектов, обработанных в дозах, которые необходимо обнаружить. В качестве экспериментальных данных исследуются спектр поглощения и интенсивность флуоресценции, измеренные для экстрактов, приготовленных из облученных в различных дозах и необлученных биообъектов, во время протекания в экстрактах индикаторных реакций с использованием флуорофоров – карбоцианиновых красителей, различных восстановителей и окислителей. Далее данные, которые представляют собой интенсивность изображений, полученных в разное время протекания индикаторных реакций, обрабатываются хемометрическими инструментами (рис.5.33). Таким образом, биообъекты, облученные в различных дозах, демонстрируют разные оптические сигналы, в то время как количественные результаты точности распознавания облученных в различных дозах и необлученных образцов могут быть получены с помощью хемометрической обработки. Учитывая, что флуориметрический кинетический метод «отпечатков пальцев» на основе индикаторных реакций при минимальной предварительной обработке образцов биообъектов является экспрессным и не требует наличия дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного персонала, метод предпочтителен для определения доз, поглощенных пищевыми продуктами. Далее приведены результаты распознавания облученных в различных дозах и необлученных биообъектов растительного и животного происхождения, обработанных пучками ускоренных электронов и рентгеновским излучением.

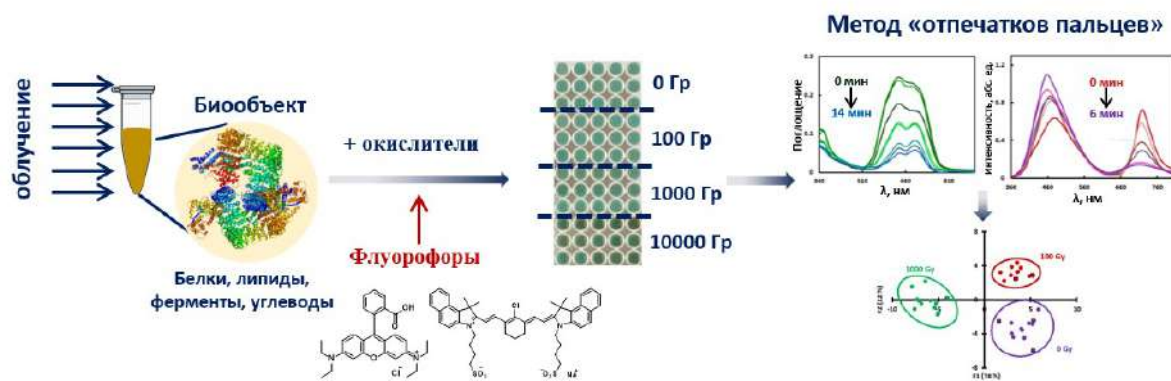


Рисунок 5.33 — Методический подход к распознаванию облученных и необлученных биообъектов с использованием флуориметрического метода «отпечатков пальцев».

В исследовании использовались окислительно-восстановительные индикаторные реакции, проводимые с использованием группы карбоцианиновых красителей, которые при окислении теряют цвет и интенсивность флуоресценции в зависимости от дозы, поглощенной пищевыми продуктами различной природы. Появление свободных радикалов в продуктах в результате непрямого действия рентгеновского излучения инициирует физико-химические изменения в продуктах, зависящие от дозы облучения. Свободные радикалы воздействуют на липиды, белки и углеводы, образуя органические радикалы, которые приводят к образованию водорастворимых и летучих соединений. Такие соединения могут изменять скорость исследуемых индикаторных реакций. Выявление природы этих соединений - сложная задача, выходящая за рамки используемого метода, основной целью которого является наблюдение влияния дозы на спектр поглощения и интенсивность флуоресценции пищевых экстрактов, а также дифференциация образцов, облученных разными дозами.

Облучение картофеля ускоренными электронами

Исследовалась возможность использования флуориметрического метода «отпечатков пальцев» для распознавания клубней картофеля, облученных ускоренными электронами в дозах 100 Гр, 1000 Гр и 10000 Гр, и необлученных клубней. Клубни картофеля со средним диаметром (40 ± 12) мм облучались пучком электронов с $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ, генерируемым ускорителем электронов УЭЛР-1-25-Т-001. Клубни картофеля облучались в дозах 100 Гр и 1000 Гр при токе пучка 50 нА, в дозе 10000 Гр – при токе пучка 500 нА. Цветная карта 3D распределения относительной поглощенной дозы в объеме сферических водных фантомов, моделирующих клубни картофеля, представлена на рисунке 5.34. Как следует из рисунка, при обработке ускоренными электронами с энергией 1 МэВ облучались только поверхностные слои клубней толщиной не более 5 мм.

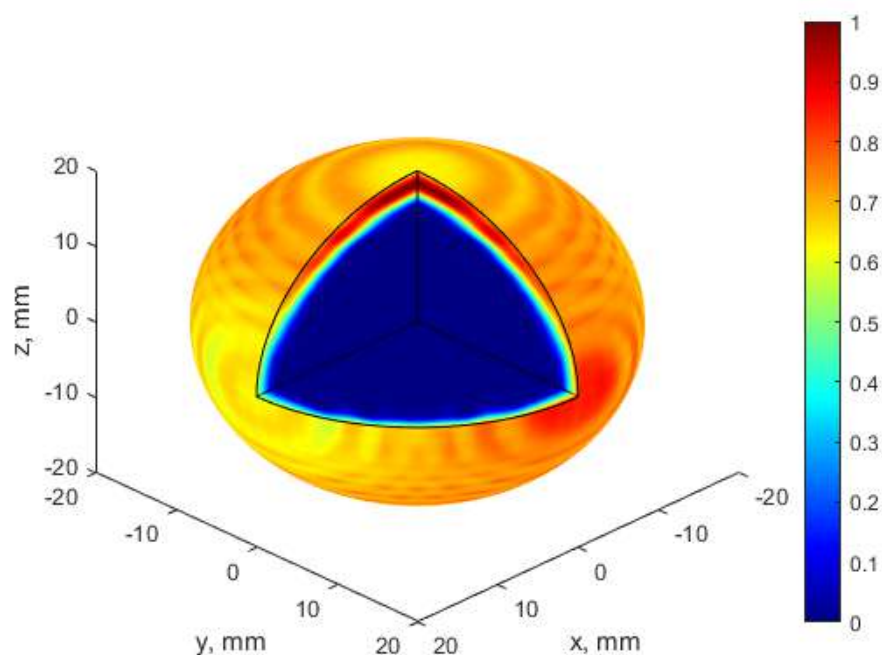


Рисунок 5.34 — 3D карта распределения относительной поглощенной дозы в водном фантоме в форме сферы диаметром 40 мм при обработке ускоренными электронами с $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ.

После облучения снимали кожуру картофеля и далее снимался тонкий слой картофеля толщиной до 1 мм, из которого приготавливались водные экстракты картофеля. Экстракты затем вносили в индикаторные реакции окисления и агрегации с использованием четырех карбоцианиновых красителей (рис.5.35), синтезированных учеными Химического факультета МГУ [354-356,411].

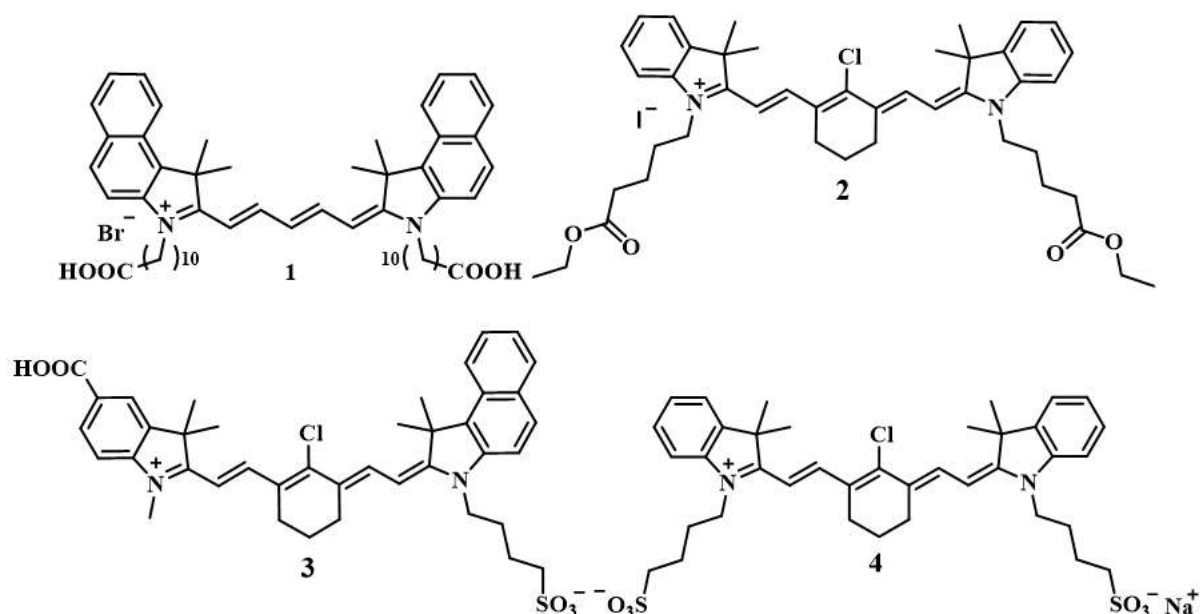


Рисунок 5.35 — Структура красителей, используемых в методе «отпечатков пальцев».

Распознавание облученных и необлученных образцов основано на влиянии аналитов (реакционноспособные химические компоненты образца, концентрация которых могла измениться в результате радиационной обработки) на два типа индикаторных реакций: каталитическое окисление красителя и образование флуоресцентных агрегатов красителя с аналитом и поверхностно-активным веществом. Для индикаторной реакции окисления предполагается, что аналиты связываются с ионом переходного металла (Cu^{2+} или Pd^{2+}), катализирующим окисление карбоцианинового красителя пероксидом водорода. В результате изменяется скорость реакции окисления, что отслеживается по поглощению видимого света и изменению интенсивности флуоресценции карбоцианинового красителя в исследуемых экстрактах. В индикаторной реакции агрегации реагирующие аналиты образуют гидрофобную ионную пару с противоположно заряженным поверхностно-активным веществом. Для биологических видов, предположительно содержащихся в образце, которые в большинстве своем являются анионными, использовалось катионное ПАВ - цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ).

На рисунке 5.36 представлены фото экстрактов, полученные из картофеля, облученного ускоренными электронами в различных дозах, в которых проводились индикаторные реакции окисления и агрегации.

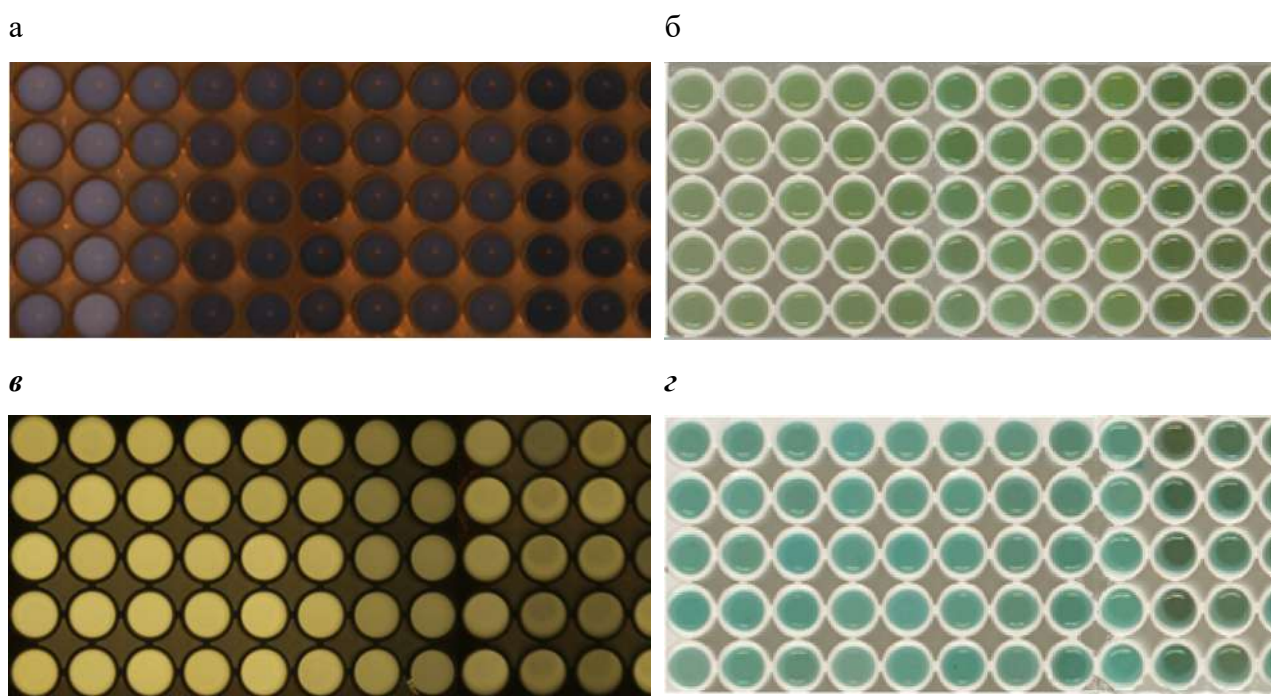


Рисунок 5.36 — Фотографии экстрактов в окислительно-восстановительной индикаторной реакции (а и б) и индикаторной реакции агрегационного типа (в и г) в ИК-области (а, в) и видимом свете (б, г). Для каждой дозы излучения исследовали три разных клубня; водный экстракт образца одного клубня (экстрагированный с добавлением аскорбиновой кислоты) помещали в каждую из пяти лунок, расположенных вертикально. Порядок расположения образцов слева направо: столбцы 1-3: 0 Гр (необлученные); 4-6: 100 Гр; 7-9: 1000 Гр; столбцы 10-12: 10000 Гр. Время от начала окислительно-восстановительной реакции (а, б)

составило 11 мин, фотографии реакции агрегационного типа (б, в) были сделаны сразу после смешивания растворов.

На рисунке 5.37 представлен график счетов использования флуориметрического метода «отпечатков пальцев» для клубней картофеля, обработанных ускоренными электронами в дозах 100 Гр, 1000 Гр и 10000 Гр, а также для необлученных образцов картофеля. Данные сняты при времени экстракции 9 ч с последующим хранением в течение 10–12 ч при температуре 23°C. 1 Экспериментальные исследования показали, что точность распознавания картофеля, облученного ускоренными электронами в дозах 100 Гр, 1000 Гр и 10000 Гр, и необлученных образцов составляет 100% [412].

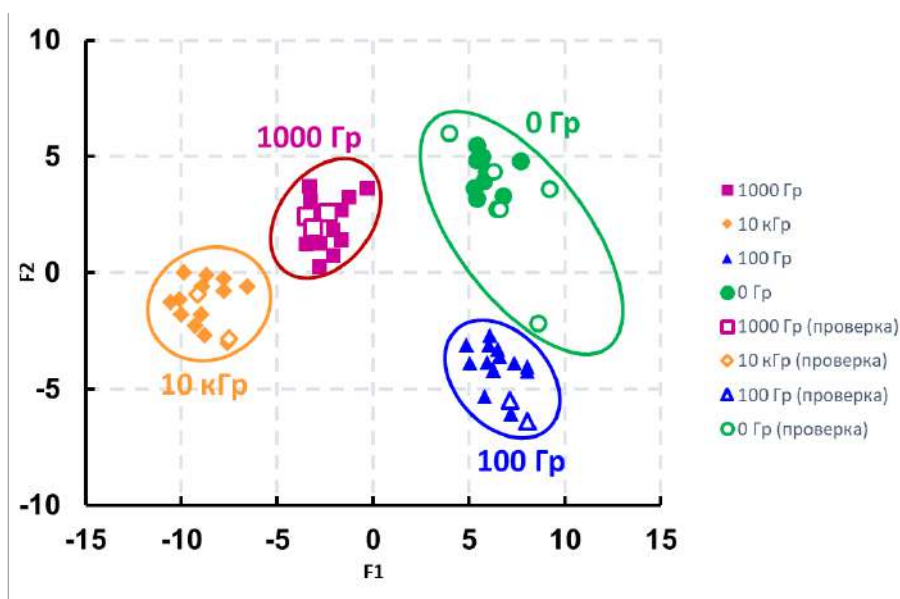


Рисунок 5.37 — График счетов линейного дискриминантного анализа для клубней картофеля, облученных ускоренными электронами. Данные получены при добавлении четырех карбоцианиновых красителей, участвующих в 2 индикаторных реакциях. Для каждой дозы излучения исследовали три разных клубня

Распознавание облученных и необлученных биообъектов течение 6 суток после облучения рентгеновским излучением

Для оценки перспективности использования флуориметрического метода «отпечатков пальцев» для распознавания облученных и необлученных биообъектов спустя несколько дней радиационной обработке было проведено двустороннее облучение образцов картофеля сорта Лина и сорта Агата рентгеновским излучением с использованием установки ДРОН УМ-2 с источником питания ПУР5/50 и рентгеновской трубкой БСВ-23 с медным анодом. Перед облучением клубни разрезали на параллелепипеды толщиной 6 мм, длиной 6 мм и высотой 15 мм, которые помещали в 2-мл полипропиленовые пробирки диаметром 7 мм. Образец помещался непосредственно перед бериллиевым окном рентгеновской трубки. Ток трубки составлял 26 мА, а напряжение - 30 кВ. Образцы картофеля облучали в дозах 100 Гр и 1000

Гр. Цветная карта 3D распределения относительной поглощенной дозы в объеме водного фантома в форме параллелепипеда с линейными размерами, соответствующими размерам образцов картофеля, представлена на рисунке 5.38. Как следует из рисунка, при двусторонней обработке рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент}=26$ кэВ облучались только поверхностные слои образцов толщиной не более 1 мм.

После облучения часть образцов подвергалась анализу, часть была оставлена на хранение при температуре 5°C для последующего анализа в течение 6 дней после обработки. Для подготовки картофельных экстрактов снимался тонкий слой картофеля толщиной до 1 мм. Экстракты вносили в индикаторные реакции окисления и агрегации с использованием четырех карбоцианиновых красителей (рис. 5.37).

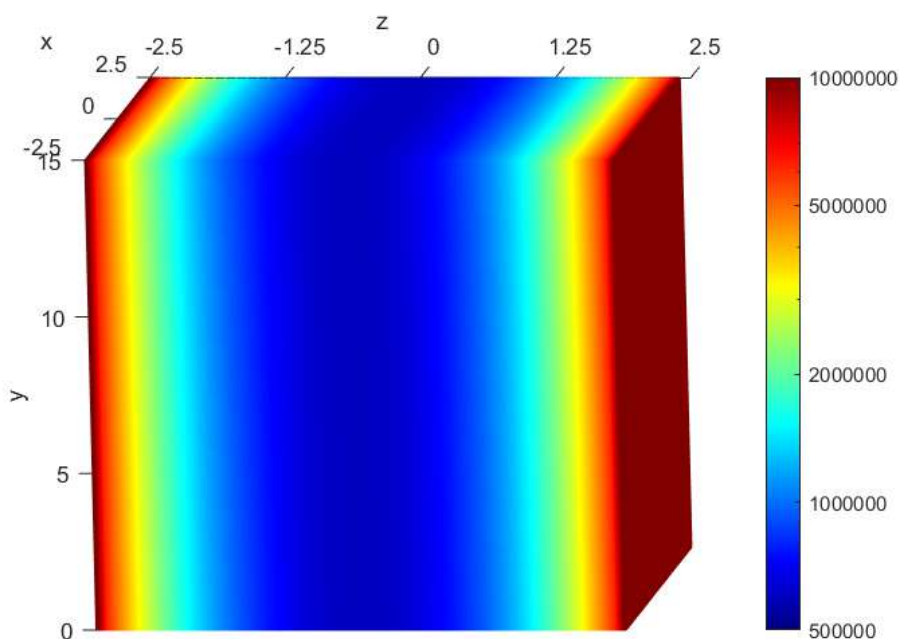
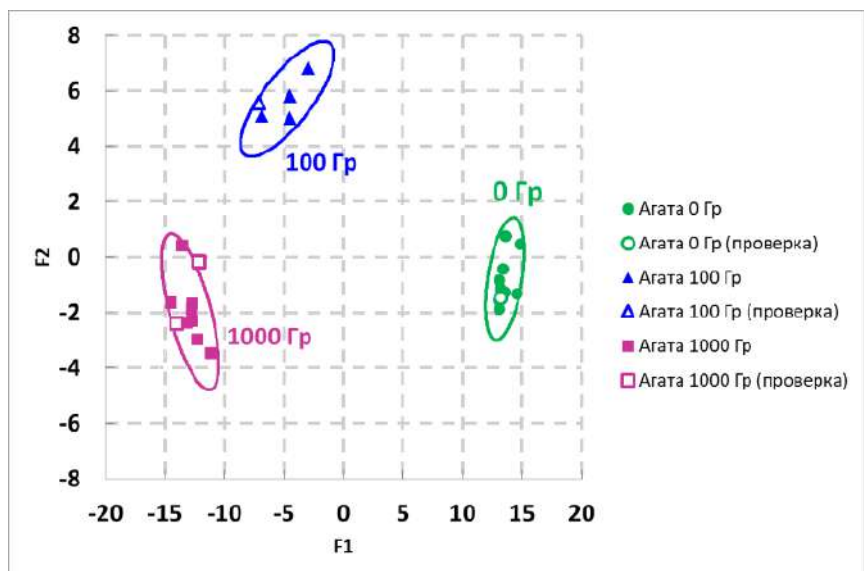
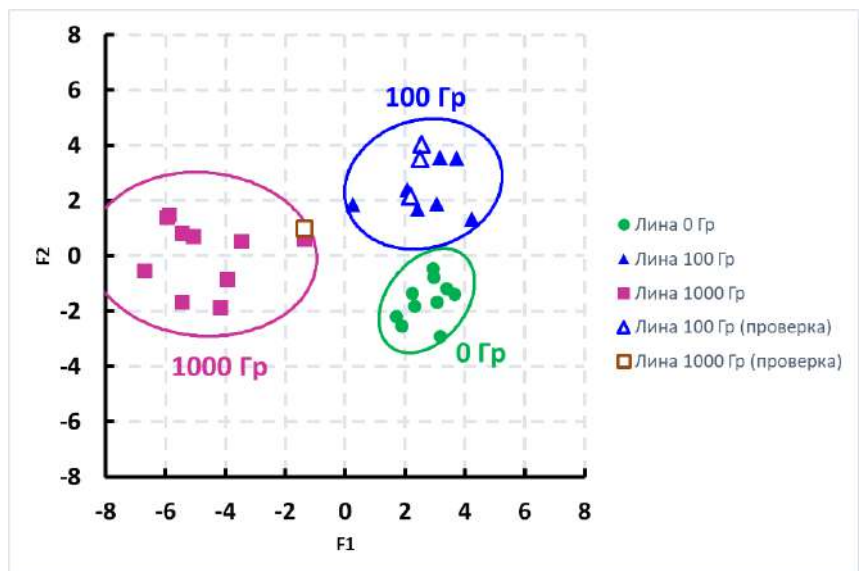


Рисунок 5.38 — 3D карта распределения относительной поглощенной дозы в водном фантоме в форме параллелепипеда толщиной 6 мм, длиной 6 мм и высотой 15 мм при обработке рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент}=26$ кэВ.

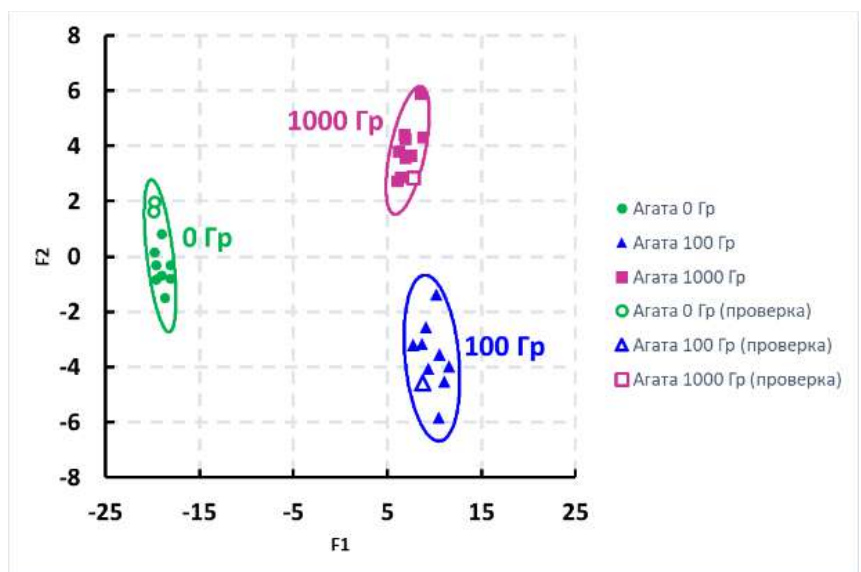
На рисунке 5.39 а-е представлены графики счетов использования флуориметрического метода «отпечатков пальцев» для клубней картофеля, обработанных рентгеновским излучением в дозах 100 Гр и 1000 Гр, а также для необлученных образцов картофеля. Данные сняты сразу после облучения (0-ые сутки), на 2-ые и 6-ые сутки хранения при температуре 5°C после обработки рентгеновским излучением. Экспериментальные исследования показали, что точность распознавания образцов картофеля, облученных рентгеновским излучением, в дозах 100 Гр и 1000 Гр, и необлученных образцов в течение 6 суток после радиационной обработки достигает 100% в независимости от сорта картофеля.



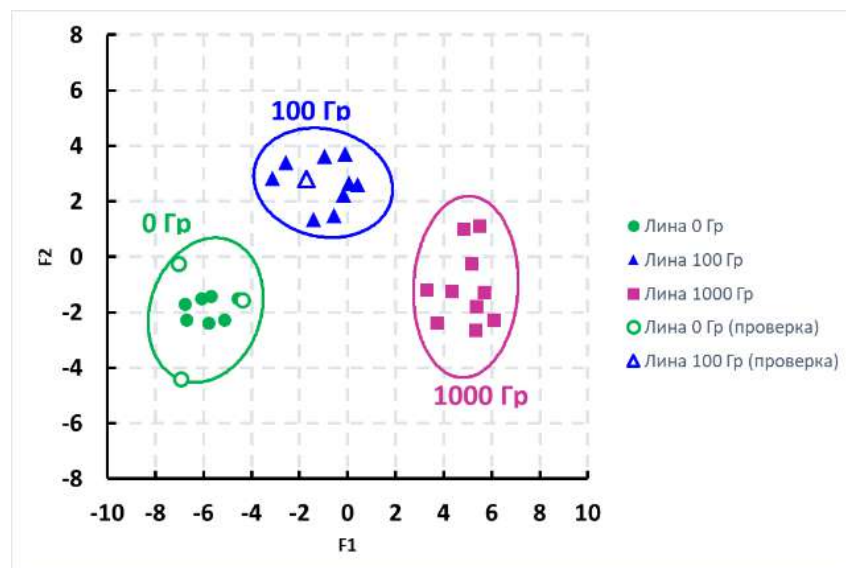
(a)



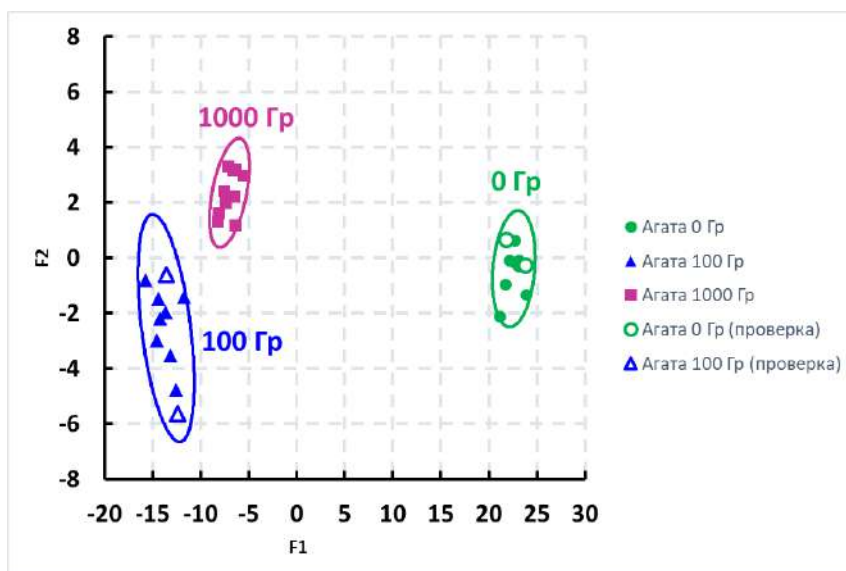
(б)



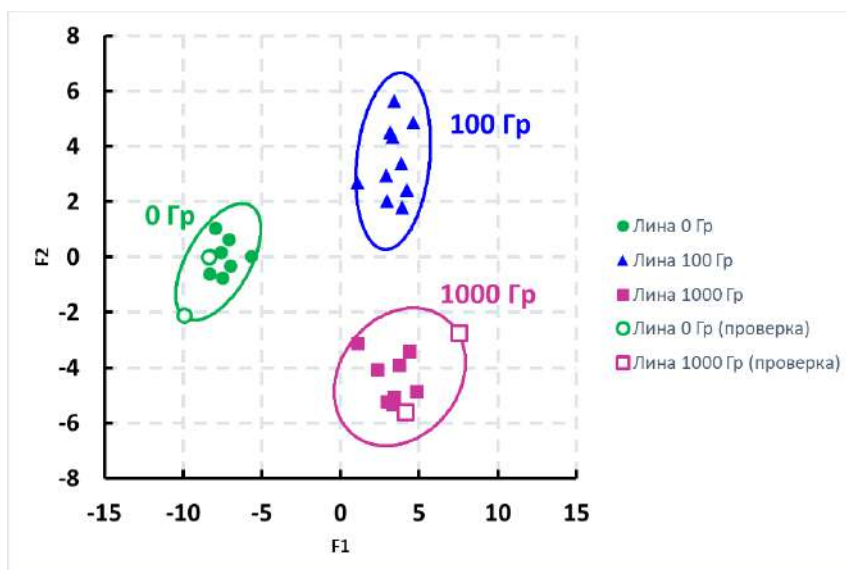
(B)



(Г)



(Д)



(е)

Рисунок 5.39 — Графики счетов линейного дискриминантного анализа для образцов картофельных экстрактов в окислительно-восстановительной индикаторной реакции, зафиксированных на 0-ые (а, б), 2-ые (в, г) и 6-ые (д, е) сутки в ИК-области и видимом свете. Для каждой дозы исследовали три разных образца картофеля двух сортов; а, в, д – сорт Агата, б, г, е – сорт Лина.

Облучение картофеля и говядины рентгеновским излучением

Образцы картофеля и говяжий фарш массой 4 г, помещенные в чашки петри диаметром 37 мм, облучали по отдельности с использованием рентгеновской установки ЛНК-268 (ООО "Диагностика-М", Россия), состоящей из рентгеновского аппарата РАП 100-10 с рентгеновской трубкой 1БПВ23-100. Напряжение на трубке 80 кВ и ток 2 мА были выбраны для обеспечения необходимой мощности дозы облучения. Образцы облучали в дозах 100 Гр и 1000 Гр. Для обеспечения максимально возможной однородности облучения говяжий фарш и куски картофеля в форме цилиндра помещали в чашки петри диаметром 37 мм, толщина биообъектов не превышала 2 мм. Цветная карта распределения относительной поглощенной дозы в объеме облучаемых образцов представлена на рисунке 5.40. Как следует из рисунка, согласно результатам компьютерного моделирования, однородность облучения образцов толщиной 2 мм составила $K'_1 = (0,60 \pm 0,02)$ отн.ед.

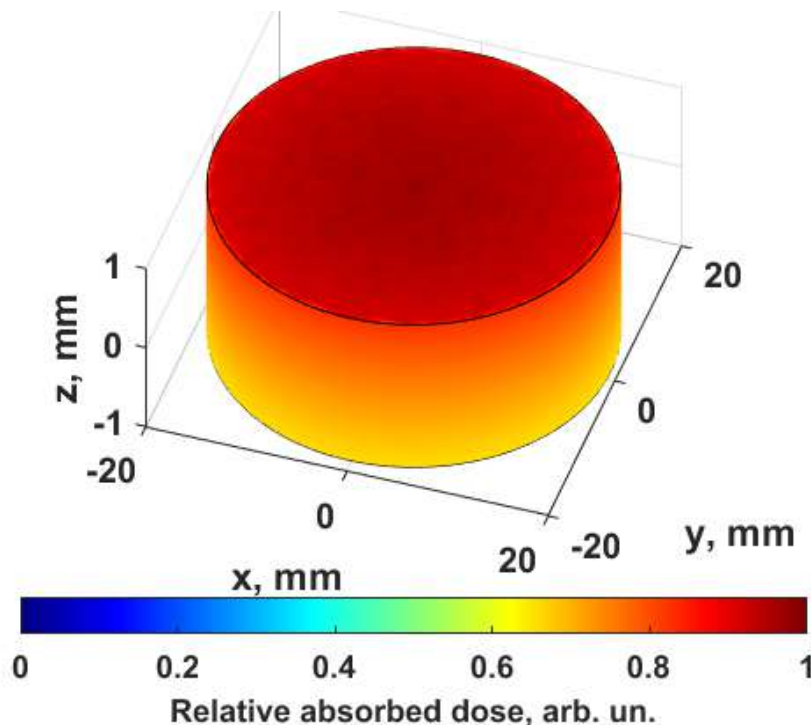
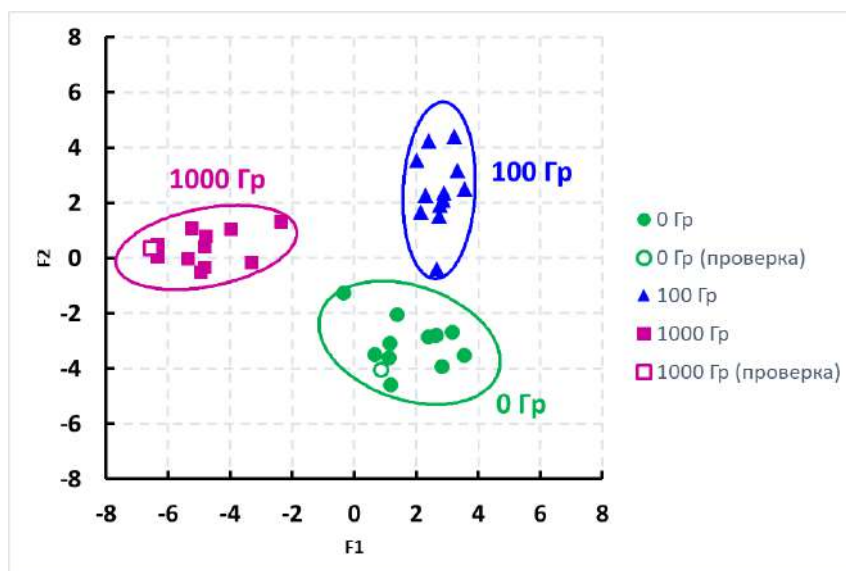
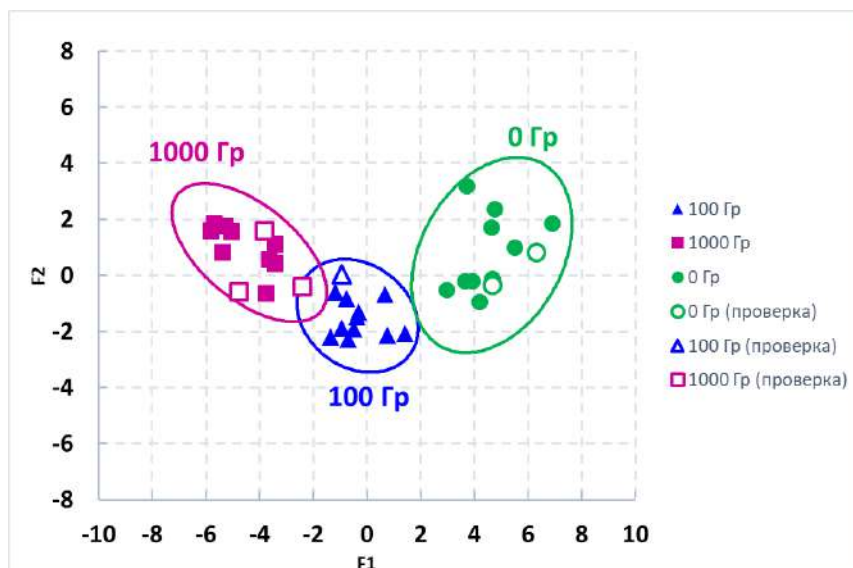


Рисунок 5.40 — 3D карта распределения относительной поглощенной дозы в водном фантоме в форме цилиндра толщиной 2 мм и диаметром 37 мм при обработке рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент} = 80$ кэВ.

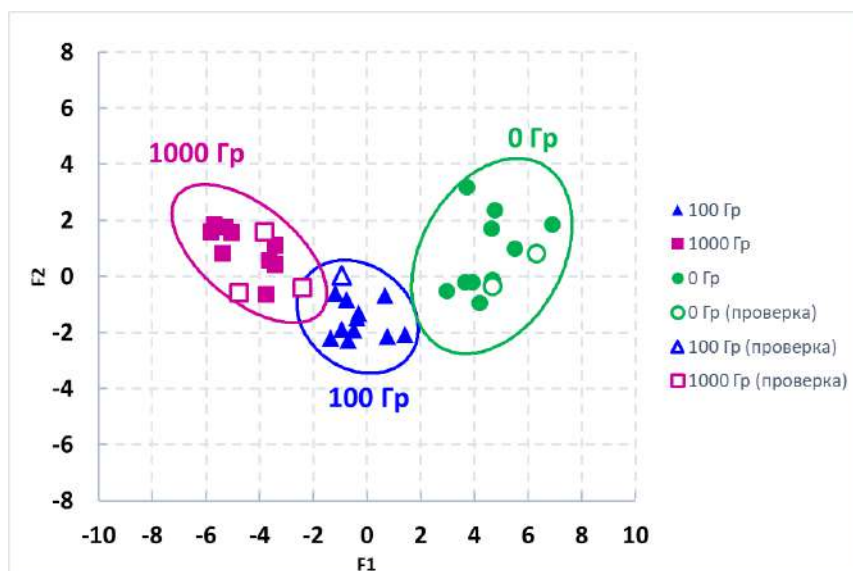
Для выбора оптимального режима экстракции часть образцов были экстрагированы в течение 24 часов при температуре 24°C, часть образцов подвергались экстракции в течение 1 часа при температуре 60°C для образцов говядины и при 70°C для образцов картофеля. Кроме того, была протестирована экстракция образцов говядины в течение 1 часа при комнатной температуре. Результаты линейного дискриминантного анализа (ЛДА) были визуализированы в виде графиков счетов с факторами F1 и F2 в качестве координат, где каждое наблюдение было представлено точкой. График счетов наглядно представляет картину распознавания образцов, облученных в разных дозах. В качестве критериев отнесения данных к определенной дозе использовалось расстояние от точек валидации, показанных закрашенными символами, до барицентров эллипсов, представленных не закрашенными символами. На рисунке 5.41 а-г представлены графики счетов использования флуориметрического метода «отпечатков пальцев» для образцов картофеля и говядины, обработанных рентгеновским излучением в дозах 100 Гр и 1000 Гр, а также для необлученных образцов биообъектах. Данные сняты при различных режимах экстракции.



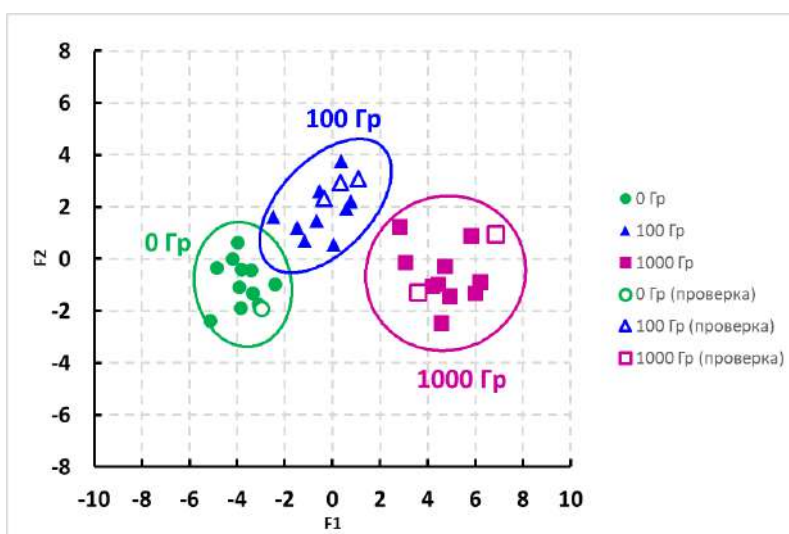
(a)



(б)



(в)



(г)

Рисунок 5.41 — Графики счетов линейного дискриминантного анализа для: (а) говядина (экстракция в течение 24 ч при комнатной температуре, индикаторная реакция: краситель IR-783 - NaOCl); (б) говядина (экстракция в течение 1 ч при 60°C, индикаторная реакция: краситель 8- H₂O₂ – метамизол); (в) картофель (экстракция в течение 24 ч при комнатной температуре); (г) картофель (экстракция в течение 1 ч при 60°C); Заполненные знаки - точки валидации, пустые знаки - точки проверки. Фиолетовые точки – необлученные образцы, красные - облученные в дозе 100 Гр, зеленые – в дозе 1000 Гр. Для каждой дозы излучения исследовали три образца фарша говядины и кусков картофеля.

Экспериментальные исследования показали, что точность распознавания картофеля и говяжьего фарша, облученных в дозах 100 Гр и 1000 Гр, и необлученных образцов составляет от 83% до 100% [413]. Выявлено, что точность распознавания облученных и необлученных образцов объектов растительного и животного происхождения зависит от природы индикаторной реакции, природы образца, режима экстракции, включающего время и температуру экстракции. Режим экстракции оказывает большое влияние на точность оценки дозы. Длительная экстракция в течение 24 часов при температуре 23°C дает заметно более высокие результаты, чем одночасовое нагревание, поскольку внутренняя диффузия некоторых биохимических веществ, выступающих в роли маркеров радиационного воздействия, занимает больше времени.

Экспериментально установлено, что кинетический флуориметрический метод на основе индикаторных реакций с применением алгоритмов машинного обучения, позволяет отличить с точностью до 100% необлученные образцы растительного и животного происхождения от образцов, облученных в дозах 100 Гр, 1000 Гр и 10000 Гр независимо от типа излучения (ускоренные электроны и рентгеновское излучение) в течение шести суток после радиационной обработки. Обладая высокой чувствительностью, этот метод позволяет с высокой степенью точности различать образцы, облученные разными дозами, несмотря на присущую образцам неравномерность дозы. Установлено, что 24-часовое время экстракции позволяет получить большее количество соединений, изменяющих скорость индикаторных реакций, что повышает точность распознавания облученных и необлученных образцов по сравнению с 1-часовым экспресс-методом. Результаты исследования могут послужить основой для разработки метода идентификации факта облучения продуктов питания и определения доз, поглощенных продуктами при промышленном облучении.

Выводы к главе 5

1. Воздействие ионизирующего излучения запускает последовательность химических превращений летучих органических молекул в биообъектах, взаимно порождающих и влияющих друг на друга, которые, в конечном счете, влияют на состояние и их качество после радиационной обработки. С увеличением дозы растет концентрация летучих органических соединений при облучении биообъектов.
2. Установлено, что в диапазоне доз 600-2000 Гр эффективность воздействия пучка электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ на белок (бычий сывороточный альбумин) в 0,9% растворе NaCl ниже по сравнению с воздействием рентгеновского излучения с $E_{\text{макс}} = 80$ кэВ при одной и той же мощности дозы $4 \text{ Гр} \cdot \text{с}^{-1}$.
3. Увеличение концентрации альдегидов, образованных в результате окисления липидов в гомогенате говяжьей вырезки, в 2–3 раза наблюдается при облучении в дозах от 500 Гр и выше по сравнению с концентрацией альдегидов в необлученных образцах. При этом для альдегидов, образующихся в результате окисления аминокислот, соизмеримое увеличение концентрации наблюдается при облучении в существенно большей дозе, а именно, при 5000 Гр.
4. При облучении стандартного образца спирта гексанола-1 в 0,9% растворе NaCl пучком электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ в диапазоне доз 200–1200 Гр при мощности дозы $10 \text{ Гр} \cdot \text{с}^{-1}$ общая концентрация летучих соединений, являющихся продуктами распада гексанола-1, скорость их накопления на единицу поглощенной дозы, а также количество идентифицированных соединений выше по сравнению с облучением при мощности дозы $1 \text{ Гр} \cdot \text{с}^{-1}$.
5. Зависимости концентрации от дозы для альдегидов, образующихся в результате окисления липидов и белков под действием излучения, а также концентрации спирта этанола, как показателя бактериальной активности, являются маркерами эффективности воздействия электронов на целевые и нецелевые биомешины и могут быть положены в основу определения границ оптимального диапазона доз радиационной обработки охлажденной мясной и рыбной продукции.
6. Спектрофотометрический метод расчета концентрации метмиоглобина в биообъектах с содержанием миоглобина и метод ферментативного гидролиза трипсином нативной структуры белка (бычьего сывороточного альбумина) позволяют количественно оценить степень воздействия электронов и рентгеновского излучения в дозах до 10000 Гр на белки в зависимости от физических параметров излучения (доза, мощность дозы, тип излучения).

7. Кинетический флуориметрический метод «отпечатков пальцев» может быть использован для различения необлученных и облученных в диапазоне доз 100–1000 Гр биообъектов растительного и животного происхождения.
8. Найдены оптимальные диапазоны радиационной обработки продукции животного и растительного происхождения на основе анализа эффективности повреждения нецелевых и нецелевых мишеней. Для выбора оптимального диапазона доз радиационной обработки продуктов питания и сельскохозяйственных культур необходимо установить дозу $D_{\text{опт}}$, при которой функция оптимизации радиационной обработки $H(D)$, определяемая разницей эффективностей повреждения целевых и нецелевых мишеней, максимальна, $H = H_{\text{макс}}$. Границы оптимального диапазона, выбранные по уровню $0,9H_{\text{макс}}$ составили: для гомогената говядины с учетом окисления миоглобина — 220–854 Гр; с учетом повреждения нативной структуры белка (бычий сывороточный альбумин) в модельной системе — 204–755 Гр.

Глава 6. Влияние радиационной обработки на прорастание сельскохозяйственных культур и подавление фитопатогенов

6.1 Эффективность радиационной обработки клубней картофеля с использованием разных источников излучения

Влияние обработки пучком электронов семенного картофеля на фенологические, биометрические показатели, урожайность и фитопатогенное состояние картофеля

В работе экспериментально исследовалось влияние предпосадочной радиационной обработки семенного картофеля на развитие растений, показатели продуктивности и фитосанитарное состояние культуры. Клубни семенного картофеля сорта Лина со средним диаметром (40 ± 5) мм с естественным заражением ризоктониозом облучались с двух сторон ускоренными электронами, генерируемыми ускорителем УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ. Ток пучка во всех сессиях облучения варьировался от 50 нА до 2,5 мкА. Количество клубней, облученных в одной дозе, составило $n=8$. Всего в исследовании участвовало 80 клубней, 72 из которых обрабатывались в дозах 20, 40, 100, 150, 200, 500, 1000, 2000 и 3000 Гр, восемь клубней не обрабатывались, их показатели служили контрольными для обработанных клубней. Штаммы *Rhizoctonia solani*, обнаруженные на зараженных семенных клубнях, относятся к группе ананомоза Ag-3, подгруппам SP-23, SP-25, выделенным из инфицированной почвы, и группе Ag-4, подгруппам SK-14, SK-20, выделенным из склероциев, обнаруженных на клубнях.

Исследования фенологических, биометрических показателей, урожайности клубней проводились в почвенно-климатических условиях, характерных для лесостепной зоны Западной Сибири. После посадки клубней фиксировалось количество дней, необходимых для наступления фаз прорастания, бутонизации и цветения растений. Далее в ходе исследования оценивался урожай и его фракционный состав, а также степень заражения поверхности клубней нового урожая ризоктониозом.

Полученные в ходе исследования результаты фаз становления растений выявили нелинейную зависимость биометрических характеристик картофеля от дозы, поглощенной семенными клубнями при предпосадочной обработке ускоренными электронами. Количество взошедших растений, или всхожесть (В), оценивалось по отношению количества взошедших растений к общему количеству посаженных семенных клубней. Количества бутонизирующих растений (Б) и цветущих (Ц) растений оценивались по отношению количества растений с бутонами и растений с цветами к общему количеству взошедших растений на момент времени наблюдения, соответственно. На рисунке 6.1 а-в представлена кинетика фаз всходов, бутонизации и цветения растений, выращенных из обработанных электронами семенных

клубней. Установлено, что доза облучения семенного материала влияет на кинетику прорастания (рис. 6.1 а) [414], бутонизации (рис. 6.1 б) и цветения (рис. 6.1 в) растений. Если для необлученных клубней и клубней, облученных в дозах 20 Гр и 40 Гр, наблюдались все три фазы развития растений, то при обработке в дозах 100 Гр и 150 Гр фаза цветения не наступила (рис. 6.1в) [415].

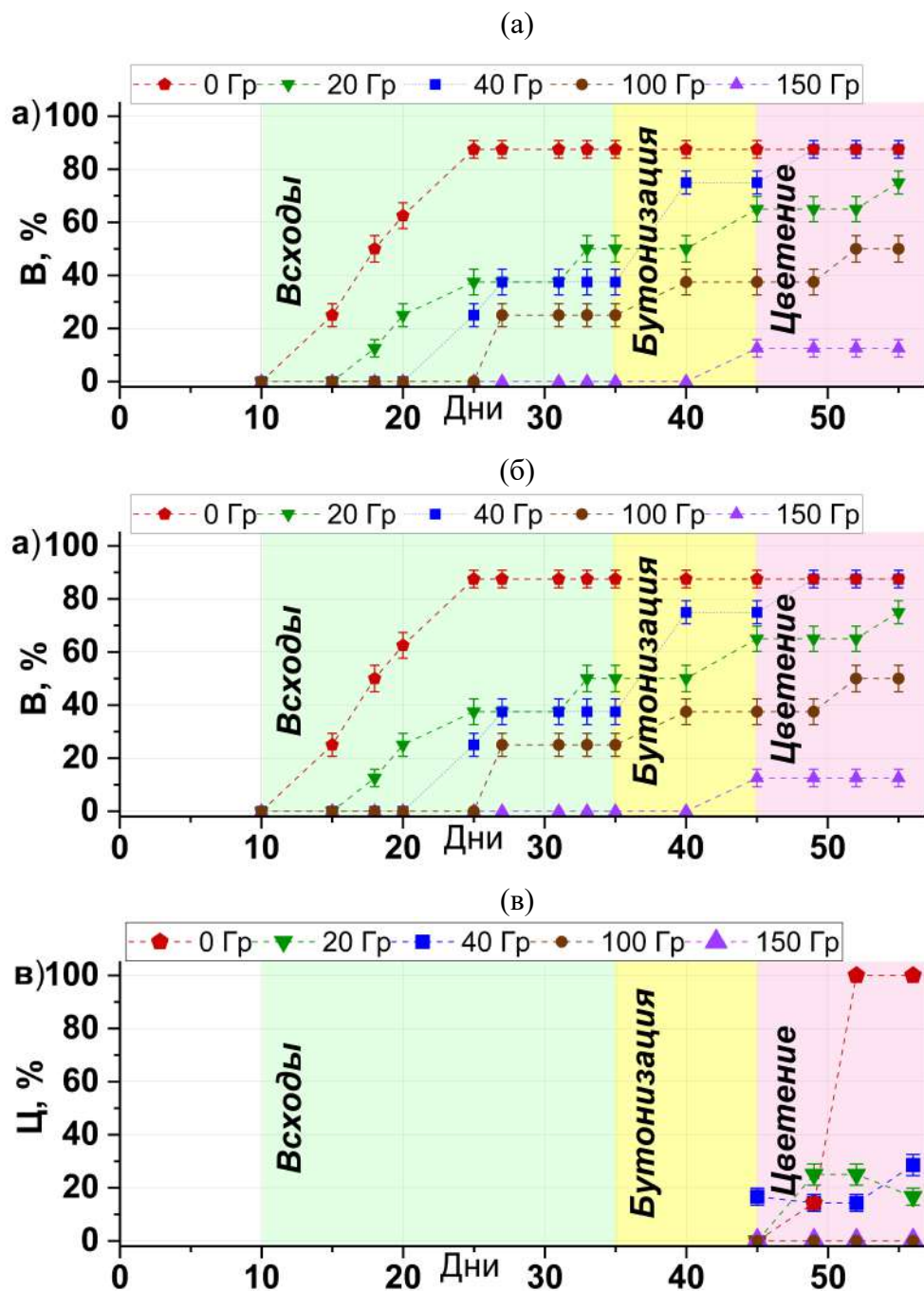


Рисунок 6.1 — Развитие прорастания (а), бутонизации (б) и цветения (в) с течением времени после предпосадочной обработки семенного картофеля дозами 0 Гр, 20 Гр, 40 Гр, 100 Гр и 150 Гр. Зеленая, желтая и розовая зоны представляют собой фазы прорастания, бутонизации и цветения соответственно.

Прорастание 25% растений, выращенных из необработанного картофеля, началось на 15-й день после посадки (рис. 6.1а). На всех стадиях роста растений с увеличением дозы облучения наблюдалась задержка прорастания картофеля увеличивалась. При облучении посадочного материала в дозе 20 Гр начало прорастания 25% клубней наблюдалось на 5 дней позже, чем для необлученных образцов. При более высоких дозах облучения, а именно 40 Гр и 100 Гр, 25-ти процентный порог прорастания был достигнут на 10 и 12 дней позже, чем у необлученных образцов, соответственно. При облучении картофеля в дозе 150 Гр количество образцов, проросших на 30 дней позже контрольных, не превышало 12 % от общего количества посаженных клубней. Если фаза прорастания 75 % растений, выращенных из необлученного картофеля, началась через 22 дня после посадки, то такая же доля растений, выращенных из картофеля, облученного 20 Гр и 40 Гр, проросла через 55 и 40 дней после посадки, соответственно. Для сравнения: доля картофеля, проросшего после облучения в 100 Гр, составила всего 50 % от общего числа проростков. Облучение посадочного материала ускоренными электронами в дозе 150 Гр не позволило проросшим растениям достичь отметки 25 %.

Тенденция к отставанию в фенологическом развитии у облученного картофеля сохранялась в фазе бутонизации картофеля. Время между фазами прорастания и распускания почек у необработанных образцов было короче, чем у облученных растений (рис. 6.1б). Для необлученных образцов и образцов, облученных в дозе 20 Гр, 49-й день после посадки ознаменовал начало фазы цветения. Для клубней картофеля, обработанных в дозе 40 Гр, фаза цветения началась на 4 дня раньше, чем у необлученных образцов (рис. 6.1в). Дальнейший мониторинг показал, что 100% растений, выращенных из необлученных клубней, вступили в фазу цветения на 52-й день. Почти 30 % растений, проросших из семенного материала, облученного в дозах 20 и 40 Гр, вступили в фазу цветения на 56-й день. При дальнейшем увеличении дозы, применяемой к семенному картофелю, ни один росток не вступил в фазу цветения.

Анализ биометрии растений показал, что кинетика прорастания необлученных растений и растений, семенные клубни которых были облучены ускоренными электронами, может быть записана в виде функции:

$$G(t) = \frac{G_{max}}{2} \left(1 + \operatorname{erf} \left(\frac{t-t_0}{\Delta\sqrt{2}} \right) \right), \quad (6.1)$$

где G_{max} - максимальное значение параметра G , t_0 – время прорастания половины растений, Δ - стандартное отклонение значения t_0 . На рисунке 6.2 показана всхожесть облученных и необлученных клубней картофеля, а также функции, аппроксимирующие экспериментальные

данные. Параметры аппроксимации экспериментальных данных по формуле (6.1) представлены в таблице 6.1.

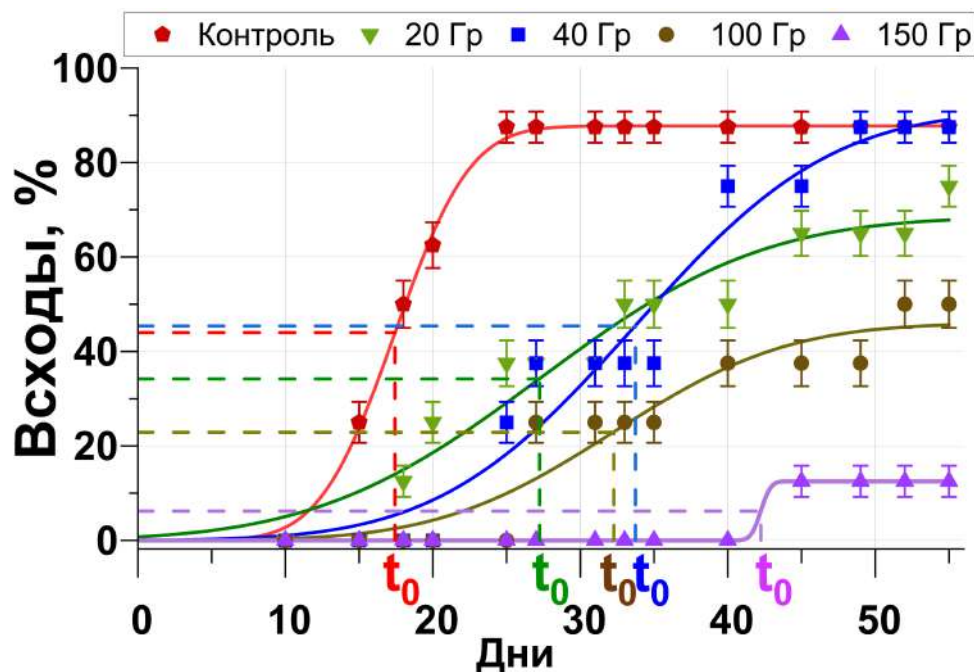


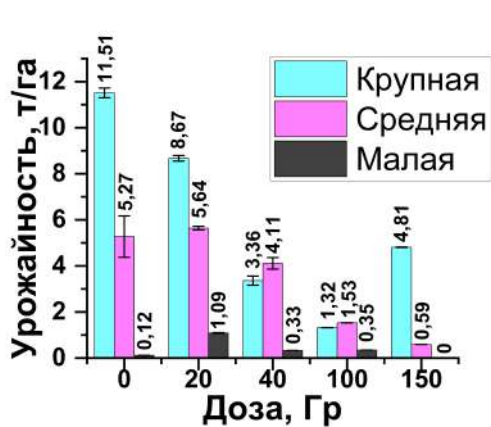
Рисунок 6.2 — Кинетика прорастания картофеля после радиационной обработки и функции, аппроксимирующие экспериментальные данные.

Таблица 6.1 — Параметры функции (6.1), описывающей всхожесть облучённых и контрольных образцов.

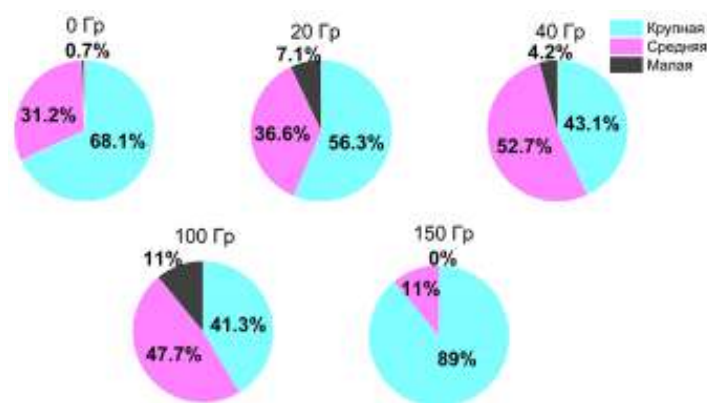
Доза (Гр)	Параметры функции $G(t)$			R
	t_0 (дни)	Δ (дни)	G_{max} (%)	
0	17.43 ± 0.24	3.99 ± 0.42	87.73 ± 1.03	0.99
20	27.24 ± 3.67	11.89 ± 5.00	68.51 ± 9.86	0.97
40	33.74 ± 3.76	10.43 ± 4.59	90.98 ± 15.63	0.98
100	32.27 ± 4.50	9.28 ± 6.02	45.94 ± 9.59	0.96
150	42.24 ± 3.93	0.53 ± 0.93	12.5 ± 6.00	0.99

Из таблицы 6.1 видно, что если стандартное отклонение Δ для образцов, облученных в дозах 20, 40 и 100 Гр, варьировалось от 9 до 12 дней, то для 150 Гр оно составило 0,5 суток. Коэффициенты корреляции составляют 0,96-0,99, что свидетельствует об адекватности предложенной аппроксимации прорастания клубней по формуле (6.1).

Процессы прорастания, бутонизации и вегетации растений влияли на урожайность и его фракционный состав: чем выше доза облучения, тем ниже урожайность. При определении фракционного состава урожая были выделены три фракции: мелкие клубни массой менее 40 г, средние клубни массой от 40 до 80 г и крупные клубни массой более 80 г.



(а)



(б)

Рисунок 6.3 — а -Зависимость урожайности картофеля, выращенного из обработанного электронами семенного материала, от дозы обработки; б – гистограммы распределения урожая при обработке семенного картофеля. Фракции урожая представлены различными цветами: крупная (голубой), средняя (розовый), мелкая (черный).

На рисунке 6.3а показана урожайность культуры, выращенной из необлученного семенного материала и из семенных клубней, облученных в различных дозах. Как видно из рисунка, количество урожая снижалось с увеличением дозы предпосадочной обработки. На рисунке 6.3б представлены круговые диаграммы, отражающие фракционный состав урожая, выращенного из необлученного и облученного картофеля. Анализ фракционного состава показал, что из семенного картофеля, облученного в дозах от 20 до 100 Гр, было получено больше мелких и средних клубней по сравнению с необработанными образцами. После облучения в дозе 150 Гр мелкая фракция клубней полностью отсутствовала, крупная фракция преобладала над средней. Урожай, выращенный из необработанного картофеля и картофеля, облученного в дозе 20 Гр, представлен в основном крупной фракцией, в то время как при облучении 40 и 100 Гр средняя фракция преобладала над крупной. Можно отметить, что соотношение мелких фракций увеличилось с 0,7 до 11% при увеличении дозы облучения от 0 до 100 Гр, используемой для предпосадочной обработки.

Урожай, выращенный из облученных и необлученных клубней, был проанализирован для выявления несклероциальных и склероциальных форм ризоктониоза в клубнях (табл. 6.2). Из таблицы 6.2 видно, что чистый некроз, преобладающий среди несклероциальных форм в посевах, нелинейно снижался с увеличением дозы облучения при предпосадочной обработке [416].

Таблица 6.2 — Формы ризоктониоза, обнаруженные на клубнях картофеля нового урожая, выращенного из облучённых и необлучённых клубней.

Форма ризоктониоза	Доза (Гр)				
	0	20	40	100	150
Несклероциальные формы					
Сетчатый некроз, %	97,8 ± 9	100,0 ± 9	87,5 ± 7	70,0 ± 7	66,6 ± 7
Углублённая пятнистость, %	91,3 ± 9	17,6 ± 3	18,7 ± 2	0	0
Трещины, %	13,0 ± 3	11,8 ± 2	6,2 ± 1	10,0 ± 2	0
Уродливость, %	2,2 ± 0,4	11,8 ± 2	0	0	0
Склероциальные формы					
<i>R. Solani</i> , %	100,0 ± 9	100,0 ± 9	56,2 ± 6	10,0 ± 2	0

Углублённая пятнистость была зарегистрирована на всех опытных образцах, за исключением тех, которые были облучены в дозах 100 Гр и 150 Гр. Что интересно, картофель, выращенный из контрольных образцов, содержал наибольшее количество случаев пятнистости среди всех образцов, исследованных в ходе эксперимента. Как в необлученных образцах, так и в образцах, выращенных из семенного материала, облученного в дозах от 20 Гр до 100 Гр, трещины встречаются у 6-13% клубней. При этом Уродливость клубней нового урожая, появившихся после облучения посадочного материала в дозе 20 Гр, превышала уродливость контрольных образцов почти на 10 %.

Важно отметить, что все клубни, выращенные из облученных в дозах от 20 Гр до 100 Гр и необлученных образцов, имели склероциальные формы ризоктониоза, в то время как клубни, выращенные из семенного материала, облученного в дозе 150 Гр, не имели склероций *R. Solani*. Облучение посадочного материала в дозах 40 Гр и 100 Гр заметно снизило распространение склероций на клубнях нового урожая, что было более выражено при более высокой дозе. Поскольку склероции *Rhizoctonia Solani* развиваются на поверхности картофеля, электроны с энергией 1 МэВ, проникающие в клубни не глубже 5 мм от уровня поверхности, можно рассматривать как эффективный метод подавления склероций (рис. 6.4) [417]. Однако этот метод не влияет на несклероциальные формы, поскольку они могут находиться в более глубоких слоях клубней.

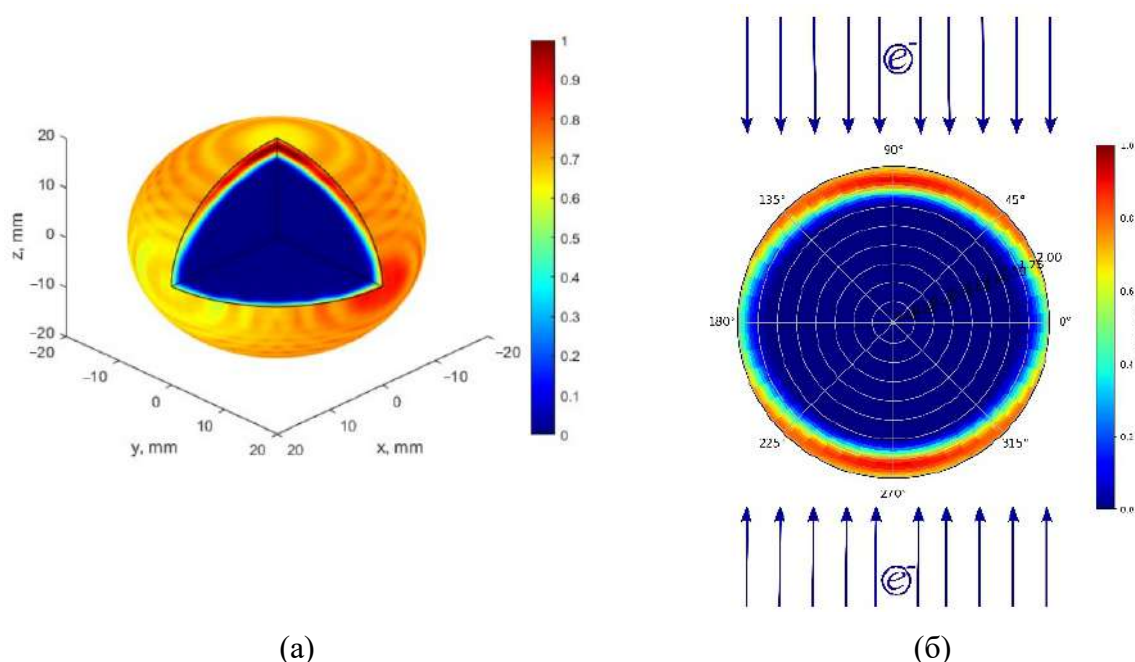


Рисунок 6.4 — 3D (а) и 2D (б) карты распределения относительной поглощенной дозы в водном фантоме в форме сферы при двустороннем облучении ускоренными электронами с $E_{max}^{эл}=1$ МэВ.

На основании экспериментальных данных можно предположить, что клубни семенного картофеля представляют собой статистический ансамбль с различной радиоустойчивостью к облучению в дозе от 20 до 200 Гр (рис.6.5). Это можно объяснить тем, что каждый клубень имеет форму эллипсоида, и пазушные почки, расположенные на поверхности клубня, которая перпендикулярна начальному направлению электронов, подвергались облучению в разной дозе по сравнению с пазушными почками на боковых сторонах клубня. В то же время распределение пазушных почек на поверхности и их глубина различны для каждого клубня. Поэтому на биологическое действие ускоренных электронов на семенной картофель может влиять количество ионизационных событий на один квадратный сантиметр поверхности клубня, а также расположение пазушных почек на поверхности клубня и равномерность дозы по поверхности клубня. Можно сделать вывод, что для каждого клубня характерно определенное пороговое значение дозы $D^{крит}$, после которого он перестает давать урожай. Это означает, что если семенной картофель облучить дозой выше таковой, то он не даст урожая. Значение указанной дозы зависит от многих факторов, таких как сорт клубней, химический состав, содержание витаминов, наличие грибковых, вирусных и бактериальных заболеваний, температура и влажность среды. В то же время семенные клубни представляют собой статистический ансамбль в плане подавления склероциальной формы ризоктониоза с помощью облучения (рис.6.5).

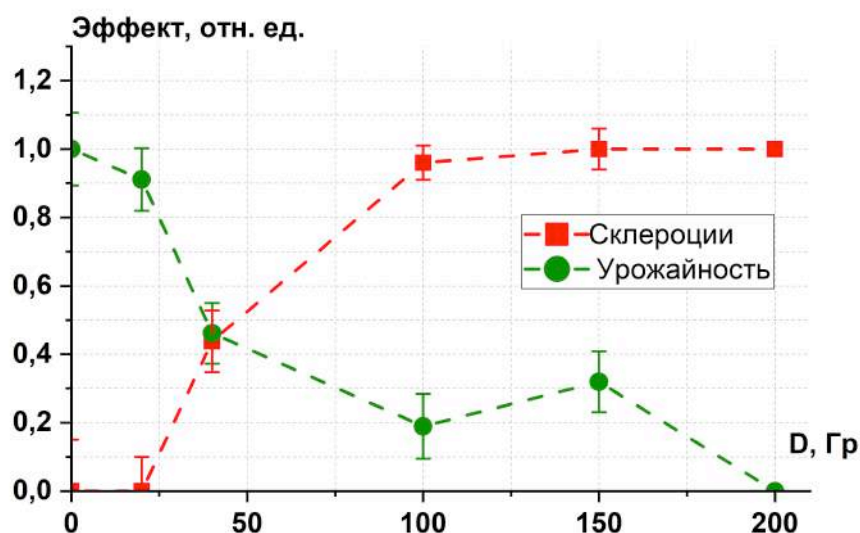


Рисунок 6.5 — Зависимость общей урожайности картофеля (зеленая кривая) и подавления распространенности склероциальных форм ризоктониоза, вызываемых *Rhizoctonia Solani* (красная кривая), на клубнях нового урожая от дозы облучения при обработке посадочного материала.

В работе эффективность повреждения биологических мишеней при радиационной обработке $\varepsilon = F(K_1, K_2, K_3)$ определяется фактором однородности распределения поглощенной дозы, вероятностью взаимодействия излучения и мишени, и гетерогенностью радиобиологической чувствительности мишеней в биообъекте. Поскольку фитопатогены, залегают на поверхности клубней, и поскольку ускоренные электроны с максимальной энергией 1 МэВ проникают в клубни на глубину до 5 мм, то равномерность облучения фитопатогенов $K_1 = 1$. Поскольку фитопатогены расположены на поверхности, то вероятность их взаимодействия с излучением $K_2 = 1$, т.е. все пазушные почки и фитопатогены испытали хотя бы одно попадание излучения. Сигмоидальный характер зависимости инактивации фитопатогенов свидетельствует о том, что для повреждения фитопатогена необходимо число взаимодействий выше $n > 1$, что может быть связано с большим размером склероций, и необходимо несколько взаимодействий для его повреждения. Другими словами, облучение фитопатогена в дозе $D \geq D^{\text{крит}}$ приводит к его повреждению. Так, при облучении в дозах до 20 Гр количество ионизаций, приходящихся на фитопатоген, недостаточно для его гибели. При дозах от 40 Гр наблюдается увеличение количества инактивированных фитопатогенов, при дозе от 150 Гр и выше все фитопатогены на поверхности клубней получили доз выше $D^{\text{крит}}$. При этом у различных фитопатогенов может быть различное значение $D^{\text{крит}}$. Таким образом, эффективность подавления фитопатогенов определяется фактором K_3 , определяющим дозы, необходимые для инактивации фитопатогенов из

статистического ансамбля. Сигмоидальная зависимость эффективности инактивации фитопатогенов можно описать формулой вида:

$$\varepsilon = K_1 \cdot K_3 = K_1 \cdot \frac{1}{1 + e^{-\frac{(D-\bar{D})}{\delta}}}, \quad (6.2)$$

где $\bar{D}$ – значение дозы, приводящее к повреждению 50% фитопатогенов на поверхности клубней, δ (Гр) – параметр, описывающий ширину перехода функции.

Наряду с подавлением фитопатогенов происходит подавление прорастания клубней, поскольку проростки также, как и фитопатогены, локализуются на поверхности клубней. Урожайность клубней зависит от множества факторов: количество глазков на клубне, погодные условия, фитосанитарное состояние клубня при посадке, степень инфицированности почвы различными вирусными, бактериальными и грибковыми инфекциями. При обработке ускоренными электронами с увеличением дозы облучения снижалась урожайность клубней, поскольку электроны, поглощаясь в поверхностных слоях картофеля на глубине не более 5 мм, воздействовали на глазки. Сигмоидальная зависимость урожайности от дозы облучения семенного картофеля определяется фактором K_3 , определяющим дозы, необходимые для ингибирования проростков из статистического ансамбля всех проростков на клубне. На рисунке 6.4 представлены зависимости эффективности подавления склероциальных форм ризоктониоза $\varepsilon^{\text{цм}}(D)$ и урожайности клубней $\varepsilon^{\text{урожай}}(D)$ от дозы предпосадочной обработки семенного материала.

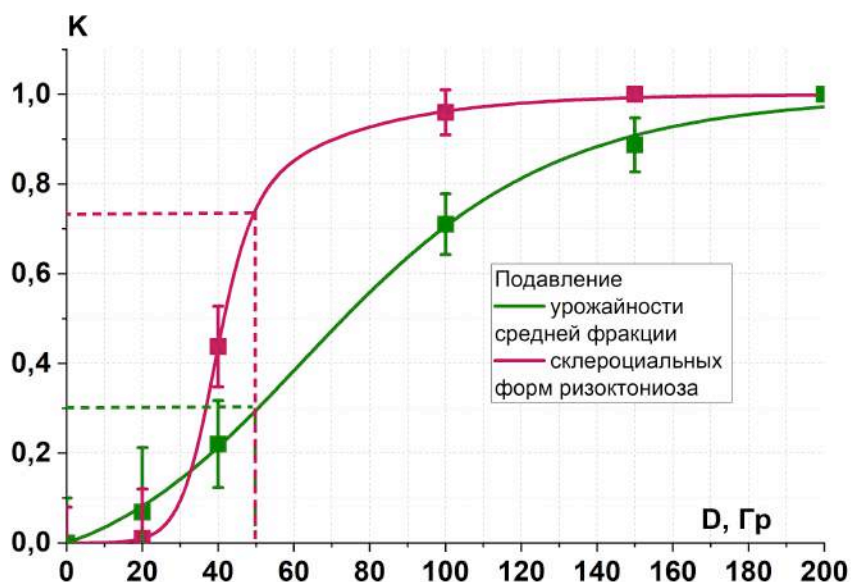


Рисунок 6.6 — Зависимость эффективности подавления распространности склероциальных форм ризоктониоза и урожайности продуктивности клубней от дозы облучения семенного картофеля.

Аппроксимация экспериментальных данных, представленных на рисунке 6.6, по формуле (6.2) дана с параметрами: склероциальные формы ризоктониоза: $K_1^{\text{цм}} = 1$, $\bar{D}^{\text{цм}} =$

$(38,0 \pm 0,29)$ Гр, $\sigma^{\text{цм}}=(4,6\pm0,5)$ Гр, $R^2= 0.99$; урожайность: $K_1= 1$, $\overline{D_{\text{урожай}}} = (53,0 \pm 0,8)$ Гр, $\sigma_{\text{урожай}}=(11,0 \pm 0,7)$ Гр, $R^2= 0.99$.

Влияние рентгеновского излучения на эффективность ингибирования прорастания клубней картофеля

Для исследования влияния дозы обработки рентгеновским излучением на эффективность ингибирования прорастания картофеля при хранении клубни сорта Невский массой (65 ± 15) г облучали рентгеновским излучением с использованием установки ДРОН УМ-2 с источником питания ПУР5/50 и рентгеновской трубкой БСВ-23 с молибденовым анодом. Ток трубки во всех экспериментах составлял 20 мА, напряжение - 50 кВ, рабочая мощность трубки составляла 1 кВт. В ходе двустороннего облучения клубни располагались на расстоянии 11 см от окна трубки для обеспечения однородного облучения поверхности клубней. Доза, поглощенная клубнями, рассчитывалась с помощью компьютерного моделирования с использованием программного кода Geant 4. В ходе моделирования учитывались технические параметры трубки. Клубни картофеля облучались в дозах от 3 Гр до 36 Гр, расчетная мощность дозы, поглощенная клубнями на расстоянии 11 см от бериллиевого окна трубки, составила $(0,0100\pm0,005)$ Гр/с.

Общее количество клубней, участвующих в исследовании, разделили на 4 части по 130-190 клубней для оценки влияния периода между сбором урожая и временем обработки клубней на эффективность ингибирования их прорастания. Клубни облучали спустя 2, 3, 4 и 5 месяцев после сбора урожая и далее следили за кинетикой прорастания клубней в течение 7 месяцев хранения при температуре 18°C после сбора урожая.

Поскольку проростки залегают на поверхности клубней, то эффективность подавления прорастания картофеля определяется фактором K_3 , определяющим диапазон доз $D^{\text{крит}}$, необходимых для повреждения различных проростков с учетом гетерогенности их радиобиологической чувствительности. Зависимость эффективности ингибирования прорастания от дозы облучения клубней в различные периоды их хранения описывали по формуле (6.2). На рисунке 6.7 представлены зависимости эффективности ингибирования прорастания $\varepsilon^{\text{рост}}(D)$ от дозы, поглощенной клубнями при радиационной обработке в различные периоды хранения картофеля. Аппроксимация экспериментальных данных, представленных на рисунке 6.7, по формуле (6.2) дана с параметрами: спустя 2 месяца после сбора урожая $\bar{D} = (5,8 \pm 1,4)$ Гр и $\sigma = (4,6 \pm 0,5)$ Гр, спустя 3 месяца — $\bar{D} = (5,4 \pm 0,4)$ Гр, $\sigma = (7,6 \pm 0,5)$ Гр, спустя 4 месяца — $\bar{D} = (8,2 \pm 0,4)$ Гр, $\sigma = (9,1 \pm 0,5)$. Согласно рассчитанным параметрам аппроксимации, чем больше позже обрабатываются клубни после сбора урожая, тем большая доза $\bar{D}^{\text{рост}}$ необходима для подавления прорастания 50% клубней. Таким

образом, фактор K_3 , выявляющий неоднородность радиобиологической чувствительности клубней, определяется состоянием клубней, которое меняется с течением времени хранения [418].

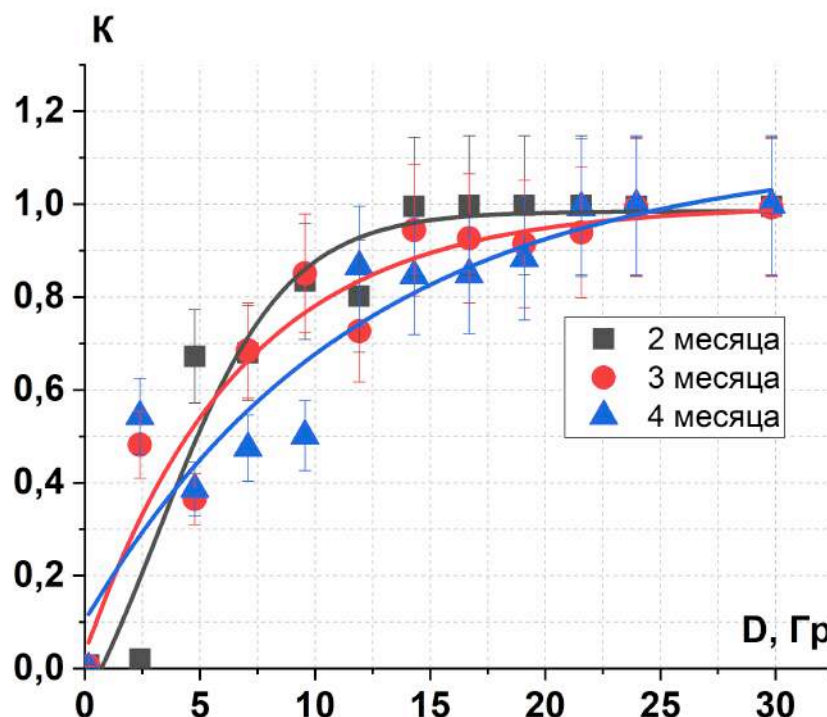


Рисунок 6.7 — Зависимость эффективности ингибирования прорастания клубней, облученных спустя 2 (черная кривая), 3 (красная кривая) и 4 (синяя кривая) месяца после сбора урожая, от дозы облучения картофеля.

Связь концентрации восстанавливающих сахаров с кинетикой прорастания в контрольных необлученных клубнях

Для контроля концентрации восстанавливающих сахаров в клубнях, как показателя вкусовых качеств картофеля, на протяжении 7 месяцев наблюдения проводился мониторинг уровня сахаров в картофеле, обработанном в различные периоды после сбора урожая. На рисунке 6.8 представлена зависимость концентрации восстанавливающих сахаров (синяя кривая) и кинетика прорастания (красная кривая) необлученных клубней в зависимости от времени хранения. Для сравнения на графике горизонтальными линиями показаны максимальный уровень восстанавливающих сахаров в клубнях и максимальная длина проростков на клубнях, обработанных в дозе 20 Гр спустя 2 месяца после сбора урожая, на протяжении всего периода хранения клубней. Как видно из рисунка 6.8, в январе, т.е. спустя 6 месяцев после сбора урожая в августе, наблюдался подъем концентрации сахаров до (14 ± 1) г/л (синяя кривая), что инициировало прорастание клубней (красная кривая). Для сравнения, уровень восстанавливающих сахаров в клубнях, обработанных в дозе 20 Гр спустя 2 месяца

после сбора урожая, не превышал 5 мг/л. Таким образом, радиационная обработка ингибирует прорастание клубней и стабилизирует концентрацию сахаров в картофеле. Низкий уровень восстанавливающих сахаров обеспечивает высокое качество картофеля при его последующей термической обработке, поскольку картофель с большим содержанием сахаров при нагревании темнеет и приобретает горьковатый вкус.

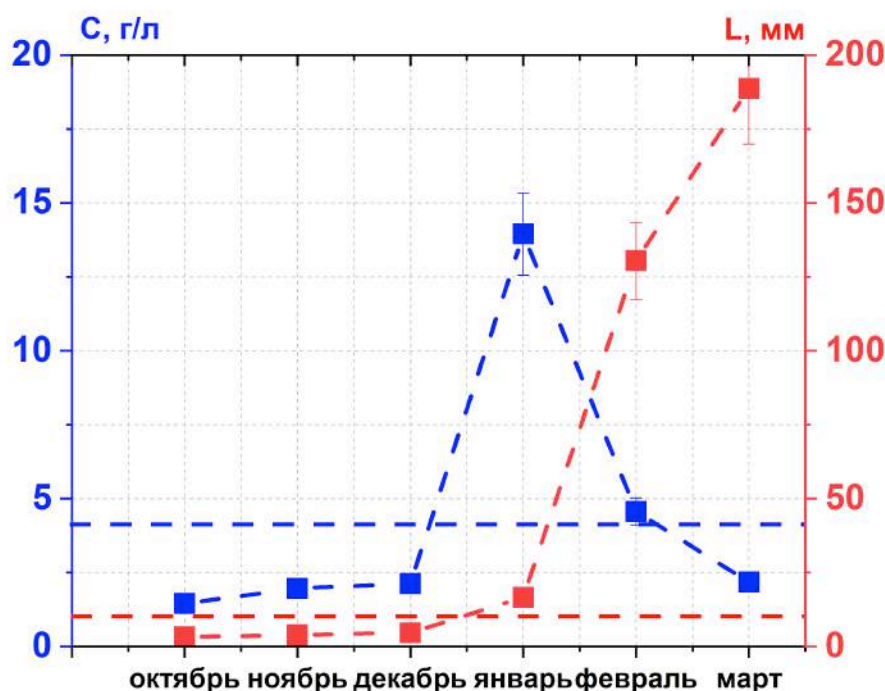


Рисунок 6.8 — Зависимость концентрации восстанавливающих сахаров (синяя кривая) и зависимость средней суммарной длины проростков, приходящейся на один клубень (красная кривая), от времени хранения картофеля необлученных клубней. Горизонтальная синяя и красная штрихованные линии соответствуют максимальной концентрации восстанавливающих сахаров и суммарной длины проростков, приходящейся на один клубень, при обработке клубней в дозе 20 Гр спустя 2 месяца после сбора урожая.

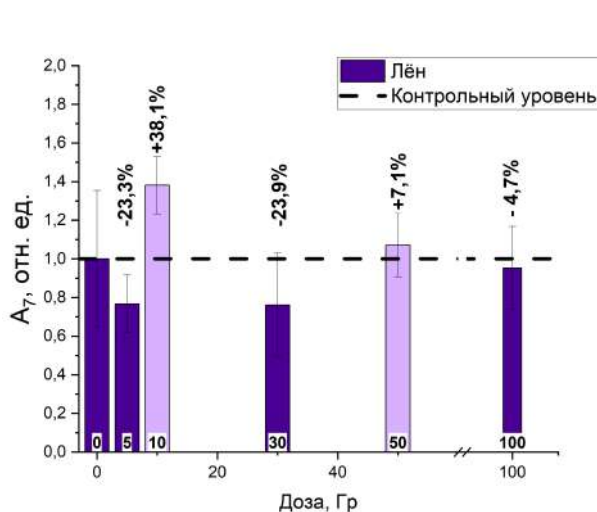
6.2 Биометрические показатели и фитосанитарное состояние семян при радиационной обработке разными источниками излучения

Для подбора оптимальных характеристик радиационной обработки для улучшения фитосанитарного состояния и увеличения скорости прорастания семян с естественным заражением, было проведено комплексное исследование влияния ускоренных электронов и рентгеновского излучения в различных дозах на биометрические показатели семян пшеницы, рапса, сои, льна, а также на количество и диаметр колоний, выросших на питательной среде вместе с семенами.

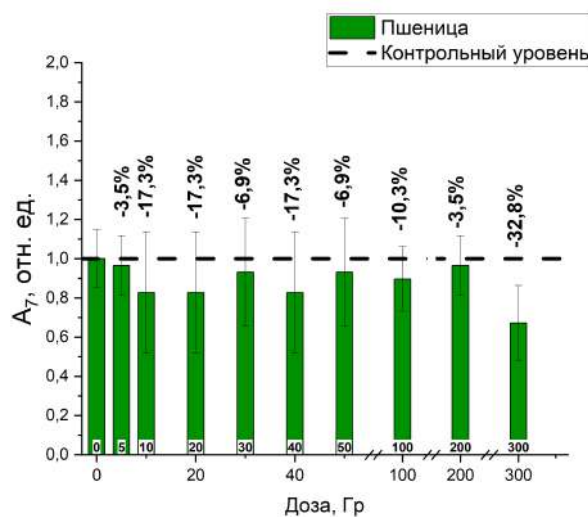
Ускоренные электроны

Семена пшеницы, льна и рапса с естественным заражением облучались с одной стороны ускоренными электронами, генерируемыми ускорителем УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ. Ток пучка во всех сессиях облучения составлял 50 нА. Количество семян, облученных в одной дозе, составило $n=30$. Всего в исследовании участвовало 300 семян каждого типа, расфасованных в полиэтиленовые пакеты по 30 семян в каждом пакете. Семена облучались в дозах 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200 и 300 Гр. Толщина слоя семян в пакете в момент облучения не превышала 2 мм. После облучения семена по 10 штук высевали на питательную среду в чашки петри, где оценивали их биометрические и фитосанитарные показатели.

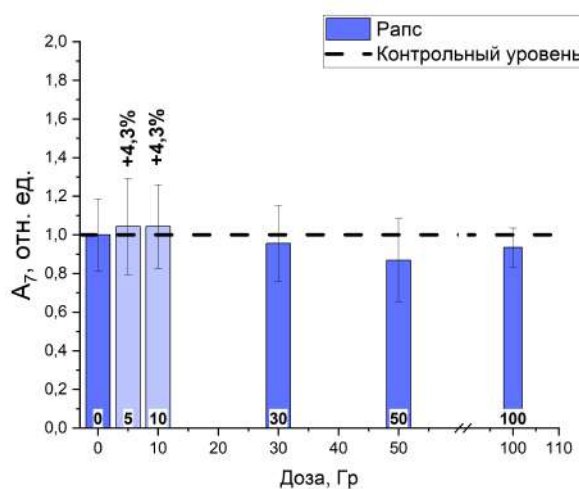
На рисунках 6.9 а-д представлены гистограммы значений параметра всхожести семян, рассчитанного, как отношение взошедших семян на седьмой день после посева к общему количеству семян, облученных в различных дозах.



(а)



(б)

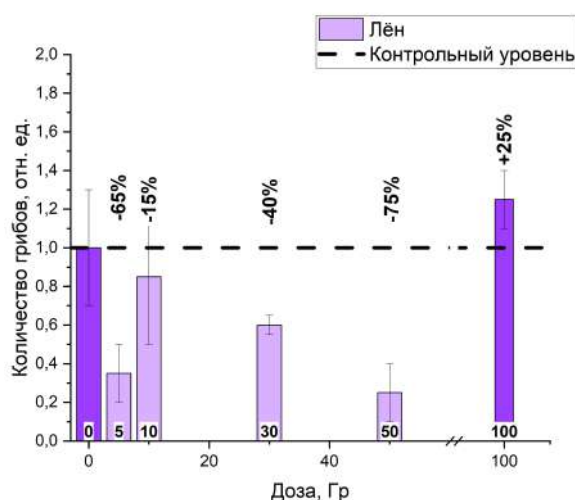


(в)

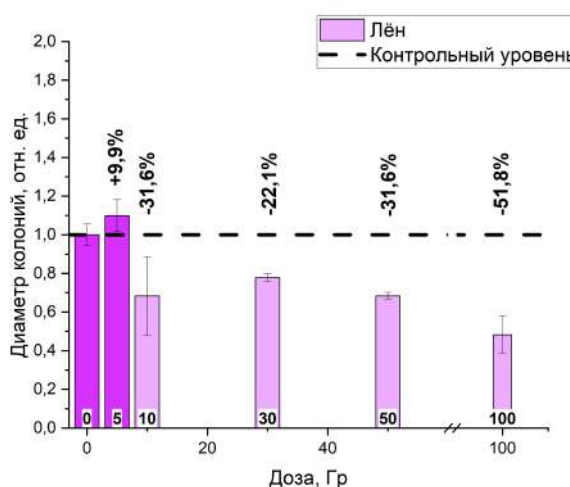
Рисунок 6.9 — Параметры всхожести семян, облученных в различных дозах, по отношению ко всхожести необлученных семян, измеренные на 7-й день: (а) – лён; (б) – пшеница; (в) – рапс. Светлые столбики соответствуют дозам, при которых показатели всхожести обработанных семян превысили показатели необлученных семян.

Обнаружено, что обработка ускоренными электронами в дозе 10 Гр привела к увеличению всхожести семян льна на 38%, что является наилучшим биометрических показателем среди всех обработанных типов семян. Обработка электронами семян рапса в дозах 5 Гр и 10 Гр привела к увеличению их всхожести на 4% по отношению к показателям необлученных семян. Исследование семян пшеницы показало, что ни одна из доз облучения существенно не увеличивала константу всхожести на 7-й день после посева.

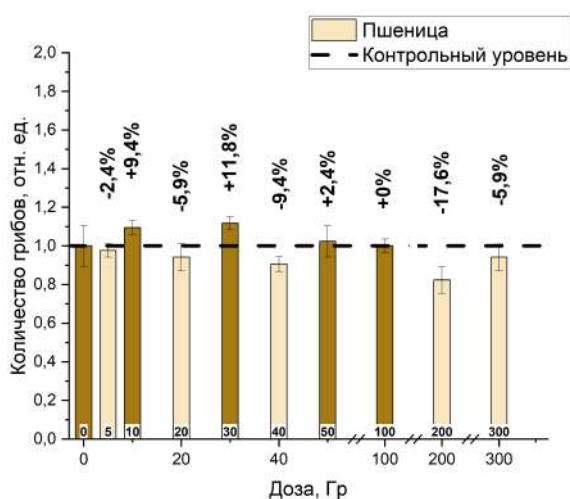
Фитосанитарный анализ необлученных и облученных образцов семян пшеницы и льна показал, что фитопатогены на семенах пшеницы преимущественно принадлежали к роду *Alternaria sp.*, а на семенах льна - к роду *Fusarium sp.* На рисунке 6.10 а-г представлены данные количества фитопатогенов и средний диаметр колоний фитопатогенов, выросших на семенах льна и пшеницы, высеянных на питательную среду. На семенах рапса фитопатогены обнаружены не были.



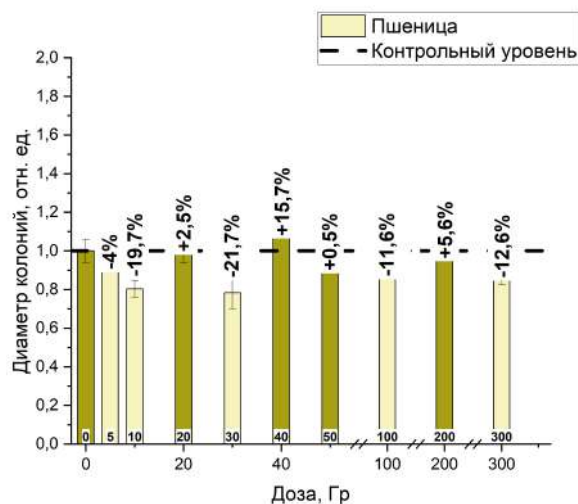
(а)



(б)



(в)



(г)

Рисунок 6.10 — Гистограммы относительного количества фитопатогенов на обработанных в различных дозах семенах льна (а) и пшеницы (в), нормированных на показатели необработанных семян, и относительные значения среднего диаметра колоний фитопатогенов, выросших на семенах льна (б) и пшеницы (г), нормированные на показатель необработанных семян. Светлые столбики соответствуют дозам, при которых фитосанитарные показатели ниже показателей необлученных семян.

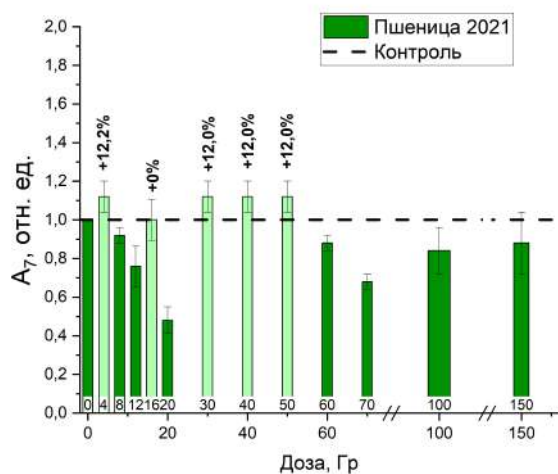
В необлученных образцах семян льна было обнаружено ($2,0 \pm 0,6$) колоний фитопатогенных грибов со средним диаметром ($25,3 \pm 1,4$) мм. В необлученных образцах семян пшеницы ($8,5 \pm 0,9$) были обнаружены колонии со средним диаметром ($19,8 \pm 1,2$) мм. Количество грибов и диаметр колоний для обоих типов семян не имели линейной зависимости от дозы облучения. Установлено, что наиболее существенная разница в количестве фитопатогенных грибов в семенах льна была обнаружена между показателями необлученных семян и семян, обработанных в дозе 5 Гр и 50 Гр, где количество грибов составляло менее 35%. Существенного влияния дозы облучения на количество грибных колоний в семенах пшеницы не наблюдалось, за исключением дозы 200 Гр, где этот показатель был на 17,6 % ниже показателя необлученных семян [419].

По совокупности факторов, включающих увеличение всхожести семян, подавление численности грибов родов *Fusarium* и *Alternaria* и уменьшение диаметра их колоний, наиболее оптимальной дозой при обработке ускоренными электронами с $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ является 10 Гр для льна сорта Северный. Установлено, что для сорта яровой пшеницы Новосибирская 29 дозы облучения, которые значительно снижали количество и диаметр колоний, одновременно подавляли прорастание семян.

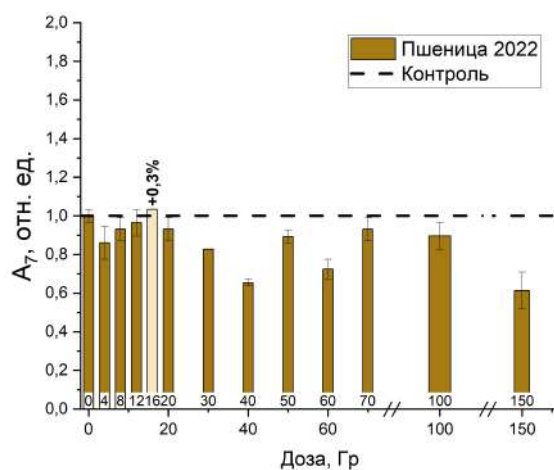
Рентгеновское излучение

Семена пшеницы, льна и рапса с естественным заражением облучались с одной стороны рентгеновским излучением, генерируемым рентгеновской установкой ЛНК-268 (ООО "Диагностика-М", Россия), состоящей из рентгеновского аппарата РАП 100-10 с рентгеновской трубкой 1БПВ23-100. Напряжение на трубке составило 80 кВ, ток трубки 2 мА. Количество семян, облученных в одной дозе, составило $n=30$. Всего в исследовании участвовало 390 семян каждого типа, расфасованных в полиэтиленовые пакеты по 30 семян в каждом пакете. Семена облучались в дозах 4, 8, 12, 16, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 100 и 150 Гр. Мощность дозы составляла $(0,93 \pm 0,15)$ Гр/с. Толщина слоя семян в пакете в момент облучения не превышала 2 мм.

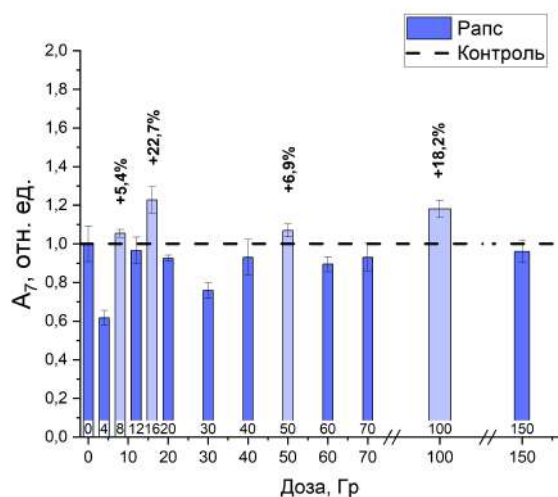
На рисунках 6.11 а-г представлены гистограммы значений параметра всхожести семян, рассчитанных на седьмой день после посева, к общему количеству семян, облученных в различных дозах. Предпосевное облучение семян пшеницы, собранных в 2021 и 2022 годах, льна и рапса выявило нелинейную зависимость всхожести растений от дозы облучения. Установлено, что облучение семян пшеницы урожая 2021 года в дозах 4 Гр, 16 Гр, 30 Гр, 40 Гр и 50 Гр привело к повышению показателей всхожести по отношению к необлученным семенам на 12% (рис.6.11а). Обработка рентгеновским излучением семян пшеницы урожая 2022 года не привела к увеличению всхожести культуры, практически все дозы подавили прорастание семян (рис. 6.11б). Сравнивая всхожесть семян пшеницы урожая 2021 и 2022 годов, можно сделать вывод, что предпосевная обработка рентгеновским излучением более эффективно увеличивала всхожесть семян пшеницы урожая 2021 года, что может быть связано с более благоприятными климатическими условиями для развития растений [420].



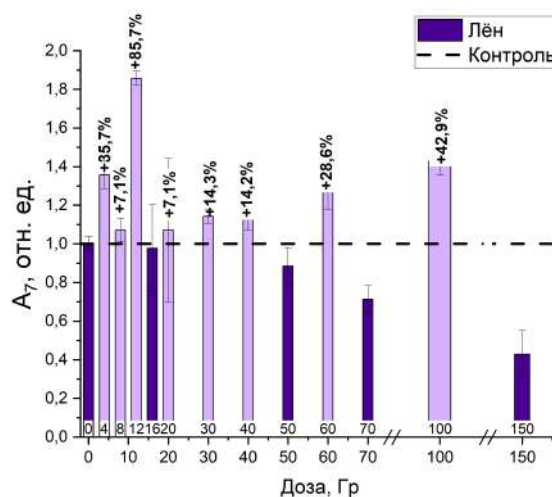
(а)



(б)



(в)

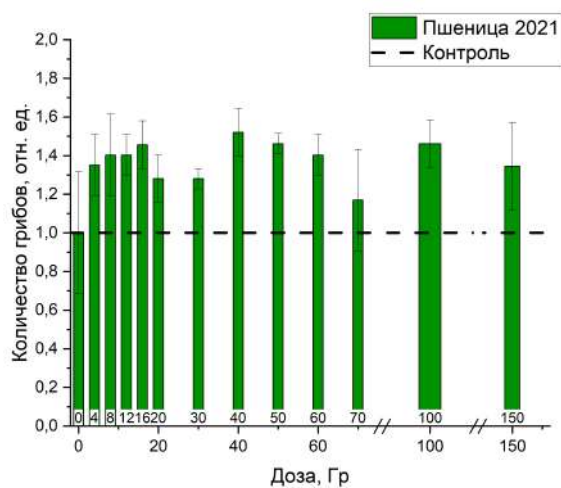


(г)

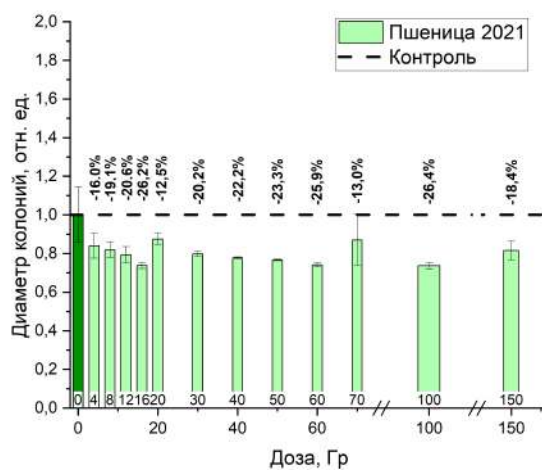
Рисунок 6.11 — Параметры всхожести семян, облученных в различных дозах, по отношению ко всхожести необлученных семян, измеренные на 7-й день: а – семена пшеницы урожая 2021 г.; (б) семена пшеницы, собранные в 2022 году; (в) семена рапса; (г) семена льна. Светлые столбики соответствуют дозам, при которых показатели всхожести обработанных семян превысили показатели необлученных семян.

Для семян рапса в образцах, облученных дозой 16 Гр, наблюдалось наибольшее увеличение параметра всхожести на 16% по сравнению с необлученными семенами (рис. 6.11в). У льна практически все дозы, кроме 16 Гр, 50 Гр, 70 Гр и 150 Гр, стимулировали всхожесть растений на 7-43% по сравнению с показателями необлученных семян (рис. 6.11г). Таким образом, наибольшее увеличение всхожести семян наблюдалось при обработке семян льна ускоренными электронами в дозе 10 Гр и рентгеновским излучением в дозе 12 Гр.

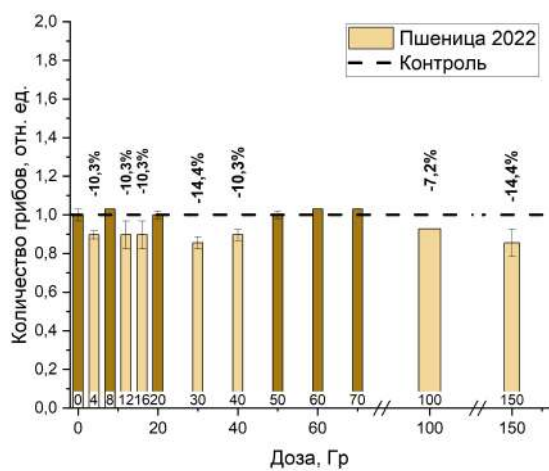
Анализ фитосанитарного состояния контрольных семян пшеницы, рапса и льна выявил широкий спектр как фитопатогенных грибов, таких как *Alternaria*, *Fusarium* и *Biolaris*, так и плесневых грибов *Aspergillus*, *Mucor* и *Penicillium*. Степень зараженности фитопатогенами была выше у семян пшеницы по сравнению с семенами рапса и льна. На рисунках 6.12 а-з представлены показатели количества грибов и среднего диаметра колоний грибов, обнаруженных на обработанных в различных дозах семенах пшеницы 2021 г. (а,б), пшеницы 2022 г. (в,г), рапса (д,е) и льна (ж,з), нормированных на показатели необработанных семян.



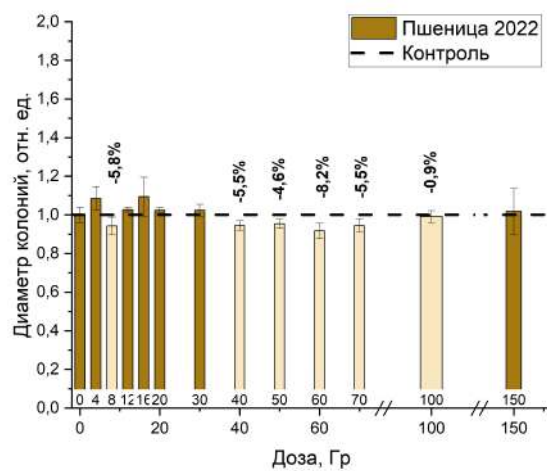
(а)



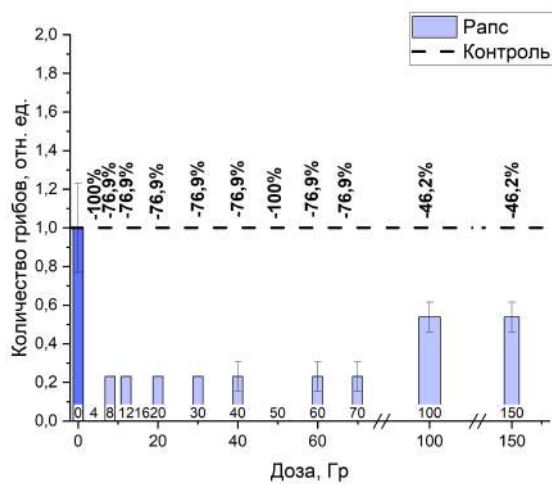
(б)



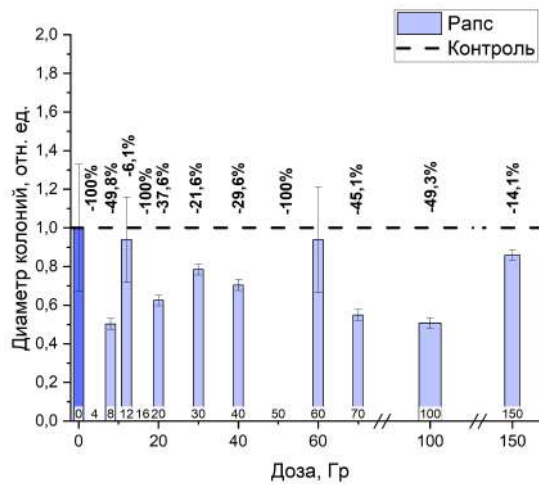
(в)



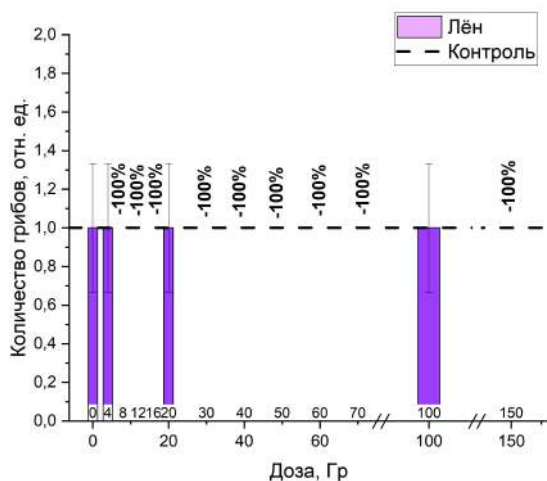
(г)



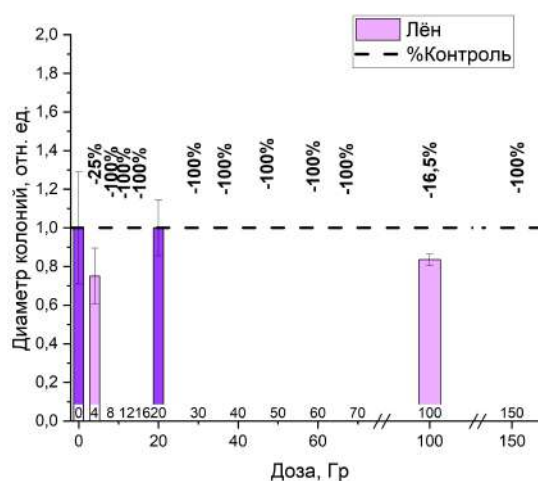
(д)



(е)



(ж)



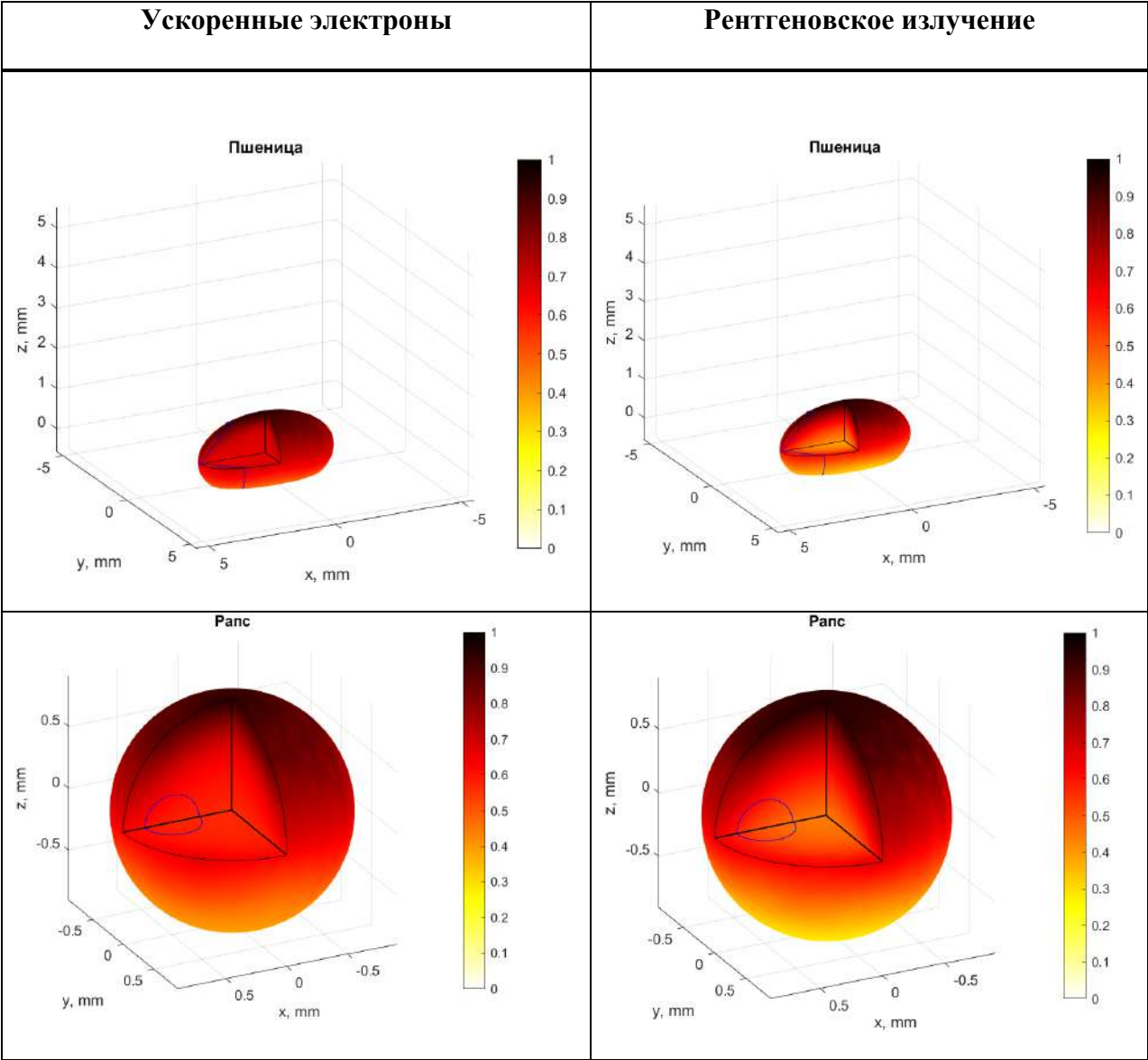
(з)

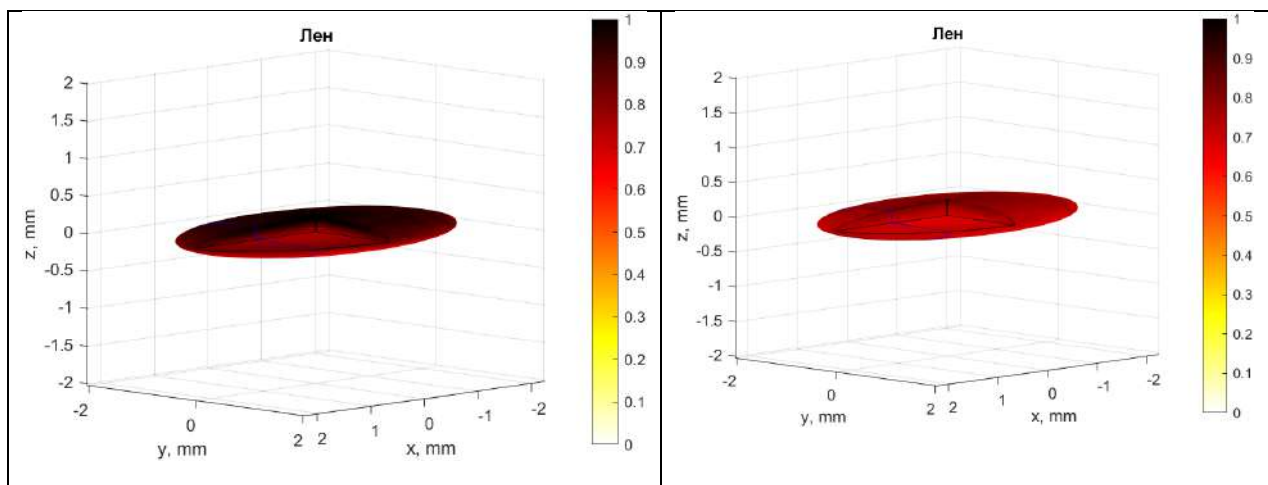
Рисунок 6.12 — Зависимости количества колоний грибов в семенах пшеницы урожая 2021 года (а), семенах пшеницы урожая 2022 года (в), рапса (д) и семенах льна (ж), а также среднего диаметра колоний, обнаруженных в семенах пшеницы урожая 2021 г. (б), семена пшеницы урожая 2022 г. (г), семена рапса (е) и семена льна (з). Светлые столбики соответствуют дозам, при которых фитосанитарные показатели ниже показателей необлученных семян.

Для семян пшеницы урожая 2021 года количество грибов после облучения увеличилось во всех облученных образцах (рисунок 6.12 а) на 17-52% по сравнению с необлученными семенами. Обработка рентгеновским излучением привела к уменьшению диаметра колоний грибов на семенах во всем исследуемом диапазоне доз (рисунок 6.12 б). Обработка семян пшеницы урожая 2022 г. в диапазоне доз от 4 Гр до 150 Гр практически не повлияла на количество и диаметр колоний грибов (рисунок 6.12 в,г). Облучение семян рапса в диапазоне доз от 4 Гр до 150 Гр привело к подавлению количества грибов на 50-100% (рис. 6.12д). Средний диаметр колоний грибов был ниже на 7-49% по сравнению со средним диаметром колоний необлученных семян (рис. 6.12е). На семенах льна, облученных в дозах 8—16 Гр, 30—70 Гр и 150 Гр, грибы полностью ингибировались, при этом семена, облученные в дозах 4 Гр, 20 Гр и 100 Гр, имели количество грибов на уровне значений необлученных семян (рис. 6.12ж). При этом диаметр колоний в семенах, облученных в дозе 20 Гр, соответствовал диаметру необлученных семян льна, тогда как облучение в дозах 4 Гр и 100 Гр уменьшало диаметр грибов на 25 и 16 %, соответственно (рис. 6.12з). Малая эффективность подавления фитопатогенов в семенах пшеницы при обработке рентгеновским излучением можно объяснить тем, что изначально семена пшеницы имели максимальные показатели заражения фитопатогенами, поэтому для подавления роста грибов в семенах пшеницы требовались более высокие дозы облучения.

Поскольку результирующая эффективность радиационной обработки для подавления фитопатогенов определяется фактором однородности распределения поглощенной дозы K_1 по объему семян, были рассчитаны распределения поглощенной дозы в водных фантомах в форме эллипсоида для семян пшеницы и льны, и в форме сферы для семян рапса (таблица 6.3). Размер водных фантомов соответствовал размерам семян.

Таблица 6.3 — 3D карты распределения относительной поглощенной дозы, нормированной на максимальное значение дозы в объеме водных фантомов.





* Столбец слева - обработка ускоренными электронами с $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ, столбец справа – обработка рентгеновским излучением с $E_{max}^{рент} = 80$ кэВ.

Анализируя карты распределений поглощенной дозы по объему семян, можно сделать вывод о том, что как при обработке ускоренными электронами, так и при обработке рентгеновским излучением, для семян льна коэффициент K_1 принимает максимальные значения $K_1 = 0,75$ при обработке рентгеновским излучением и $K_1 = 0,87$ при обработке ускоренными электронами. Поскольку максимальная скорость прорастания и подавление зараженности наблюдались у семян льна, то можно сделать вывод о том, что чем выше показатель однородности облучения семян, тем выше эффективность радиационной обработки по отношению к увеличению скорости прорастания семян и улучшению фитосанитарных показателей семян. Обработка рентгеновским излучением оказалась более эффективной по сравнению с обработкой ускоренными электронами, что связано с более высокими значениями ЛПЭ по объему семян льна в случае рентгеновского излучения по сравнению со значениями ЛПЭ для ускоренных электронов. Согласно рисунку 5.30б, значения усредненных по поглощенной энергии в различных слоях объекта из воды толщиной $L_{объекта} = 1$ мм, что соответствует толщине семени льна, составляют от 27 МэВ/см до 39 МэВ/см для рентгеновского излучения и от 2,4 МэВ/см до 2,6 МэВ/см для электронов. Таким образом, значения ЛПЭ в растворе при обработке рентгеновским излучением в среднем в 10 раз выше по сравнению с ускоренными электронами. Таким образом, эффективность обработки определяется фактором однородности распределения поглощенной дозы и распределением значений ЛПЭ по объему обрабатываемых биообъектов.

Для оптимизации радиационной обработки сельскохозяйственных культур необходимо планировать радиационную обработку. При планировании необходимо учитывать глубину залегания целевых мишеней – фитопатогенов, их размеры и размеры и форму биообъекта. Чем выше значения ЛПЭ и однородность распределения поглощенной дозы в области локализации

целевых мишеней в биообъекте, тем выше эффективность радиационной обработки с целью контроля фитосанитарного состояния семян и корнеплодов.

6.3 Эффективность подавления чистых культур фитопатогенов при обработке пучками электронов

Для исследования эффективности радиационной обработки на инактивацию чистых культур фитопатогенов, грибы родов *Fusarium*, *Alternaria*, фитопатогенные грибы *B. sorokiniana*, *R. Solani*, *S. nodorum* (разные штаммы) облучались ускоренными электронами, генерируемыми ускорителем УЭЛР-1-25-Т-001 с максимальной энергией электронов $E_{max}^{эл} = 1$ МэВ [421]. Ток пучка во всех сессиях облучения составлял 500 нА. Мицелиальный мат фитопатогенов в картофельно-декстозном агаре облучали в чашках петри диаметром 37 мм в дозах 100, 1000 и 10000 Гр. Количество чашек петри на одну дозу облучения составило $n=3$.

Поскольку электроны проникали непосредственно в мицелиальный мат фитопатогенов, эффективность их инактивации определяется фактором K_3 , определяющим диапазон доз $D^{крит}$, необходимых для повреждения различных клеток фитопатогена с учетом гетерогенности их радиобиологической чувствительности. Таким образом, зависимость эффективности инактивации фитопатогена от дозы облучения описывается формулой (6.2). На рисунке 6.13 представлены зависимости эффективности подавления грибов *Fusarium*, *Alternaria*, *B. sorokiniana* $\varepsilon^{фито}(D)$ от дозы облучения электронами. Аппроксимация экспериментальных данных, представленных на рисунке 6.13, по формуле (6.2) дана с параметрами: *Fusarium*: $K_1^{Fus} = 1$, $\overline{D^{Fus}} = (1113 \pm 12)$ Гр, $\sigma^{Fus} = (208 \pm 21)$ Гр, $R^2 = 0,99$; *Alternaria*: $K_1^{Alt} = 1$, $\overline{D^{Alt}} = (2554 \pm 412)$ Гр, $\sigma^{Alt} = (573 \pm 109)$ Гр, $R^2 = 0,94$; *B. sorokiniana*: $K_1^{B.S.} = 1$, $\overline{D^{B.S.}} = (1269 \pm 71)$ Гр, $\sigma^{B.S.} = (341 \pm 71)$ Гр, $R^2 = 0,99$. Сравнение параметров аппроксимации по формуле (6.2) выявило, что наибольшей радиоустойчивостью обладает гриб рода *Alternaria*, что необходимо учитывать при планировании радиационной обработки семян сельскохозяйственных культур с целью улучшения их фитосанитарного состояния.

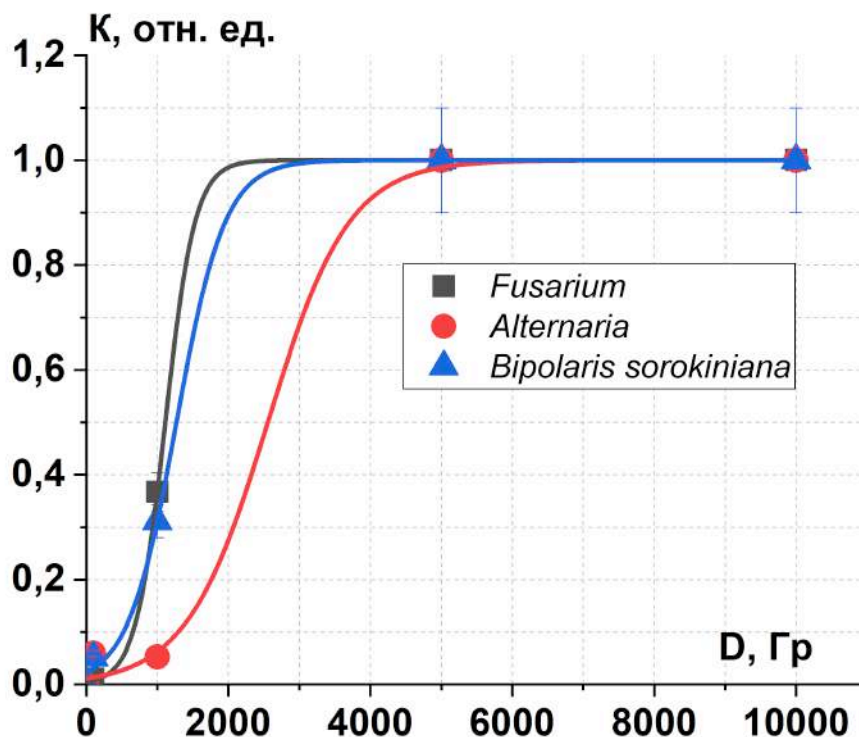


Рисунок 6.13 — Зависимость эффективности подавления чистых культур микопатогенов *Fusarium* (черная кривая), *Alternaria* (красная кривая), *B. Sorokiniana* (синяя кривая) от дозы облучения ускоренными электронами.

Для исследования влияния штамма фитопатогена на эффективность его инактивации излучением на рисунке 6.14 представлены зависимости эффективности подавления двух штаммов Г-4 и К-91 фитопатогена рода *Fusarium* от дозы облучения электронами. Аппроксимация экспериментальных данных, представленных на рисунке 6.13, по формуле (6.2) дана с параметрами: *Fusarium* Г-4: $K_1^{\Gamma-4} = 1$ отн.ед., $\overline{D^{\Gamma-4}} = (1113 \pm 12)$ Гр, $\sigma^{\Gamma-4} = (208 \pm 21)$ Гр, $R^2 = 0.99$; *Fusarium* К-91: $K_1^{K-91} = 1$ отн.ед., $\overline{D^{K-91}} = (1324 \pm 75)$ Гр, $\sigma^{K-91} = (199 \pm 45)$ Гр, $R^2 = 0.97$. Сравнение параметров аппроксимации по формуле (6.2) выявило, что радиоустойчивость фитопатогена зависит не только от его рода, но и от штамма, что также необходимо учитывать при планировании радиационной обработки семян сельскохозяйственных культур.

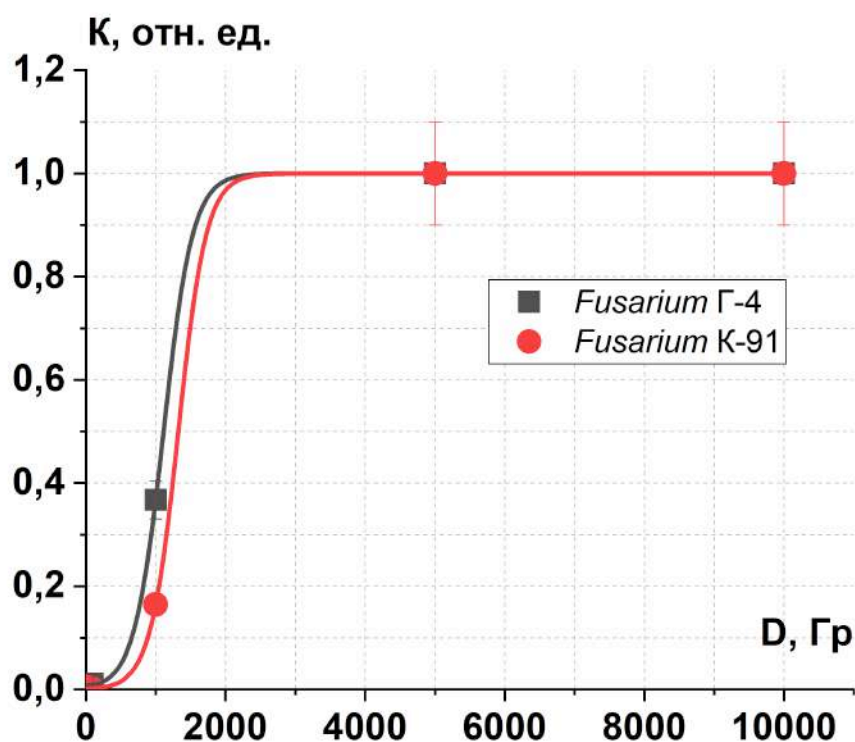


Рисунок 6.14 — Зависимость эффективности подавления чистой культуры фитопатогена *Fusarium*, штамм Г-4 (черная кривая) и штамм К-91 (красная кривая) от дозы облучения ускоренными электронами.

6.4 Оптимизация параметров радиационной обработки сельскохозяйственных культур

Итак, в работе были проведены исследования по установлению оптимального диапазона доз радиационной обработки пучками электронов и рентгеновским излучением клубней семенного картофеля и семян зерновых и масличных культур (пшеница, рапс, соя, лен) с естественным заражением грибковыми болезнями для подавления возбудителей микозов, присутствующих на семенном материале. Выработанный подход направлен на установление диапазона доз, воздействие в котором не оказывает значительного негативного влияния на рост и развитие растений, но при этом оптимизирует фитосанитарное состояние агроценозов, а также повышает качество урожая.

При предпосадочной обработке клубней картофеля сорта Лина, выращенного на базе Сибирского Федерального Научного Центра Агробιοтехнологий РАН, зараженного ризоктониозом, целевыми мишенями радиационной обработки являются микопатогены *R. Solani*, локализованные на поверхности клубней. Наряду с повреждением целевых мишеней, при обработке происходит повреждение нецелевых мишеней, почек, что тормозит развитие растений и снижает урожайность культуры. При выборе источника излучения и его параметров в работе было учтено, что целевые мишени расположены на глубине не более 2–5 мм от поверхности клубней. Облучение проводилось с использованием пучков электронов

с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ с характерной глубиной проникновения не более 5,5 мм (рис. 6.15) и рентгеновским излучением с $E_{\text{макс}} = 80$ кэВ, для которой расстояние, при котором значение дозы, поглощенной поверхностными слоями, уменьшается в e раз, составляет 5,2 мм. Таким образом, обработка пучком и рентгеновским излучением с вышеуказанными максимальными энергиями оптимизирует фитосанитарное состояние клубней, поскольку максимум дозы поглощается слоями, содержащими целевые мишени $L_{\text{цм}}$, т.е. $L_e \approx L_{\text{цм}}$ (рис. 6.15), что отвечает современным рекомендациям МАГАТЭ.

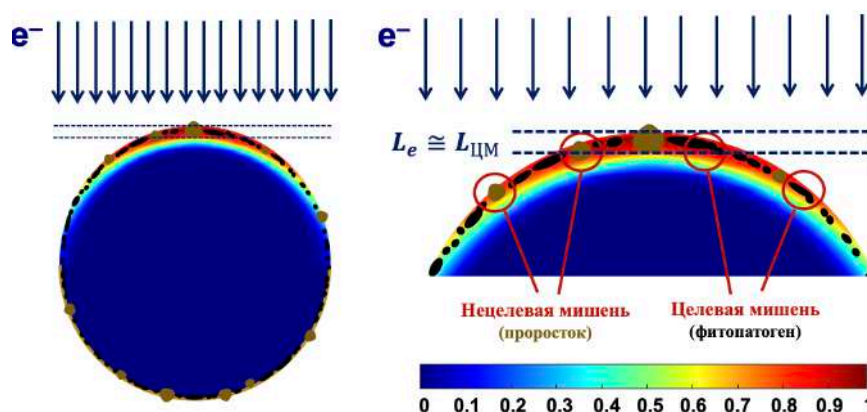


Рисунок 6.15 — Карта распределения (расчет с инструментарием GEANT 4) относительной поглощенной дозы при обработке пучком электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ водной сферы диаметром 4 см. На карте схематично показано расположение почек и фитопатогенов $L_{\text{цм}}$ на поверхности водной сферы, моделирующей клубень картофеля.

Экспериментально установлено, что для сельскохозяйственных культур зависимость эффективности повреждения целевых и нецелевых мишеней от дозы облучения описывается функцией $\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot K_3(D)$ (случай 2, глава 3, п.3.1), так как $K_2 \rightarrow 1$. На рис. 6.16 представлены зависимости эффективности подавления склероциальных форм ризоктониоза $\varepsilon_{\text{цм}}(D)$ на клубнях и снижения урожайности картофеля $\varepsilon_{\text{нцм}}(D)$ от дозы облучения семенного материала пучком электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ. Аппроксимация экспериментальных данных, представленных на рис. 6.16, приведена по формуле (6.2). На рис. 30 представлена функция оптимизации радиационной обработки семенного картофеля $H(D) = \varepsilon_{\text{цм}} \cdot (1 - \varepsilon_{\text{нцм}})$. Установлено, что оптимальный диапазон доз по уровню $0,9H_{\text{макс}}$, при воздействии в котором наблюдается максимальное количество клубней нового урожая, незараженных ризоктониозом, составил 46–67 Гр.

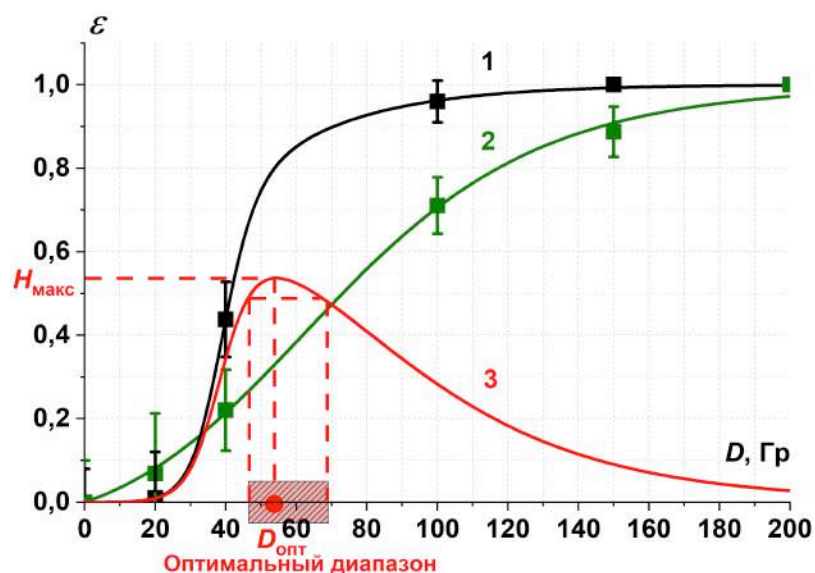


Рисунок 6.16 — Экспериментальные данные (квадраты) и рассчитанные зависимости эффективности снижения распространенности склероциальных форм ризоктониоза $\varepsilon^{\text{см}}(D)$ (кривая 1) и урожайности картофеля $\varepsilon^{\text{нсм}}(D)$ (кривая 2) от дозы облучения пучком электронов. Аппроксимация экспериментальных данных $\varepsilon^{\text{см}}(D)$ и $\varepsilon^{\text{нсм}}(D)$ по формуле (22) выполнена с коэффициентами: ризоктониоз — $K_1 = 1$ отн.ед., $\bar{D} = (38,0 \pm 0,3)$ Гр, $\sigma = (4,6 \pm 0,5)$ Гр, $R^2 = 0,99$; урожайность — $K_1 = 1$ отн.ед., $\bar{D} = (53,0 \pm 0,8)$ Гр, $\sigma = (11,0 \pm 0,7)$ Гр, $R^2 = 0,99$. Зависимость эффективности радиационной обработки $H(D)$ от дозы облучения (кривая 3).

Планирование радиационной обработки сельскохозяйственной продукции заключается в выборе оптимальных характеристик (тип излучения и его энергетический спектр) обработки. При планировании необходимо учитывать глубину залегания целевых мишеней – фитопатогенов, их размеры и размеры и форму биообъекта. При планировании радиационной обработки сельскохозяйственных культур необходимо учитывать влияние фактора неоднородности радиобиологической чувствительности целевых и нецелевых биологических мишеней, т.е. сигмоидальный характер зависимости «доза-эффект». Выбор типа источника и его энергетического спектра зависит от однородности распределения поглощенной дозы в области локализации целевых мишеней в биообъекте и распределения значения ЛПЭ в биообъекте. Таким образом, предложен комплексный подход к возможности планирования радиационной обработки биообъектов на примере продукции животного и растительного происхождения. Это позволяет установить оптимальные характеристики источников излучения для радиационной обработки биообъектов с заданными физико-химическими свойствами. Полученные результаты могут быть положены в основу разработки практических рекомендаций для дальнейшего промышленного использования радиационной обработки охлажденной мясной и рыбной продукции, сельскохозяйственных культур.

Выводы к Главе 6

1. Показано, что использование ускоренных электронов с энергией до 1 МэВ и рентгеновского излучения с энергией до 80 кэВ является оптимальным для радиационной обработки семенного материала сельскохозяйственных культур с целью улучшения фитосанитарных показателей культур.
2. Для выбора оптимального диапазона доз радиационной обработки и сельскохозяйственных культур необходимо установить дозу $D_{\text{опт}}$, при которой функция оптимизации радиационной обработки $H(D)$, определяемая разницей эффективностей повреждения целевых и нецелевых мишеней, максимальна, $H = H_{\text{макс}}$. Границы оптимального диапазона, выбранные по уровню $0,9H_{\text{макс}}$ для семенного картофеля сорта Лина, зараженного ризоктониозом, составили 46–67 Гр.
3. В экспериментальных условиях установлены критерии определения оптимальных диапазонов радиационной обработки клубней картофеля. Полученные результаты могут быть использованы для разработки практических рекомендаций для промышленного использования радиационной обработки различных продуктов питания и сельскохозяйственных культур.
4. Теоретически обосновано и экспериментально доказано, что для радиационной обработки семенного материала сельскохозяйственных культур с целью улучшения фитосанитарных показателей культур оптимальным излучением являются низкоэнергетичные ускоренные электроны и низкоэнергетичное рентгеновское излучение, поскольку характерная глубина проникновения излучения L_e соответствует глубине залегания фитопатогенов $L_{\text{цм}}$ вблизи поверхности семенного материала, т.е. $L_e \approx L_{\text{цм}}$, что отвечает современным рекомендациям МАГАТЭ.

Заключение

В ходе экспериментального исследования выявлены главные факторы, вносящие вклад в результирующую эффективность повреждения целевых (микроорганизмы, грибы, фитопатогены) и нецелевых (белки, липиды) мишеней в биообъектах. Установлено, что эффективность повреждения мишеней в биообъекте определяется равномерностью распределения поглощенной дозы по объему объекта и величиной дозы, при которой повреждается заданная доля мишеней в объекте, долей однородных мишеней, получивших количество повреждений, приводящих к их инактивации, и неоднородностью радиобиологической чувствительности мишеней.

На основании комплекса исследований и разработанных физико-математических моделей в диссертационной работе предложены два подхода к выработке критериев оптимального диапазона доз радиационной обработки биообъектов. Первый подход основан на исследовании динамики изменения концентраций летучих органических соединений после облучения биообъектов. Установлено, что левая граница диапазона определяется содержанием спирта этанола, являющегося показателем развития бактериальных процессов в биообъектах после обработки. Правая граница диапазона определяется уровнем альдегидов, являющихся маркерами окисления липидов и белков.

Второй подход основан на одновременном исследовании эффективности повреждения целевых мишеней, микроорганизмов (левая граница диапазона), и нецелевых мишеней, белков (правая граница диапазона). Предложена функция оптимизации радиационной обработки, максимум которой соответствует дозе, при воздействии в которой максимально повреждаются целевые мишени при условии минимального повреждения нецелевых мишеней.

В работе предложены физико-математические методы повышения равномерности облучения биологических объектов. Даны рекомендации по применению комбинации пластин из алюминия для модификации пучка электронов с целью повышения однородности облучения. Полученные аналитические зависимости однородности облучения объекта с заданными физическими характеристиками от энергии излучения, физико-математические методы повышения однородности облучения могут быть положены в основу разработки системы планирования радиационной обработки биообъектов.

В работе исследована эффективность повреждения излучением мишеней (бактерий, белков, липидов) с учетом гетерогенности радиорезистентности мишеней в биообъектах. Исследована кинетика радиационно-химических превращений летучих органических соединений и структурных изменений белков в биообъектах под воздействием излучения с различными характеристиками. На основании исследований определены биохимические

вещества, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров радиационного воздействия. Разработанные физико-математические модели кинетики изменений концентраций установленных биомаркеров окисления липидов и белков, бактериальной активности, формирующихся в биологическом объекте во время облучения и при хранении, обеспечивают возможность выбора границ оптимального диапазона доз радиационной обработки биологических объектов. Для задачи идентификации факта радиационной обработки биообъектов в работе проведен комплекс исследований с использованием кинетического флуориметрического метода «отпечатков пальцев», который позволил распознать облученные и необлученные биологические объекты в независимости от типа излучения и применяемых доз.

На основании результатов исследования эффективности повреждения целевых и нецелевых мишеней в зависимости от параметров радиационного воздействия установлено, что выбор типа источника и его энергетического спектра определяется многофакторностью процесса взаимодействия излучения и биологического объекта, а именно, распределением поглощенной дозы, линейных потерь энергии, флюенса электронов в биообъекте, характеристиками мишени, состоянием биообъекта что необходимо учитывать при планировании радиационной обработки биологических объектов.

Выводы

1. Эффективность ε радиационной обработки биологических объектов определяется характеристиками излучения и свойствами биологического объекта и является функцией $\varepsilon(D) = F(K_1(D), K_2(D), K_3(D))$, где K_1 — величина, определяемая равномерностью распределения поглощенной дозы по глубине объекта и дозой, необходимой для повреждения биологических мишеней на заданном уровне; величина K_2 определяет долю однородных биомишеней, которые получили заданное количество повреждений; K_3 — коэффициент неоднородности радиочувствительности в статистическом ансамбле биологических мишеней. Экспериментально установлены биомишени в биообъектах, для которых зависимости $\varepsilon(D)$ описываются как $\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot K_2(D)$ при $K_3(D) \rightarrow 1$ (микроорганизмы, белки) и $\varepsilon(D) = K_1(D) \cdot K_3(D)$ при $K_2 \rightarrow 1$ (структуры сельскохозяйственных культур, фитопатогены).
2. Распределение спектральных характеристик пучка, ионизационных потерь и флюенса низкоэнергетических электронов, а также природа, характерные размеры мишени в биологических объектах, их чувствительность к дозе облучения формируют пространственную нелинейность радиобиологического эффекта от дозы.
3. В диапазоне доз 250–800 Гр эффективность воздействия пучка электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ на микроорганизмы в биообъекте с начальным количеством жизнеспособных клеток $(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ КОЕ·г⁻¹ выше по сравнению с воздействием рентгеновского излучения с $E_{\text{макс}} = 26$ кэВ при одной и той же мощности дозы 2 Гр·с⁻¹. Установлено, что в диапазоне доз 600–2000 Гр эффективность воздействия пучка электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ на нативную структуру белка (бычьего сывороточного альбумина) в 0,9% растворе NaCl в концентрации 0,5 мг·мл⁻¹ ниже по сравнению с воздействием рентгеновского излучения с $E_{\text{макс}} = 80$ кэВ при одной и той же мощности дозы 4 Гр·с⁻¹.
4. Разработанная модель позволяет определить время, за которое количество микроорганизмов в биообъекте, обработанном в заданной дозе, достигает заданного уровня. Согласно модели, в необлученном гомогенате форели при начальном количестве жизнеспособных клеток $(6,6 \pm 1,8) \cdot 10^3$ КОЕ·г⁻¹ общее количество жизнеспособных клеток достигает уровня 106 КОЕ·г⁻¹ спустя 5,7 суток хранения при температуре 5 °С, при этом в гомогенате, обработанном в дозах 2800 Гр и 5600 Гр, этот показатель составляет 6,3 и 7,4 суток, соответственно.
5. Увеличение концентрации альдегидов, образованных в результате окисления липидов в гомогенате говяжьей вырезки, в 2–3 раза наблюдается при облучении в дозах от 500 Гр и выше по сравнению с концентрацией альдегидов в необлученных образцах. При этом для альдегидов, образующихся в результате окисления аминокислот, соизмеримое увеличение концентрации наблюдается при облучении в существенно большей дозе, а именно, при 5000 Гр.
6. При облучении стандартного образца спирта гексанола-1 в 0,9% растворе NaCl в концентрации 50 мг·мл⁻¹ пучком электронов с $E_{\text{макс}} = 1$ МэВ в диапазоне доз 200–1200 Гр при мощности дозы 10 Гр·с⁻¹ общая концентрация летучих соединений,

- являющихся продуктами распада гексанола-1, скорость их накопления на единицу поглощенной дозы, а также количество идентифицированных соединений выше по сравнению с облучением при мощности дозы $1 \text{ Гр} \cdot \text{с}^{-1}$.
7. Зависимости концентрации от дозы для альдегидов, образующихся в результате окисления липидов и белков под действием излучения, а также концентрации спирта этанола, как показателя бактериальной активности, являются маркерами эффективности воздействия электронов на целевые и нецелевые биомишени и могут быть положены в основу определения границ оптимального диапазона доз радиационной обработки охлажденной мясной и рыбной продукции.
 8. Спектрофотометрический метод расчета концентрации метмиоглобина в биообъектах с содержанием миоглобина и метод ферментативного гидролиза трипсином нативной структуры белка (бычьего сывороточного альбумина) позволяют количественно оценить степень воздействия электронов и рентгеновского излучения в дозах до 10000 Гр на белки в зависимости от физических параметров излучения (доза, мощность дозы, тип излучения).
 9. Кинетический флуориметрический метод «отпечатков пальцев» может быть использован для различения необлученных и облученных в диапазоне доз $100\text{--}1000 \text{ Гр}$ биообъектов растительного и животного происхождения.
 10. Найдены оптимальные диапазоны радиационной обработки продукции животного и растительного происхождения на основе анализа эффективности повреждения нецелевых и нецелевых мишеней. Для выбора оптимального диапазона доз радиационной обработки продуктов питания и сельскохозяйственных культур необходимо установить дозу $D_{\text{опт}}$, при которой функция оптимизации радиационной обработки $H(D)$, определяемая разницей эффективностей повреждения целевых и нецелевых мишеней, максимальна, $H = H_{\text{макс}}$. Границы оптимального диапазона, выбранные по уровню $0,9H_{\text{макс}}$ составили: для гомогената говядины с учетом окисления миоглобина — $220\text{--}854 \text{ Гр}$; с учетом повреждения нативной структуры белка (бычий сывороточный альбумин) в модельной системе — $204\text{--}755 \text{ Гр}$; для семенного картофеля сорта Лина, зараженного ризоктониозом, диапазон — $46\text{--}67 \text{ Гр}$.
 11. Результаты комплексных экспериментальных исследований позволяют выработать практические рекомендации по оптимизации и планированию радиационной обработки отдельных категорий охлажденной мясной и рыбной продукции, а также сельскохозяйственной продукции.

Список литературы

1. Утверждена новая стратегия научно-технологического развития России. Наука РФ. [Электронный ресурс]. URL: <https://xn--80aa3ak5a.xn--p1ai/news/utverzhdena-novaya-strategiya-nauchno-tekhnologicheskogo-razvitiya-rossii/> (дата обращения: 28.03.2023).
2. Черняев А.П. Радиационные технологии. Наука. Народное хозяйство. Медицина / А.П. Черняев // М: Издательство Московского университета. — 2019. — 231 с.
3. Козьмин Г.В. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Г.В. Козьмин, С.А., Гераськин, Н.И. Санжарова // Обнинск: ВНИИРАЭ. — 2015. — 400 с.
4. Chmielewski A.G. Radiation technologies: The future is today / A.G. Chmielewski // Radiat. Phys. Chem. — 2023. — С. 111233. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2023.111233
5. Innovating Radiation Processing of Food with Low Energy Beams from Machine Sources. International Atomic Energy Agency [Электронный ресурс]. URL: <https://www.iaea.org/projects/crp/d61025> (дата обращения: 25.03.2023).
6. Joint FAO/IAEA Centre of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. International Atomic Energy Agency [Электронный ресурс]. URL: <https://www.fao.org/agriculture/fao-iaea-nuclear-techniques/en> (дата обращения: 15.03.2023).
7. CAC (Codex Alimentarius Commission). Codex General Standard for Irradiated Foods. CODEX STAN 106-1983. — 2003. Rev.1.
8. Momchilova S. Effect of Gamma Irradiation on Fat Content, Fatty Acids, Antioxidants and Oxidative Stability of Almonds, and Electron Paramagnetic Resonance (EPR) Study of Treated Nuts / S. Momchilova et al. //Molecules. — 2023. — Vol. 28. — №. 3. — С. 1439. DOI: 10.3390/molecules28031439
9. Chemat A. Shade of innovative food processing techniques: potential inducing factors of lipid oxidation / A. Chemat et al. // Molecules. — 2023. — Vol. 28. — №. 24. — С. 8138. DOI: 10.3390/molecules28248138
10. Tomac A. Texture, color, lipid oxidation and sensory acceptability of gamma-irradiated marinated anchovy fillets / A. Tomac et al. // Radiat. Phys. Chem. — 2015. — Vol. 106. — С. 337-342.
11. Cheng A. Effect of irradiation and storage time on lipid oxidation of chilled pork / A. Cheng et al. // Radiat. Phys. Chem — 2011. — Vol. 80. — №. 3. — С. 475-480. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2010.10.003
12. Jo Y. Effects of e-beam irradiation on amino acids, fatty acids, and volatiles of smoked duck meat during storage / Y. Jo et al. // Innov. Food Sci. Emerg. Technol. — 2018. — Vol. 47. — С. 101-109. DOI: 10.1016/j.ifset.2017.12.008

13. Dionísio A.P. Ionizing radiation effects on food vitamins: A review / A.P. Dionísio, R.T. Gomes, M. Oetterer // *Braz Arch Biol Technol.* — 2009. — Vol. 52. — C. 1267-1278. DOI: 10.1590/S1516-89132009000500026
14. EN 13783 (2001) Foodstuffs—detection of irradiated food using direct epifluorescent filter technique/aerobic plate count (DEFT/APC). European Committee of Standardization (CEN), Brussels
15. EN 13751 (2009) Foodstuffs—detection of irradiated food using photostimulated luminescence. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
16. EN 14569 (2004) Foodstuffs—microbiological screening for irradiated food using LAL/GNB procedures. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
17. EN 13784 (2001) DNA comet assay for the detection of irradiated foodstuffs. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
18. EN 1788 (2001) Foodstuffs—thermoluminescence detection of irradiated food from which silicate minerals can be isolated. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
19. EN 1787 (2001) Foodstuffs—detection of irradiated food containing cellulose by ESR spectroscopy. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
20. EN 1786 (1996) Foodstuffs—detection of irradiated food containing bone by ESR spectroscopy. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
21. EN 13708 (2001) Foodstuffs—detection of irradiated food containing crystalline sugar by ESR spectroscopy. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
22. EN 1784 (1996) Foodstuffs — Detection of irradiated food containing fat. Gas chromatographic analysis of hydrocarbons. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
23. EN 1785 (2003) Foodstuffs — Detection of irradiated food containing fat. Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of 2- alkylcyclobutanones. European Committee of Standardization (CEN), Brussels
24. Autio T. Identification of irradiated foods by the thermoluminescence of mineral contamination / T. Autio, S. Pinnioja // *Z Lebensm Unters Forsch.* — 1990. — Vol. 191. — №. 3. — C. 177-180.
25. Kazakis N.A., Detection of baby food sterilized with ionizing radiation using thermoluminescence / N.A. Kazakis, C. Betsou // *Eur. Phys. J.: Spec. Top.* — 2023. — Vol. 232. — №. 10. — C. 1531-1542.
26. Chiappinelli A. Identification of X-ray-irradiated hazelnuts by electron spin resonance (ESR) spectroscopy / A. Chiappinelli et al. // *Eur. Food Res. Technol.* — 2019. — Vol. 245. — №. 10. — C. 2323-2329.

27. Khan A.A. Identification of radiation processing of different plant foods of Pakistan origin using the rapid technique of Electron Spin Resonance (ESR) spectrometry / A.A. Khan, M.K. Shahid // Radiat. Phys. Chem. — 2023. — Vol. 204. — C. 110667.
28. Kwon J.H. Evaluation of radiation-induced compounds in irradiated raw or cooked chicken meat during storage / J.H. Kwon et al. // Poult. Sci. — 2011. — Vol. 90. — №. 11. — C. 2578-2583.
29. Zanardi E. New insights to detect irradiated food: an overview / E. Zanardi, A. Caligiani, E. Novelli // Food Anal. Methods. — 2018. — Vol. 11. — C. 224-235.
30. Evans E. Principles of cancer treatment by radiotherapy / E. Evans, J. Staffurth //Surgery (Oxford). — 2018. — T. 36. — №. 3. — C. 111-116. DOI: 10.1016/j.mpsur.2017.12.006
31. Malinowski M. Using X-ray technology to sterilize medical devices / M. Malinowski //American Journal of Biomedical Science & Research. — 2021. — T. 12. — №. 3. — C. 272-6. DOI:10.34297/AJBSR.2021.12.001755
32. Mrázová H. Comparison of structural changes in skin and amnion tissue grafts for transplantation induced by gamma and electron beam irradiation for sterilization / H. Mrázová et al. //Cell and tissue banking. — 2016. — T. 17. — C. 255-260. DOI:10.1007/s10561-015-9536-3
33. IAEA. Development of electron beam and x ray applications for food irradiation. — IAEA, 2022. — P. 372.
34. Clemmons H.E. Electron beam pasteurization and complementary food processing technologies / H.E. Clemmons, E.J. Clemmons, E.J. Brown //Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. — 2015. — C. 11-25. DOI: 10.1533/9781782421085.1.11
35. Shayanfar S. Future trends in electron beam technology for food processing / S. Shayanfar, S.D. Pillai //Electron Beam Pasteurization and Complementary Food Processing Technologies. — Woodhead publishing, 2015. — C. 295-309.DOI: 10.1533/9781782421085.3.295
36. IAEA. Radiation Effects on Polymer Materials Commonly Used in Medical Devices. — IAEA,2021. — P. 170.
37. Abou Elmaaty T. Electron beam irradiation treatment of textiles materials: a review / Elmaaty T. Abou et al. // J. Polym. Res.. — 2022. — T. 29. — №. 4. — C. 117. DOI: 10.1007/s10965-022-02952-4
38. Manaila E. Degradation by Electron beam irradiation of some composites based on natural rubber reinforced with mineral and organic fillers / E. Manaila et al. // Int. J. Mol. Sci. — 2022. — T. 23. — №. 13. — C. 6925. DOI: 10.3390/ijms23136925

39. Wang S. First full-scale application of electron beam technology for treating dyeing wastewater (30,000 m³/d) in China / S. Wang et al. // Radiat. Phys. Chem. — 2022. — Т. 196. — С. 110136. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2022.110136
40. Meeroff D.E. Economics of wastewater/biosolids treatment by electron beam technology / D.E. Meeroff, F. Bloetscher, B. Shaha // Radiat. Phys. Chem. — 2020. — Т. 168. — С. 108541. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2019.108541
41. Ashfaq A. Polymerization reactions and modifications of polymers by ionizing radiation / A. Ashfaq et al. // Polymers. — 2020. — Т. 12. — №. 12. — С. 2877. DOI: 10.3390/polym12122877
42. Афонин П.Н. Обеспечение радиационной безопасности при использовании инспекционно-досмотровых комплексов для проведения таможенного контроля / П.Н. Афонин, А.П. Бех // БИТ. — 2022. — Т. 6. — №. 3 (23). — С. 65-68.
43. Черняев А.П. Ускорители в современном мире / Черняев А.П. // Издательство Московского университета, 2013. — 368 с.
44. Санжарова Н.И. и др. Научные основы применения радиационных технологий 3. в сельском хозяйстве. Обнинск: ВНИИСХРАЭ. 2013. 133 с.
45. IAEA Trends in Radiation Sterilization of Health Care Products — IAEA, 2008.
46. Климанов В.А. Дозиметрия ионизирующих излучений / В.А. Климанов, Е.А. Крамер-Агеев, В.В. Смирнов. — М.: НИЯУ МИФИ, 2015. — 740 с.
47. Черняев А.П. Перспективы развития радиационных технологий в России / А.П. Черняев и др. // Ядерная физика. — 2019. — Т. 82. — №. 5. — С. 425-439.
48. Санжарова Н.И. Радиационные технологии в сельском хозяйстве: стратегия научно-технологического развития / Н.И. Санжарова, Г.В. Козьмин, В.С. Бондаренко // Инноватика и экспертиза. — 2016. — №. 1. — С. 197-206.
49. Shvedunov V.I. Electron accelerators design and construction at Lomonosov Moscow State University / V.I. Shvedunov et al. // Radiat. Phys. Chem. — 2019. — Т. 159. — С. 95-100. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2019.02.044
50. Ауслендер В.Л. и др. Импульсные линейные ускорители электронов серии ИЛУ производства Института ядерной физики им. Будкера / В.Л. Ауслендер и др. // Вестник новосибирского государственного университета. серия: физика. — 2006. — Т. 1. — №. 2. — С. 89-96.
51. Ozer Z.N. Electron beam irradiation processing for industrial and medical applications / Z.N. Ozer // EPJ Web of Conferences. — EDP Sciences, — 2017. — Т. 154. — С. 01019. DOI: 10.1051/epjconf/201715401019

52. Miriam S. Electron Beam Irradiation-An environmenttally safe method of fungal decontamination and food preservation: A review / S. Miriam, P. Unnati // Int. J. of Life Sciences, Special Issue. — 2015. — A5. — C. 7-10.
53. Alimov A.S. Practical application of electron accelerators / A.S. Alimov // Preprint SINP MSU, Moscow. — 2011. — T. 13. — №. 877. — C. 41.
54. Cleland M.R. Industrial applications of electron accelerators. — 2006. DOI:10.5170/CERN-2006-012.383
55. Sun Y., Chmielewski A. G. (ed.). Applications of ionizing radiation in materials processing. — INCT, 2017.
56. Sabharwal S. et al. Electron beam irradiation applications //Proc. 25th North Am Part Accel Conf. — 2013. — C. 745-748.
57. Gong X., Anderson T., Chou K. Review on powder-based electron beam additive manufacturing technology //Manufacturing Review. — 2014. — T. 1. — C. 2.
58. Chaudhary S. et al. Recent advances in additive manufacturing, applications and challenges for dentistry: a review //ACS Biomaterials Science & Engineering. — 2023. — T. 9. — №. 7. — C. 3987-4019. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.2c01561
59. Shahidi S. Effect of Irradiation for Producing the Conductive and Smart Hydrogels //Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels. — Springer, Cham, 2019. — C. 625-653. DOI: 10.1007/978-3-319-77830-3_22
60. Vega-Hernández M. Á. et al. A review on the synthesis, characterization, and modeling of polymer grafting //Processes. — 2021. — T. 9. — №. 2. — C. 375. DOI: 10.3390/pr9020375
61. Hossain K. et al. Irradiation of wastewater with electron beam is a key to sustainable smart/green cities: a review //Applied water science. — 2018. — T. 8. — C. 1-11. DOI: 10.1007/s13201-018-0645-6
62. Emami-Meibodi M. et al. An experimental investigation of wastewater treatment using electron beam irradiation //Radiation Physics and Chemistry. — 2016. — T. 125. — C. 82-87. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2016.03.011
63. Ezzeldien M. et al. Electron beam irradiation-induced changes in the microstructure and optoelectronic properties of nanostructured Co-doped SnO₂ diluted magnetic semiconductor thin film // EPJ Plus. — 2022. — T. 137. — №. 8. — C. 905. DOI: 10.1140/epjp/s13360-022-03079-7
64. Noithong P., Pakkong P., Naemchanthara K. Color change of Spodumene gemstone by Electron beam irradiation //Advanced Materials Research. — 2013. — T. 770. — C. 370-373. DOI: 10.4028/www.scientific.net/amr.770.370

65. Maherani B. World Market Development and Consumer Acceptance of Irradiation Technology / B. Maherani // Foods. — 2016. — Vol. 5. — № 4. — 79. doi: 10.3390/foods5040079.
66. Wholesomeness of Irradiated Food. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. Tech. Report Ser. 659. World Health Organization: Geneva. 1981.
67. FDA U. S. Irradiation in the production, processing, and handling of food, final rule //Fed. Reg. — 2004. — T. 69. — C. 76844-76847.
68. IAEA. Manual of Good Practice in Food Irradiation. Sanitary, Phytosanitary and Other Applications. — IAEA, 2015. — P. 85.
69. Павлов А. Н. и др. Технологический процесс радиационной обработки пищевой продукции и дозиметрическое обеспечение //Радиационная гигиена. — 2020. — Т. 13. — №. 4. — С. 40-50.
70. Singh R., Singh A. Food irradiation: An established food processing technology for food safety and security //Def. Life Sci. J. — 2019. — Т. 4. — №. 4. — С. 206-213. DOI: 10.14429/dlsj.4.14397
71. Ehlermann D. A. E. The early history of food irradiation //Radiation physics and chemistry. — 2016. — Т. 129. — С. 10-12. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2016.08.014
72. ГОСТ ISO 14470-2014 «Радиационная обработка пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и повседневному контролю процесса облучения пищевых продуктов ионизирующим излучением»
73. UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food, 21 CFR 179, US Govt Printing Office, Washington, DC
74. ISO 11137-3-2006 “Sterilization of health care products Radiation Part 3: Guidance on dosimetric aspects”, 2006. — Ed.: ISO.
75. ISO 14470-2011 “Food irradiation — Requirements for the development, validation and routine control of the process of irradiation using ionizing radiation for the treatment of food”, 2011. — Ed.: ISO.
76. Farkas J. Charged particle and photon interactions with matter / Mozumder, A. & Hatano, Y. — Ed: Food Irradiation, Marcel Dekker, New York, 2004. 785–812 p.
77. Mckeown J. Photon energy limits for food irradiation: a feasibility study / J. Mckeown, L. Armstrong, M.R. Cleland, N.H. Drewell, J. Dubeau, C.B. Lawrence, D. Smyth. // Radiation Physics and Chemistry — 1998 — Vol.53. — P. 55-61.
78. Студеникин Ф.Р. Модификация пучка ускоренных электронов для повышения равномерности радиационной обработки облучаемых объектов: специальность 01.04.20 / Студеникин Феликс Рикардович // «Физика пучков заряженных частиц и ускорительная

техника»: диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук — 2022. — Р. 130-141.

79. ISO. ASTM 51649:2015 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for dosimetry in an electron beam facility for radiation processing at energies between 300 keV and 25 MeV”
80. ISO. ASTM 51818:2013 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for dosimetry in an electron beam facility for radiation processing at energies between 80 and 300 keV”
81. Брызгин А.А. Промышленный линейный ускоритель электронов модульного типа ИЛУ 14 / А. А. Брызгин, В. И. Безуглов, Е. Н. Кокин и др. // Приборы и техника эксперимента — 2011 — № 3 — Р. 5–21.
82. Cleland M.R. The IBA Rhodotron: an industrial high-voltage high-powered electron beam accelerator for polymers radiation processing / M.R. Cleland et al. // Ion Beam Applications s.a. (IBA), Chemin du Cyclotron, rue J.E. Lenoir 6, B-1348 Louvainla-Neuve, Belgium Available online — 1999.
83. Черняев А.П. Взаимодействие ионизирующего излучения с веществом / А. П. Черняев, А. В. Белоусов, Е. Н. Лыкова. — Ed: Отдел оперативной печати физического факультета МГУ Москва, 2019
84. Ханкин В.В. Экспериментальное исследование динамики пучков в импульсном линейном ускорителе и разрезном микротроне: специальность 01.04.20 «Физика пучков заряженных частиц и ускорительная техника» / Ханкин Вадим Валерьевич // диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук — 2020. — Р. 119-123.
85. Boyd, R.A. A measured data set for evaluating electron-beam dose algorithms / Boyd, R.A., Hogstrom, K.R., Antolak, J.A. and Shiu, A.S // Med. Phys — 2001—№28 — Р. 950-958.
86. Clemmons H.E. Brown Electron beam processing technology for food processing / H.E. Clemmons, E.J. Clemmons, E.J. // Electron Beam Pasteurization and Complementary Food Processing Technologies — 2014 –Р. 11-25
87. Petwal V. C. Bremsstrahlung converter for high power EB radiation processing facility / Petwal V. C. et al // Radiat. Phys. Chem. — 2007. — Р. 767-769.
88. Natural and induced radioactivity in food. IAEA-TECDOC-1287. Vienna: IAEA. 2002. 136 p.19.
89. Attix F. H. Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry / Attix F. H. // Wiley — 1986

90. Matthias Fippel Experimental investigation of a fast Monte Carlo photon beam dose calculation algorithm / Matthias Fippel et al. // Phys. Med. Biol — 1999.
91. Sonia M. Reda MONTE CARLO DOSE CALCULATIONS FOR BREAST RADIOTHERAPY USING 60Co GAMMA RAYS / Sonia M. Reda , Eman Massoud, Magda S. Hanafy, Ibrahim I. Bashter, Esmat A. Amin. // Journal of Nuclear and Radiation Physics — 2006 — Vol. 1 — No. 1 — P. 61-72
92. Pérez-Calatayud Monte Carlo dosimetric characterization of the Cs-137 selectron/LDR source evaluation of applicator attenuation and superposition approximation effects. / Pérez-Calatayud, J., Granero, D., Ballester, F., Puchades, V., Casal, E. // Med. Phys — 2004 — Vol.31 — P.493-499.
93. Hvizdzak, A. L. Use of Electron Beam Radiation for the Reduction of Salmonella enterica Serovars Typhimurium and Tennessee in Peanut Butter. / Hvizdzak, A. L.; Beamer, S.; Jaczynski, J. & Matak, K. E. // J. Food Protec — 2010— Vol. 73 — №2 — P. 353-357.
94. МАГАТЭ: радиация помогает сохранить свежесть фруктов при перевозке // Ноости ООН: URL: <https://news.un.org/ru/story/2022/11/1435057> (дата обращения: 31.03.2024)
95. ASTM E1026-13: 2015 “American society for testing and materials, Standard practice for using the Fricke reference standard dosimetry system”.
96. ISO ASTM 51205:2017 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Standard practice for use of the ceric-cerous sulphate dosimetry system”.
97. ISO ASTM 51401:2013 “ International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for use of a dichromate dosimetry system”.
98. ISO ASTM 51538:2017 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for use of the ethanol-chlorobenzene dosimetry system”.
99. ISO ASTM Standard 51607:2013 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for use of the alanine-EPR dosimetry system”.
100. ISO ASTM 51276:2012 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Standard practice for use of a polymethylmethacrylate dosimetry system”.
101. ISO/ASTM 51275:2013 "Practice for use of a radiochromic film dosimetry system".
102. ISO ASTM 51631:2013 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for use of calorimetric dosimetry systems for electron beam dose measurements and dosimeter calibrations”.
103. ISO ASTM 51650:2013 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Standard practice for use of cellulose acetate dosimetry systems”.

104. ISO ASTM 51956:2013 “International organization for standardization, American society for testing and materials, Practice for use of a thermoluminescence — dosimetry system (TLD system) for radiation processing.
105. ASTM E2304-03:2011 “American society for testing and materials, Standard practice for use of a LiF photo-fluorescent film dosimetry system”.
106. Тенишев В. П. Радиационно-чувствительные пленочные композиции для измерения поглощенных доз в диапазоне 100-1000 Гр / Тенишев В. П., Емельяненко И. А. // Стандартные образцы — 2019 — № 3 — Р. 33–40
107. Алейкин В. В. Государственный первичный специальный эталон единицы мощности поглощенной дозы интенсивного фотонного, электронного и бета- излучений для радиационных технологий ГЭТ 209-2014 / В. В. Алейкин, В. В. Генералова, А. А. Громов [и др.] // Менделеево, ВНИИФТРИ, Альманах современной метрологии — 2015 — № 5. —Р. 54–74.
108. ГСО 8916–2007: 2023 “Стандартный образец поглощенной дозы утвержденного типа СО ПД(Э)-1/10”.
109. Statement Summarizing the Conclusions and Recommendations from the Opinions on the Safety of Irradiation of Food Adopted by the BIOHAZ and CEF Panels. European Food Safety Authority // EFSA J. 2011. V. 9, No. 4. P. 2107.
110. Исамов Н.Н. Все о мясе. / Исамов Н.Н. и др. // Сборник тезисов докладов XXII межвузовской молодежной научной школы-конференции имени Б. С. Ишханова — 2017 — № 1 — Р. 11–15.
111. Verhaegen F., Seuntjens J. Monte Carlo modelling of external radiotherapy photon beams // Physics in Medicine and Biology. — 2003. — 48(21), — R107–R164. DOI: 10.1088/0031-9155/48/21/r01
112. Соболев И.М. Численные методы Монте-Карло — Ed: Главная редакция физико-математической литературы изд-ва «Наука», 1973.
113. IAEA Radiation Technology Series No. 1. “Use Of Mathematical Modelling In Electron Beam Processing: A Guidebook . International Atomic Energy Agency Vienna” 2010.
114. What is EGSnrc? // GitHub Pages: Websites for you and your projects. URL: <https://nrc-cnrc.github.io/EGSnrc/> (дата обращения 07.03.2024)
115. OECD Nuclear Energy Agency “Penelope : a code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport”, 2001. — Р. 234.
116. The MCNP® Code // MCNP® Website. URL: <https://mcnp.lanl.gov> (дата обращения 07.03.2024)

117. J. Allison Recent Developments in Geant4 / J. Allison et al // Nucl. Instrum — 2016 — P. 186-225.
118. J. Allison Geant4 Developments and Applications / J. Allison et al // IEEE Trans. Nucl. Sci. 53 — 2006— P. 270-278.
119. S. Agostinelli Geant4 — A Simulation / Toolkit, S. Agostinelli et al // Nucl. Instrum. Meth. A 506 — 2003 — P. 250-303.
120. Sarrut D. A review of the use and potential of the GATE Monte Carlo simulation code for radiation therapy and dosimetry applications / D. Sarrut, M. Bardiès, N. Boussion, N. Freud, S. Jan, et al // Medical Physics — 2014 — Vol.41 — P.064301.
121. Gudowska I. Ion beam transport in tissue-like media using the Monte Carlo code SHIELD-HIT / Gudowska I., Sobolevsky N., Andreo P., Belkić D., Brahme A. // Phys Med Biol — 2004.
122. Li Yonggang A parallel Monte Carlo code for efficient simulations of primary radiation displacements and damage in 3D geometry / Li Yonggang et al. // Scientific Reports — 2015.
123. Jaenisch, Gerd-Ruediger & Bellon, Carsten & Samadurau, Uladzimir. McRay -A Monte Carlo Model Coupled to CAD for Radiation Techniques.
124. Giménez-Alventosa PenRed: An extensible and parallel Monte-Carlo framework for radiation transport based on PENELOPE / Giménez-Alventosa, V., Gómez, V., Oliver, S. // Computer Physics Communications — 2010
125. Boehlen T. Overview of the FLUKA code Giuseppe Battistoni / T. Boehlen et al. // Annals of Nuclear Energy — 2015 — Vol.82 — P. 10-18.
126. Sempau J. An algorithm for Monte Carlo simulation of coupled electron-photon transport / Sempau J., Acosta E., Baro J., FernÁLandez-Varea J. M., Salvat F. // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. — 1997 — T. 132, № 3. —P. 377—390.
127. Nelson, W. R. The EGS4 Code System / Nelson, W. R.; Hirayama, H.; Rogers, D. W. O. // Stanford Linear Accelerator Center, Stanford, California — 1985
128. Kawrakow I. Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport GSnrc / Kawrakow I. // Manual — Guides. — 2019. — P. 2001—2019.
129. Rogers D. W. O. BEAMnrc users manual / Rogers D. W. O. et al // Nrc Report Pirs. — 2009. — T. 509. — P. 12.
130. Salvat F PENELOPE-2008: A Code System for Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport / Salvat F., Jose M., Josep S. // OECD- NEA, Report 6416, Issyles-Moulineaux, France — 2009
131. Sempau J. Experimental benchmarks of the Monte Carlo code penelope / Sempau J., FernÁLandez-Varea J. M., Acosta E., Salvat F // Nuclear Instruments and Methods in Physics

Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms — 2003 — T. 207, № 2. — P. 107 — 123.

132. KIM, R.G. MONTE CARLO-BASED FOOD IRRADIATION SIMULATOR J. / KIM, R.G. MOREIRA1, R. RIVADENEIRA and M.E. CASTELL-PEREZ // Department of Biological and Agricultural Engineering Texas A&M University College Station, TX 77843-2117 Accepted for Publication November — 2005
133. Peivaste I. Comparative Study on Absorbed Dose Distribution of Potato and Onion in X-ray and Electron Beam System by MCNPX2.6 Code / Peivaste I., Alahyarizadeh Gh // MAPAN- Journal of Metrology Society of India — 2018.
134. Geant4 // Geant4.Toolkit for the simulation of the passage of particles through matter. URL: <https://geant4.org/> (дата обращения 07.03.2024)
135. Антология разработки средств переноса радиации применительно к эффектам единичных событий / Р.А. Рид и др // IEEE Transactions on Nuclear Science — 2013 — Vol. 60 — P. 1876–1911.
136. Gudowska Irena PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY / Irena Gudowska, Nikolai Sobolevsky, Pedro Andreo, Dževad Belkic and Anders Brahme // Ion beam transport in tissue-like media using the Monte Carlo code SHIELD-HIT — 2004
137. Alum. Microbiological Contamination Of Food: The Mechanisms, Impacts And Prevention / Alum et al. // Int. J. Sci. Technol. Res. — 2016. — Vol. 5. — P. 65-78.
138. Хишов А. С. Микробиологическая контаминация продовольственного сырья и готовой пищевой продукции (аналитический обзор) / А. С. Хишов и др. // Техника и технология пищевых производств. — 2023. — Т. 53. — № 3. — С. 486-503.
139. Brecher M. E. Bacterial Contamination of Blood Components / M. E. Brecher, S. N. Hay // Clin. Microbiol. Rev. — 2005. — Vol. 18. — № 1. — P. 195-204. doi: 10.1128/CMR.18.1.195-204.2005
140. Вяткина О. И. Микробиологическая безопасность компонентов крови и эффективность мер по ее совершенствованию / О. И. Вяткина, М. П. Потапнев, О. В. Красько // Гематология и трансфузиология. — 2020. — Т. 65. — № 3. — С. 251-262.
141. Darouiche R. O. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence / R. O. Darouiche // Clin. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 33. — № 9. — P. 1567–1572. doi: 10.1086/323130
142. Oliva A. Challenges in the Microbiological Diagnosis of Implant-Associated Infections: A Summary of the Current Knowledge / A. Oliva et al. // Front Microbiol. — 2021. — Vol. 12. — 750460. doi: 10.3389/fmicb.2021.750460.

143. Valero A. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity / A. Valero et al. // *Int. J. Food Microbiol.* — 2009. — Vol. 133. — P. 186-194. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023
144. Noor R. Influence of temperature on *Escherichia coli* growth in different culture media / R. Noor et al. // *J. Pure Appl. Microbiol.* — 2013. — Vol. 7. — № 2. — P. 899-904.
145. Medved'ová A. The effect of temperature and water activity on the growth of *Staphylococcus aureus* / A. Medved'ová, L. Valík, A. StudenIčová // *Czech J. Food Sci.* — 2010. — Vol. 27. — № 2. — P. S228-S235. DOI:10.17221/204/2009-CJFS
146. Matejčková Z. Modelling growth of *Lactobacillus plantarum* as a function of temperature: Effects of media / Z. Matejčková et al. // *J. Food Nutr. Res.* — 2019. — Vol. 58. — № 2. — P. 125-134.
147. Xylia P. *Salmonella Enteritidis* survival in different temperatures and nutrient solution pH levels in hydroponically grown lettuce / P. Xylia et al. // *Food Microbiol.* — 2022. — Vol. 102. — 103898. doi: 10.1016/j.fm.2021.103898
148. Rodrigo D. Risk of *Bacillus cereus* in relation to rice and derivatives / D. Rodrigo, C. M. Rosell, A. Martinez // *Foods.* — 2021. — Vol. 10. — № 2. — 302. DOI: 10.3390/foods10020302
149. Wijtes T. Modelling bacterial growth of *Listeria monocytogenes* as a function of water activity, pH and temperature / T. Wijtes et al. // *Int. J. Food Microbiol.* — 1993. — Vol. 18. — № 2. — P. 139-149. DOI: 10.1016/0168-1605(93)90218-6
150. Maier R. M. Bacterial Growth / R.M. Maier, I.L. Pepper // *Environ. Microbiol.* — 2015. — P. 37-56. doi: 10.1016/b978-0-12-394626-3.00003-x
151. Schopf S. Investigations Into the Suitability of Bacterial Suspensions as Biological Indicators for Low-Energy Electron Irradiation / S. Schopf et al. // *Front. Immunol.* — 2022. — Vol. 13. — 814767. doi: 10.3389/fimmu.2022.814767
152. Saber H. The Effect of Radioactive Radiation on Growth Inhibition and Destruction of Food Spoilage Bacteria in Poultry Meat / H. Saber et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* — 2022. — Vol. 92. — № 1. — P. 1-8. DOI:10.1007/s40011-021-01307-1
153. Wu-Wu J. W. F. Antibiotic resistance and food safety: perspectives on new technologies and molecules for microbial control in the food industry / J. W. F. Wu-Wu, W. J. Zamora // *Antibiotics.* — 2023. — Vol. 12. — № 3. — 550. DOI:10.3390/antibiotics12030550
154. Lung H.-M. Microbial decontamination of food by electron beam irradiation / H.-M. Lung et al. // *Trends Food Sci. Technol.* — 2015. — Vol. 44. — № 41 — P. 66-78. doi:10.1016/j.tifs.2015.03.005
155. Begum T. Microbicidal effectiveness of irradiation from Gamma and X-ray sources at different dose rates against the foodborne illness pathogens *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*

- and *Listeria monocytogenes* in rice / T. Begum et al. // LWT. — 2020. — Vol. 132. — № 8 — 109841. DOI:10.1016/j.lwt.2020.109841
156. Szczawinska M. E. Application of Ionizing Radiation for Control of Salmonella in Food / M.E. Szczawinska // Current Topics in Salmonella and Salmonellosis. — 2017. DOI:10.5772/67408
 157. Перцев Н. Математическая модель динамики популяции, развивающейся в условиях воздействия вредных веществ / Н. Перцев, Г. Царегородцева // Сибирский журнал индустриальной математики. — 2010. — Т. 13. — № 1 — С. 109-120.
 158. Aguirre J. S. Effects of electron beam irradiation on the variability in survivor number and duration of lag phase of four food-borne organisms / J.S. Aguirre et al. // Int. J. Food Microbiol. — 2011. — Vol. 149. — № 3. — P. 236-246. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.003
 159. Kovács M. Changes in the behavior of *Staphylococcus aureus* strains in the presence of oxacillin under the effect of gamma radiation / M. Kovács et al. // Environ. Pollut.. — 2024. — Vol. 340. — № 6. — 122843. DOI:10.1016/j.envpol.2023.122843
 160. Ebrahim H. Comparative effect of gamma and electron beam irradiation on some food borne pathogenic bacteria contaminating meat products / H. Ebrahim et al. // Egyptian Journal of Pure and Applied Science. — 2022. — Vol. 60. — № 1 — P. 62-72. DOI:10.21608/ejaps.2022.119119.1021
 161. Blatchley E. R. Inactivation of *Bacillus* Spores by Ultraviolet or Gamma Radiation / E.R. Blatchley, A. Meeusen, A. Aronson // J. Environ. Eng. — 2005. — Vol. 131. — № 9. — P. 1245-1252. DOI:10.1061/(ASCE)0733-9372(2005)131:9(1245)
 162. Кудряшов Ю. Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) / В.К. Мазурика, М.Ф. Ломанова. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004. — 448 с.
 163. Iwanami S. Theory of survival of bacteria exposed to ionizing radiation. I. X and gamma rays / S. Iwanami, N. Oda // Radiat. Res. — 1985. — Vol. 102. — № 1 — P. 46-58.
 164. Aćai P. Modelling and predicting the simultaneous growth of *Escherichia coli* and lactic acid bacteria in milk / P. Aćai et al. // Food Sci. Technol. Int. — 2016. — Vol. 22. — № 6. — P. 475-484. DOI: 10.1177/1082013215622840
 165. Neal J. A. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Baby Spinach, Using Electron Beam Radiation / J.A. Neal et al. // J. Food Prot. — 2008. — Vol. 71. — № 12. — P. 2415-2420. doi:10.4315/0362-028x-71.12.2415
 166. Mintier A. M. Electron Beam and Gamma Irradiation Effectively Reduce *Listeria monocytogenes* Populations on Chopped Romaine Lettuce / A. M. Mintier, D. M. Foley // J. Food Prot. — 2006. — Vol. 69. — № 3. — P. 570-574. doi:10.4315/0362-028x-69.3.570

167. Bouzarjomehri F. The effect of electron-beam irradiation on microbiological properties and sensory characteristics of sausages / F. Bouzarjomehri et al. // *Radiat. Phys. Chem.* — 2019. — Vol. 168. — 108524. doi:10.1016/j.radphyschem.2019.10
168. Wells-Bennik M. H. J. Bacterial Spores in Food: Survival, Emergence, and Outgrowth / M. H. J. Wells-Bennik et al. // *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* — 2016. — Vol. 7. — № 1 — P. 457-482. DOI:10.1146/annurev-food-041715-033144
169. Prakash B. Biofilms: a survival strategy of bacteria / B. Prakash, B. M. Veeregowda, G. Krishnappa // *Curr. Sci.* — 2003. — Vol. 85. — № 9 — P. 1299-1307.
170. Yang D. C. Staying in Shape: the Impact of Cell Shape on Bacterial Survival in Diverse Environments / D.C. Yang, R.M. Blair, N.R. Salama // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* — 2016. — Vol. 80. — № 1 — P. 187-203. doi: 10.1128/MMBR.00031-15
171. Prayoga Windra. The Risk of Radio-Resistance Development in Wild-Type Salmonella enterica serotype Typhimurium Isolated from Chicken Carcass Towards Gamma Irradiation Treatment, Magelang, Indonesia / W. Prayoga, D. Raharjo, R. Yulistiani // *The 1st International Conference on Agricultural, Nutraceutical, and Food Science (ICANFS)*. — 2023. — Vol. 1.
172. ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции // *ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕГЛАМЕНТ ТАМОЖЕННОГО СОЮЗА*. — 2011. — № 880
173. Mayer-Miebach E. Inactivation of a non-pathogenic strain of E. coli by ionising radiation / E. Mayer-Miebach et al. // *Food Control.* — 2005. — Vol. 16. — P. 701-705.
174. Hing J. N. Gamma Radiation Dose-Response of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria / J. N. Hing et al. // *Malays. Appl. Biol.* — 2022. — Vol. 51. — № 5. — P. 107-112. DOI:10.55230/mabjournal.v51i5.2370
175. Dileep S. Y. Irradiation in food processing: A Review / S.Y. Dileep, K. Manasa // *J. pharmacogn. phytochem.* — 2018. — P. 905-912.
176. Farkas J. Irradiation as a method for decontaminating food. A review / J. Farkas // *Int. J. Food Microbiol.* — 1998. — Vol. 44. — № 3. — P. 189-204. doi:10.1016/s0168-1605(98)00132-9
177. Rajkowski K. T. Effect of Gamma or Beta Radiation on Salmonella DT 104 in Ground Pork / K. T. Rajkowski, S. E. Niebuhr, J. Dickson // *J. Food Prot.* — 2006. — Vol. 69. — № 6 — 1430-3. DOI:10.4315/0362-028X-69.6.1430
178. Jeong S. G. Inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, and Listeria monocytogenes in ready-to-bake cookie dough by gamma and electron beam irradiation / S.G. Jeong, D.H. Kang // *Food Microbiol.* — 2017. — Vol. 64. — P. 172-178. doi: 10.1016/j.fm.2016.12.017

179. Joshua A. O. An overview of irradiation as a food preservation technique / A. O. Joshua // *Novel Research in Microbiology Journal*. — 2020. — Vol. 4. — № 3. — P. 779-789. DOI:10.21608/nrmj.2020.95321
180. Zhang H. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in edible bird's nest by low-energy X-ray irradiation / H. Zhang et al. // *Food Control*. — 2019. — Vol. 110. — № 3 — 107031. DOI:10.1016/j.foodcont.2019.107031
181. Silva N. Microbiological Examination Methods of Food and Water / N. Silva, M.H. Taniwaki, V.C.A. Junqueira, N. Silveira, M.M. Okazaki, R.A.R. Gomes. — UK.: CRC Press, 2018. — 564 p.
182. Леонова Л.В. Анализ влияния флуоксетина и дулоксетина на нормальную микробиоту кишечника / Л.В. Леонова и др. // *Современная терапия психических расстройств*. — 2021. — № 3. — С. 24-30. DOI: 10.21265/PSYPH.2021.24.61.002
183. Mitishev A. Nephelometric Method for Determination of Growth Parameters of *Chlorella* Culture / A. Mitishev et al. // *KnE Engineering*. — 2018. — P. 206-212. DOI: 10.18502/keg.v3i6.2994
184. Bright C. E. Predicting suspended sediment concentration from nephelometric turbidity in organic-rich waters / C.E. Bright, S.M. Mager, S.L. Horton // *River Research and Applications*. — 2018. — Vol. 34. — № 9. DOI:10.1002/rra.3305
185. Mutlaq S. Conductometric Immunosensor for *Escherichia coli* O157:H7 Detection Based on Polyaniline/Zinc Oxide (PANI/ZnO) Nanocomposite / S. Mutlaq et al. // *Polymers*. — 2021. — Vol. 13. — № 19. — 3288. DOI:10.3390/polym13193288
186. Lim J.-S. Growth temperature influences the resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on lettuce to X-ray irradiation / J.-S. Lim, J.-W. Ha // *Food Microbiol*. — 2021. — Vol. 99. — № 7. — 103825. DOI:10.1016/j.fm.2021.103825
187. Derakhshan Z. et al. Survey on the effects of electron beam irradiation on chemical quality and sensory properties on quail meat // *Food Chem. Toxicol*. — 2018. — Vol. 112. — C. 416-420. doi: 10.1016/j.fct.2017.12.015.
188. Xiong Y. L., Guo A. Animal and plant protein oxidation: Chemical and functional property significance // *Foods*. — 2020. — Vol. 10. — № 1. — C. 40.. doi: 10.3390/foods10010040
189. Abd El H. A. H. M. et al. Lipid peroxidation end-products as a key of oxidative stress: effect of antioxidant on their production and transfer of free radicals // *Lipid peroxidation*. — IntechOpen, 2012.
190. Domínguez R. et al. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products // *Antioxidants*. — 2019. — Vol. 8. — № 10. — C. 429. DOI: 10.3390/antiox8100429

192. Jo Y. et al. Effects of e-beam irradiation on amino acids, fatty acids, and volatiles of smoked duck meat during storage //Innov. Food Sci. Emerg. Technol. — 2018. — Vol. 47. — C. 101-109. DOI: 10.1016/j.ifset.2017.12.008
193. Cieřła K., Roos Y., Głuszeński W. Denaturation processes in gamma irradiated proteins studied by differential scanning calorimetry //Radiat. Phys. Chem. — 2000. — Vol. 58. — №. 3. — C. 233-243.
194. Li Z. et al. Effects of irradiation treatment on protein structure and digestion characteristics of seed-watermelon (*Citrullus lanatus* var.) kernel protein //Food Sci. Biotechnol— 2020. — Vol. 29. — C. 1201-1211.
195. del Mastro N. L. Radiation influence on edible materials //Radiation Effects in Materials. — IntechOpen, 2016.
196. Liu T. et al. Modifications of structure and physicochemical properties of maize starch by γ -irradiation treatments //LWT — Food Sci. — 2012. — Vol. 46. — №. 1. — C. 156-163. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.10.012
197. Hu B. J. et al. Effects of electron-beam irradiation on physicochemical properties of starches separated from stored wheat //Starch/Staerke. — 2011. — Vol. 63. — №. 3. — C. 121-127. DOI: 10.1002/star.201000052
198. Chung H. J., Liu Q. Molecular structure and physicochemical properties of potato and bean starches as affected by gamma-irradiation //Int. J. Biol. Macromol — 2010. — Vol. 47. — №. 2. — C. 214-222. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2010.04.019
199. Taofiq O. et al. UV-irradiated mushrooms as a source of vitamin D2: A review //Trends Food Sci. Technol. — 2017. — Vol. 70. — C. 82-94. doi: 10.1016/j.tifs.2017.10.008
200. Acheson D., Louria D. B. Food irradiation: unresolved issues //Clin. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 33. — №. 3. — C. 378-380. doi: 10.1086/321907.
201. Indiarito R., Rezaharsanto B. The physical, chemical, and microbiological properties of peanuts during storage: A review //Int. J. Sci. Technol. Res. — 2020. — Vol. 9. — №. 3. — P. 1909-1913.
202. Kim Y.H., Nam K.C., Ahn D.U. Color, Oxidation-Reduction Potential, and Gas Production of Irradiated Meats from Different Animal Species. J. Food Sci. —2002. —67. — P. 1692–1695. doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb08707.x
203. Brewer M. S. Irradiation effects on meat flavor: A review //Meat Sci. — 2009. — Vol. 81. — №. 1. — C. 1-14. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.02.007
204. Nusairat B., Tellez-Isaias G., Qudsieh R. An overview of poultry meat quality and myopathies. — IntechOpen, 2022. doi: 10.1016/S0309-1740(99)00164-3

205. Ramamoorthi L., Toshkov S., Brewer M. S. EFFECTS OF IRRADIATION ON COLOR AND SENSORY CHARACTERISTICS OF CARBON MONOXIDE-MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGED BEEF //J. Food Process. Preserv.. — 2011. — T. 35. — №. 5. — C. 701-707. doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00520.x
206. Xiao S. et al. Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation, and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage //Poult. Sci.. — 2011. — Vol. 90. — №. 6. — C. 1348-1357. doi: 10.3382/ps.2010- 01244
207. Brugnini G. et al. Effect of UV-C irradiation and lactic acid application on the inactivation of *Listeria monocytogenes* and lactic acid bacteria in vacuum-packaged beef //Foods. — 2021. — Vol. 10. — №. 6. — C. 1217. doi: 10.3390/foods100 61217
208. Feng X. et al. Impact of electron-beam irradiation on the quality characteristics of raw ground beef //Innov. Food Sci. Emerg. Technol. — 2019. — Vol. 54. — C. 87-92. doi: 10.1016/j.ifset.201 9.03.010
209. Chouliara E. et al. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes //Eur. Food Res. Technol. — 2008. — Vol. 226. — C. 877-888. doi: 10.1007/s00217- 007-0610-3
210. Zhang M. et al. Effects of gamma ray irradiation-induced protein hydrolysis and oxidation on tenderness change of fresh pork during storage //Meat Sci. — 2020. — Vol. 163. — C. 108058. doi:10.1016/j.meatsci.2020.108058
211. Maqsood S. et al. Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness //J. Food Sci. Technol.— 2018. — T. 55. — C. 3427-3438. doi: 10.1007/s13197-018-3251-6
212. Khalid W. et al. Dynamic alterations in protein, sensory, chemical, and oxidative properties occurring in meat during thermal and non-thermal processing techniques: A comprehensive review //Front. Nutr. — 2023. — Vol. 9. — C. 1057457. doi: 10.3389/fnut.2022.1057457
213. Zhao L. et al. Effect of irradiation on quality of vacuum-packed spicy beef chops //J. Food Qual. — 2017. — Vol. 2017. doi: 10.1155/2017/1054523
214. Chiesa L. M. et al. Lipidomics profile of irradiated ground meat to support food safety //Food Chem.. — 2022. — Vol. 375. — C. 131700. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131700
215. Rodrigues L. M. et al. Combined effects of gamma irradiation and aging on tenderness and quality of beef from Nellore cattle //Food Chem. — 2020. — Vol. 313. — C. 126137. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.126137
216. Suwattitanun W., Wattanachant S. Effect of various temperature and storage time during process on physical quality and water-holding capacity of broiler breast meat //KKU Respository J. — 2014. — Vol. 19. — C. 628-635

217. Ahn D. U., Kim I. S., Lee E. J. Irradiation and additive combinations on the pathogen reduction and quality of poultry meat //Poult. Sci. — 2013. — Vol. 92. — №. 2. — C. 534-545. doi: 10.3382/ps.2012-02722
218. Starowicz M., Poznar K. K., Zieliński H. What are the main sensory attributes that determine the acceptance of meat alternatives? //CCurr. Opin. Food Sci. — 2022. — Vol. 48. — C. 100924. doi: 10.1016/j.cofs.2022.100924
219. Castell-Perez M. E., Moreira R. G. Irradiation and consumers acceptance //Innov. Food Process. Technol. — 2021. — C. 122. doi: 10.1016/b978-0-12-815781-7.00015-9
220. Huang X. et al. Effect of gamma irradiation treatment on microstructure, water mobility, flavor, sensory and quality properties of smoked chicken breast //Food Chem. — 2023. — Vol. 421. — C. 136174. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.136174
221. Mancinelli A. C. et al. Fatty acid profile, oxidative status, and content of volatile organic compounds in raw and cooked meat of different chicken strains //Poult. Sci.. — 2021. — Vol. 100. — №. 2. — C. 1273-1282.
222. Benali T. et al. GC–MS analysis, antioxidant and antimicrobial activities of *Achillea odorata* subsp. *pectinata* and *Ruta montana* essential oils and their potential use as food preservatives //Foods. — 2020. — Vol. 9. — №. 5. — C. 668. DOI: 10.3390/foods9050668
223. Harlina P. W. et al. Possibilities of liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS)-based metabolomics and lipidomics in the authentication of meat products: a mini review //Food Sci. Anim. Resour. — 2022. — Vol. 42. — №. 5. — C. 744. doi: 10.5851/kosfa.2022.e37
224. Song B. S. et al. Identification of red pepper powder irradiated with different types of radiation using luminescence methods: A comparative study //Food Chem. — 2016. — Vol. 200. — C. 293-300. . DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.050
225. Jo Y. et al. Calibrated photostimulated luminescence is an effective approach to identify irradiated orange during storage //Radiat. Phys. Chem. — 2015. — Vol. 111. — C. 81-86. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2015.02.024
226. Timakova R. T. et al. EPR spectroscopy of spices //Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. — 2016. — №. 4. — C. 187-193. DOI: 10.20914/2310-1202-2016-4-187-193
227. Drouza C., Spanou S., Keramidas A. D. EPR methods applied on food analysis //Topics From EPR Research. — 2018. — C. 45-64. DOI: 10.5772/intechopen.79844
228. Aleksieva K. I., Yordanov N. D. Various approaches in EPR identification of gamma-irradiated plant foodstuffs: A review //Food Res. Int. — 2018. — Vol. 105. — C. 1019-1028. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.11.072

229. Rababah T. et al. Thiobarbituric acid reactive substances and volatile compounds in chicken breast meat infused with plant extracts and subjected to electron beam irradiation //Poult. Sci. — 2006. — Vol. 85. — №. 6. — C. 1107-1113. DOI: 0.1093/ps/85.6.1107
230. Silva A. C. O. et al. Effect of gamma radiation on lipids by the TBARS and NMR //Braz Arch Biol Technol — 2011. — Vol. 54. — C. 1343-1348. DOI: 10.1590/s1516-89132011000600021
231. Jin Y. et al. Effect of structure changes on hydrolysis degree, moisture state, and thermal denaturation of egg white protein treated by electron beam irradiation //Lwt. — 2017. — Vol. 77. — C. 134-141. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.11.025
232. Bashir K. et al. Physico-chemical and functional properties of gamma irradiated whole wheat flour and starch //LWT — Food Sci. Technol. — 2017. — Vol. 76. — C. 131-139. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.10.050
233. Indiarito R., Irawan A. N., Subroto E. Meat irradiation: A comprehensive review of its impact on food quality and safety //Foods. — 2023. — Vol. 12. — №. 9. — C. 1845.
234. Feng X. et al. Effects of electron beam irradiation treatment on the structural and functional properties of okara insoluble dietary fiber //J Sci Food Agric. — 2023. — Vol. 103. — №. 1. — C. 195-204.
235. Commission Decision (EC) (2002) No 657 of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Off J Eur Commun 221:8–36.
236. Ahn J. J. et al. Improved electron spin resonance spectroscopy with different sample treatments to identify irradiated sprout seeds //Food Anal. Methods. — 2014. — Vol. 7. — C. 1874-1880.
237. Yordanov N. D., Aleksieva K., Mansour I. Improvement of the EPR detection of irradiated dry plants using microwave saturation and thermal treatment //Radiat Phys Chem. — 2005. — Vol. 73. — №. 1. — C. 55-60.
238. Sanyal B., Chawla S. P., Sharma A. An improved method to identify irradiated rice by EPR spectroscopy and thermoluminescence measurements //Food Chem. — 2009. — Vol. 116. — №. 2. — C. 526-534.
239. Horvatovich P. et al. Determination of 2-alkylcyclobutanones with electronic impact and chemical ionization gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) in irradiated foods //J Agric Food Chem. — 2006. — Vol. 54. — №. 6. — C. 1990-1996. DOI: 10.1021/jf0524426
240. Crews C., Driffield M., Thomas C. Analysis of 2-alkylcyclobutanones for detection of food irradiation: Current status, needs and prospects //J Food Compos Anal. — 2012. — Vol. 26. — №. 1-2. — C. 1-11. DOI: 10.1016/j.jfca.2011.11.006

241. Ye Y. et al. Liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of 2-alkylcyclobutanones in irradiated chicken by precolumn derivatization with hydroxylamine //DOI: 10.1021/jf401446n
242. Breidbach A., Ulberth F. Comparative evaluation of methods for the detection of 2-alkylcyclobutanones as indicators for irradiation treatment of cashew nuts and nutmeg // Food Chem. — 2016. — T. 201. — C. 52-58. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.032
243. Caja M. M., Del Castillo M. L. R., Blanch G. P. Solid phase microextraction as a methodology in the detection of irradiation markers in ground beef //Food Chem. — 2008. — Vol. 110. — №. 2. — C. 531-537. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.024
244. Blanch G. P. et al. Identification of 2-dodecylcyclobutanone and linear-alkanes as irradiation markers in sliced dry-cured ham //Food Chem. — 2009. — Vol. 113. — №. 2. — C. 616-620. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.07.046
245. Soncin S. et al. Improved determination of 2-dodecylcyclobutanone in irradiated ground beef patties by gas-chromatography–mass-spectrometry (GC/MS) coupled with solid-phase microextraction (SPME) technique //Food Chem. — 2012. — Vol. 134. — №. 1. — C. 440-444. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.089
246. Driffield M, Speck D, Lloyd AS, Parmar Driffield M. et al. Methods of analysis for 2-dodecylcyclobutanone and studies to support its role as a unique marker of food irradiation //Food Chem. — 2014. — Vol. 146. — C. 308-313. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.046
247. Chauhan S. K. et al. Detection methods for irradiated foods //Compr Rev Food Sci Food Saf. — 2009. — Vol. 8. — №. 1. — C. 4-16. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2008.00063.x
248. Chen S. et al. Identification of irradiated meats by determining o-and m-tyrosine as markers //Meat Sci. — 2013. — Vol. 93. — №. 2. — C. 226-232. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.08.022
249. Panseri S. et al. Irradiated ground beef patties: Dose and dose-age estimation by volatile compounds measurement //Food Control . — 2015. — Vol. 50. — C. 521-529. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.09.044
250. Ordoudi S. A. et al. ¹H NMR-based metabolomics of saffron reveals markers for its quality deterioration //Food Res Int. — 2015. — Vol. 70. — C. 1-6. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.01.021
251. Pierna J. A. F. et al. NIR fingerprint screening for early control of non-conformity at feed mills //Food Chem. — 2015. — Vol. 189. — C. 2-12. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.105
252. Kamal M., Karoui R. Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review //Trends Food Sci Technol. — 2015. — Vol. 46. — №. 1. — C. 27-48. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.07.007

253. Cozzolino D. Near infrared spectroscopy in natural products analysis // *Planta Med.* — 2009. — Vol. 75. — №. 07. — С. 746-756. DOI: 10.1055/s-0028-1112220
254. Karoui R., Downey G., Blecker C. Mid-infrared spectroscopy coupled with chemometrics: a tool for the analysis of intact food systems and the exploration of their molecular structure–quality relationships– a review // *Chem Rev.* — 2010. — Vol. 110. — №. 10. — С. 6144-6168. DOI: 10.1021/cr100090k
255. Худайберенов К., Иламанова Х., Акмухаммедова Я. РОЛЬ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В РАЗВИТИИ ЭКОНОМИКИ // *Вестник науки.* 2023. №4 (61).
256. FAO The State of Food Security and Nutrition in the World / FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. — IT: FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2023. — 316 p.
257. Дериглазова Г.М. Влияние природных и антропогенных факторов на урожай и качество зерна ярового ячменя // *Земледелие.* 2012. №6.
258. Abeydeera L., Mesthrige J. W., Samarasinghalage T. I. Global research on carbon emissions: a scientometric review. *Sustainability*, 11, 3972. — 2019.
259. Rodgers K. B. et al. Ubiquity of human-induced changes in climate variability // *Earth System Dynamics.* — 2021. — Т. 12. — №. 4. — С. 1393-1411.
260. Corwin D. L. Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas // *European Journal of Soil Science.* — 2021. — Т. 72. — №. 2. — С. 842-862.
261. Skendžić S. et al. The impact of climate change on agricultural insect pests // *Insects.* — 2021. — Т. 12. — №. 5. — С. 440.
262. Nikolaou G. et al. Implementing sustainable irrigation in water-scarce regions under the impact of climate change // *Agronomy.* — 2020. — Т. 10. — №. 8. — С. 1120.
263. Nnadi N. E., Carter D. A. Climate change and the emergence of fungal pathogens // *PLoS Pathogens.* — 2021. — Т. 17. — №. 4. — С. e1009503.
264. Осолодкова Е. В. РОЛЬ ПОГОДЫ В ДИНАМИКЕ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ // *Матрица научного познания.* — 2021. — №. 2-2. — С. 20-22.
265. Назаров П. А. и др. Инфекционные болезни растений: этиология, современное состояние, проблемы и перспективы защиты растений // *Acta Naturae* (русскоязычная версия). — 2020. — Т. 12. — №. 3 (46). — С. 46-59.
266. Дорохов А. С., Старостин И. А., Ещин А. В. Перспективы развития методов и технических средств защиты сельскохозяйственных растений // *Агроинженерия.* — 2021. — №. 1 (101). — С. 26-35.
267. Kim S. H. et al. Biological effects of three types of ionizing radiation on creeping bentgrass // *International Journal of Radiation Biology.* — 2019. — Т. 95. — №. 9. — С. 1295-1300.

268. Datta S. K. Introduction/Review //Induced Mutation Breeding. — Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. — С. 1-73.
269. Venugopalan V. P., Suprasanna P. Use of radiation in food and agriculture //CURRENT SCIENCE. — 2022. — Т. 123. — №. 3. — С. 370.
270. Majeed A. et al. Gamma irradiation i: effect on germination and general growth characteristics of plants—a review //Pakistan Journal of Botany. — 2018. — Т. 50. — №. 6. — С. 2449-2453.
271. Rajjou L. et al. Seed germination and vigor //Annual review of plant biology. — 2012. — Т. 63. — С. 507-533.
272. Klupczyńska E. A., Pawłowski T. A. Regulation of seed dormancy and germination mechanisms in a changing environment //International journal of molecular sciences. — 2021. — Т. 22. — №. 3. — С. 1357.
273. Смирнов А. Н. и др. Пораженность семян зерновых культур и клубней картофеля грибными болезнями //Владимирский земледелец. — 2015. — №. 2 (72). — С. 24-27.
274. Чиж Т. В., Есаулова О. В. Применение радиационных технологий для продления сроков хранения и реализации растительной продукции //Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: научные основы и перспективы практического применения. — 2023. — С. 124-142.
275. Консаго В. Ф. Рост и урожайность растений сои сорта Касатка при разных сроках посева //Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения АН Костякова, г. Москва, 6. — 2022. — С. 198.
276. Rezk A. A. et al. X-ray irradiation changes germination and biochemical analysis of two genotypes of okra (*Hibiscus esculentus* L.) //Journal of Radiation Research and Applied Sciences. — 2019. — Т. 12. — №. 1. — С. 393-402.
277. De Micco V. et al. Leaf anatomy and photochemical behaviour of *Solanum lycopersicum* L. plants from seeds irradiated with low-LET ionising radiation //The Scientific World Journal. — 2014. — Т. 2014.
278. Dada K. E. et al. Radiosensitivity and biological effects of gamma and X-rays on germination and seedling vigour of three *Coffea arabica* varieties //Journal of Plant Growth Regulation. — 2023. — Т. 42. — №. 3. — С. 1582-1591.
279. Geras' kin S. et al. Using ionizing radiation for improving the development and yield of agricultural crops //Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change. — Wallingford UK : CABI, 2021. — С. 424-432.
280. Qi W. et al. ROS and ABA signaling are involved in the growth stimulation induced by low-dose gamma irradiation in *Arabidopsis* seedling //Applied biochemistry and biotechnology. — 2015. — Т. 175. — С. 1490-1506.

281. Maity J. P. et al. Modulation of some quantitative and qualitative characteristics in rice (*Oryza sativa* L.) and mung (*Phaseolus mungo* L.) by ionizing radiation //Radiation Physics and Chemistry. — 2005. — T. 74. — №. 5. — C. 391-394.
282. Minasbekyan L. A., Avagyan I. A. The Effects of Ionizing Radiation on the Radiation Sensitivity of Cell Nuclei of Wheat Seedlings //Biophysics. — 2023. — T. 68. — №. 3. — C. 443-450.
283. Doroshkevich S. Y. et al. Presowing treatment of spring wheat seeds by a pulsed electron beam in the atmosphere //High Energy Chemistry. — 2021. — T. 55. — C. 329-335.
284. Waskow A. et al. Low-energy electron beam has severe impact on seedling development compared to cold atmospheric pressure plasma //Scientific Reports. — 2021. — T. 11. — №. 1. — C. 16373.
285. Loy N. N. et al. Influence of electronic irradiation on the affection of barley by root rot //Journal of Physics: Conference Series. — IOP Publishing, 2019. — T. 1393. — №. 1. — C. 012107.
286. Mohamed E. A. et al. Impact of gamma irradiation pretreatment on biochemical and molecular responses of potato growing under salt stress //Chemical and Biological Technologies in Agriculture. — 2021. — T. 8. — C. 1-11.
287. Oprica L. et al. Impact of proton beam irradiation on the growth and biochemical indexes of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings grown under salt stress //Plants. — 2020. — T. 9. — №. 9. — C. 1234.
288. Kumar V. et al. Use of proton beam as a novel tool for mutations in rice //Barc Newslett. — 2018. — T. 366. — C. 5-9.
289. Kim S. K. et al. Effect of proton beam irradiation on germination, seedling growth, and pasting properties of starch in rice //Journal of Crop Science and Biotechnology. — 2012. — T. 15. — C. 305-310.
290. Wang L. et al. Antioxidant response of *Arabidopsis thaliana* seedlings to oxidative stress induced by carbon ion beams irradiation //Journal of environmental radioactivity. — 2018. — T. 195. — C. 1-8.
291. Wang L. et al. Role of carbon ion beams irradiation in mitigating cold stress in *Arabidopsis thaliana* //Ecotoxicology and Environmental Safety. — 2018. — T. 162. — C. 341-347.
292. Ling A. P. K. et al. Morphological and biochemical responses of *Oryza sativa* L.(cultivar MR219) to ion beam irradiation //Journal of Zhejiang University Science B. — 2013. — T. 14. — C. 1132-1143.
293. Wang S. Y. et al. The research on growthtraits of alfalfa irradiated by $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beam //Advanced Materials Research. — 2012. — T. 524. — C. 2156-2159.

294. Семынина Т. В. Особенности инфицирования семян зерновых культур патогенами //Защита и карантин растений. — 2012. — №. 2. — С. 20-23.
295. Golob P. Crop post-harvest: science and technology. — 2002.
296. Wang M. et al. Living strategy of cold-adapted fungi with the reference to several representative species //Mycology. — 2017. — T. 8. — №. 3. — С. 178-188.
297. Tribelli P. M., López N. I. Reporting key features in cold-adapted bacteria //Life. — 2018. — T. 8. — №. 1. — С. 8.
298. Коршунов Б. П., Коршунов А. Б. Аккумуляция холода: резерв повышения энергоэффективности охлаждения и хранения сельскохозяйственной продукции //Вестник ВИЭСХ. — 2018. — №. 1. — С. 38-44.
299. Barba F. J. et al. Mild processing applied to the inactivation of the main foodborne bacterial pathogens: A review //Trends in Food Science & Technology. — 2017. — T. 66. — С. 20-35.
300. Hernández-Hernández H. M., Moreno-Vilet L., Villanueva-Rodríguez S. J. Current status of emerging food processing technologies in Latin America: Novel non-thermal processing //Innovative Food Science & Emerging Technologies. — 2019. — T. 58. — С. 102233.
301. Prakash A. What is the benefit of irradiation compared to other methods of food preservation? //Genetically modified and irradiated food. — Academic Press, 2020. — С. 217-231.
302. Kopacki M. et al. Physical crop postharvest storage and protection methods //Agronomy. — 2021. — T. 11. — №. 1. — С. 93.
303. Bisht B. et al. Food irradiation: Effect of ionizing and non-ionizing radiations on preservation of fruits and vegetables—a review //Trends in Food Science & Technology. — 2021. — T. 114. — С. 372-385.
304. Indiarto R. et al. Food irradiation technology: A review of the uses and their capabilities //International Journal of Engineering Trends and Technology. — 2020. — T. 68. — №. 12. — С. 91-98.
305. Пшеченков К.А., Зейрук В.Н. Мальцев С.В. Период покоя клубней и определяющие его факторы // Защита и карантин растений. 2007. № 8. С. 54-55.
306. Yoon Y. S. et al. Effects of X-ray irradiation on the postharvest quality characteristics of 'Machyang'strawberry (Fragaria× ananassa) //Food chemistry. — 2020. — T. 325. — С. 126817.
307. Jeon M. J., Ha J. W. Synergistic bactericidal effect and mechanism of X-ray irradiation and citric acid combination against food-borne pathogens on spinach leaves //Food microbiology. — 2020. — T. 91. — С. 103543

308. Zhao B. et al. Inhibitory effect of gamma irradiation on *Penicillium digitatum* and its application in the preservation of Ponkan fruit // *Scientia Horticulturae*. — 2020. — T. 272. — С. 109598.
309. Iseberlinova A. A. et al. The pulsed X-ray treatment of wheat against pathogenic fungi // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. — 2021. — T. 503. — С. 75-78.
310. Чиж Т. В. и др. Влияние гамма-излучения на продолжительность хранения и показатели качества картофеля // *Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы*. — 2018. — С. 238-242.
311. Sharma P. et al. Effect of γ -radiation on post-harvest storage life and quality of onion bulb under ambient condition // *Journal of Food Science and Technology*. — 2020. — T. 57. — С. 2534-2544.
312. Wang C. et al. Influence of γ -irradiation on the reactive-oxygen metabolism of blueberry fruit during cold storage // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. — 2017. — T. 41. — С. 397-403.
313. Ahmed M. M. et al. Effect of gamma radiation on storability and functional properties of sorghum grains (*Sorghum bicolor* L.) // *Food Science & Nutrition*. — 2018. — T. 6. — №. 7. — С. 1933-1939.
314. Etemadinasab H. et al. Effects of electron beam irradiation on physicochemical, nutritional properties and storage life of five potato cultivars // *Radiation Physics and Chemistry*. — 2020. — T. 177. — С. 109093.
315. Nam H. A., Ramakrishnan S. R., Kwon J. H. Effects of electron-beam irradiation on the quality characteristics of mandarin oranges (*Citrus unshiu* (Swingle) Marcov) during storage // *Food Chemistry*. — 2019. — T. 286. — С. 338-345.
316. Truc N. T. et al. Effect of electron beam radiation on disease resistance and quality of harvested mangoes // *Radiation Physics and Chemistry*. — 2021. — T. 180. — С. 109289.
317. Kang J. H. et al. Effects of electron beam and ultraviolet-C irradiation on quality and microbial populations of leafy vegetables during storage // *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. — 2013. — T. 56. — С. 301-307.
318. Adolf B. et al. Fungal, oomycete, and plasmodiophorid diseases of potato // *The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind*. — Cham : Springer International Publishing, 2020. — С. 307-350.
319. Tiwari R. K. et al. Potato dry rot disease: current status, pathogenomics and management // *3 Biotech*. — 2020. — T. 10. — С. 1-18.

320. Różewicz M., Wyzińska M., Grabiński J. The most important fungal diseases of cereals— Problems and possible solutions //Agronomy. — 2021. — T. 11. — №. 4. — C. 714.
321. Gupta S. K., Thind T. S. Disease problems in vegetable production. — Scientific Publishers, 2018.
322. Usall J. et al. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables //Postharvest Biology and Technology. — 2016. — T. 122. — C. 30-40.
323. Singh D., Sharma R. R. Postharvest diseases of fruits and vegetables and their management //Postharvest disinfection of fruits and vegetables. — Academic Press, 2018. — C. 1-52.
324. Al-Abdalall A. H. A. Inhibitory effect of gamma radiation in degrading and preventing fungal toxins //J. Food Agric. Environ. — 2014. — T. 12. — C. 77-81.
325. Braghini R. et al. Effects of gamma radiation on the growth of *Alternaria alternata* and on the production of alternariol and alternariol monomethyl ether in sunflower seeds //Food microbiology. — 2009. — T. 26. — №. 8. — C. 927-931.
326. Jeong R. D. et al. Effects of ionizing radiation on postharvest fungal pathogens //The plant pathology journal. — 2015. — T. 31. — №. 2. — C. 176.
327. Maity, Jyoti Prakash, et al. "Effects of gamma radiation on fungi infected rice (in vitro)." International Journal of Radiation Biology 87.11 (2011): 1097-1102.
328. Jeong R. D. et al. Inhibitory effect of gamma irradiation and its application for control of postharvest green mold decay of Satsuma mandarins //International journal of food microbiology. — 2016. — T. 234. — C. 1-8.
329. Исемберлинова А. А. и др. ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ГРИБНЫЕ ИНФЕКЦИИ В СЕМЕНАХ ПШЕНИЦЫ //Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии. — 2019. — С. 268-270.
330. Frink S. et al. Use of X-ray irradiation for inactivation of *Aspergillus* in cannabis flower //Plos one. — 2022. — T. 17. — №. 11. — C. e0277649.
331. Mansur A. R., Yu C. C., Oh D. H. Efficiency of gamma irradiation to inactivate growth and fumonisin production of *Fusarium moniliforme* on corn grains //Journal of Microbiology and Biotechnology. — 2014. — T. 24. — №. 2. — C. 209-216.
332. Kim, Kyoung-Hee, et al. "Inactivation of contaminated fungi and antioxidant effects of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv Dangeumdo) by 0.5–2 kGy gamma irradiation." Radiation Physics and Chemistry 79.4 (2010): 495-501.
333. Bhat, Rajeev, K. R. Sridhar, and A. A. Karim. "Microbial quality evaluation and effective decontamination of nutraceutically valued lotus seeds by electron beams and gamma irradiation." Radiation Physics and Chemistry 79.9 (2010): 976-981.

334. Nemțanu M. R. et al. Inactivation effect of electron beam irradiation on fungal load of naturally contaminated maize seeds //Journal of the Science of Food and Agriculture. — 2014. — Т. 94. — №. 13. — С. 2668-2673.
335. Ярмоненко С. П. Основные физические параметры взаимодействия ионизирующих излучений с биологическими объектами //Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2010. — Т. 55. — №. 2. — С. 71-76.
336. Потороко И. Ю., Калинина И. В., Руськина А. А. Научные подходы в обеспечении качества и безопасности плодов и овощей в процессе хранения. Мировой опыт. Часть 1 //Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. — 2017. — Т. 5. — №. 1. — С. 14-18.
337. Ускоритель электронов непрерывного действия // ЦКП УНО Ускорительный комплекс МГУ : официальный сайт. — Москва. [Электронный ресурс] — URL: <http://beam.sinp.msu.ru/Ускоритель-электронов-непрерывного> (дата обращения: 30.03.2024)
338. Bliznyuk U. Effect of electron and X-ray irradiation on microbiological and chemical parameters of chilled turkey / U. Bliznyuk et al // Sci. Rep. — 2022. — Vol. 12. — № 1. — С. 750. DOI: doi.org/10.1038/s41598-021-04733-3
339. Fricke H and Hart E 1955 Chemical Dosimetry. In Radiation Dosimetry vol. 2 F.H. Attix and W.C. Roesch (ed.) (Academic Press, New York)
340. Schreiner L.J. Review of Fricke gel dosimeters / L.J. Schreiner // Journal of Physics: Conference Series. — 2004. — Vol. 3. — P. 9-21.
341. Экспериментальные методы химии высоких энергий: Учебное пособие /Под общ.ред. М.В. Мельникова. — М.:Изд-во МГУ, 2009. — 824 с.
342. Крот В.И. Химические методы дозиметрии. Ферросульфатный метод дозиметрии (дозиметр Фрикке) / В.И. Крот и др. — БГУ (Минск), 2011 — 33с.
343. Фадейкина О.В. Аттестация стандартного образца мутности бактериальных взвесей / О.В. Фадейкина //Эталоны. Стандартные образцы. — 2014. — №. 2. — С. 41-47.
344. “Микробиологическая чистота,” XII Государственная фармакопея РФ, ч. 1.32, 42-0067-07. 2007. Retrieved from: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/>
345. ISO 17025:2019; PS15 Guide to Method Validation for Quantitative Analysis in Chemical Testing Laboratories. ISO: Geneva, Switzerland, 2019.
346. Kozlova E. Atomic Force Microscopy and High-Resolution Spectrophotometry for Study of Anoxemia and Normoxemia in Model Experiment In Vitro / E. Kozlova et al // Int. J. Mol. Sci. — 2023. — Vol. 24. — №. 13. — С. 11043. DOI: 10.1016/S0305-0491(97)00230-7

347. Kozlova E. The toxic influence of excess free iron on red blood cells in the biophysical experiment: an in vitro study / E. Kozlova et al. // J. Toxicol. — 2022. — Vol. 2022. DOI: 10.1155/2022/7113958
348. Zijlstra W.G. Spectrophotometry of hemoglobin: absorption spectra of bovine oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin / W.G. Zijlstra, A. Buursma // Comp. Biochem. Physiol. — B Biochem. Mol. Biol. — 1997. — Vol. 118. — №. 4. — C. 743-749. DOI: 10.1016/S0305-0491(97)00230-7
349. Francis G. Albumin and mammalian cell culture: implications for biotechnology applications // Cytotechnology. 2010. Vol. 62. № 1. P. 1-16. DOI: 10.1007/s10616-010-9263-3.
350. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. Harper's Illustrated Biochemistry. — 26th edition. — The McGraw-Hill Companies, Inc. 2003. 693 p.
351. Huang B.X., Kim H.Y., Dass C. Probing three-dimensional structure of bovine serum albumin by chemical cross-linking and mass spectrometry // J. Am. Soc. Mass Spectr. 2004. Vol. 15. № 8. P. 1237-1247. DOI: 10.1016/j.jasms.2004.05.004.
352. Life science solutions. Lumiprobe [Электронный ресурс]. URL: <https://www.lumiprobe.com/> (дата обращения: 30.03.2024).
353. Stepanova I.A. Recognition and determination of sulfonamides by Near-IR fluorimetry using their effect on the rate of the catalytic oxidation of a carbocyanine dye by hydrogen peroxide / I.A. Stepanova et al // J. Anal. Chem. — 2021. — Vol. 76. — C. 1399-1407.
354. Shik A.V. Carbocyanine-based fluorescent and colorimetric sensor array for the discrimination of medicinal compounds / A.V. Shik et al // Chemosensors. — 2022. — Vol. 10. — №. 2. — C. 88. Doi: 10.3390/chemosensors10020088
355. Doroshenko I.A. Synthesis of modified conformationally fixed tricarbocyanine dyes for conjugation with therapeutic agents / I.A. Doroshenko et al // Mendelev Commun. — 2021. — Vol. 31. — №. 5. — C. 615-617. DOI: 10.1016/j.mencom.2021.09.008
356. Zakharenkova S.A. Aggregation-based fluorescence amplification strategy: "Turn-on" sensing of aminoglycosides using near-IR carbocyanine dyes and pre-micellar surfactants / S.A. Zakharenkova et al // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. — 2021. — Vol. 247. — C. 119109. DOI: 10.1016/j.saa.2020.119109
357. Strekowski L. Water-soluble pH-sensitive 2, 6-bis (substituted ethylidene)-cyclohexanone/hydroxy cyanine dyes that absorb in the visible/near-infrared regions / L. Strekowski et al // J. Heterocycl. Chem. — 2004. — Vol. 41. — №. 2. — C. 227-232. DOI: 10.1002/jhet.5570410213

358. Близнюк, У.А. Распределение биологического эффекта при распространении пучка электронов в суспензии эритроцитов / У.А. Близнюк, П.Ю. Борщеговская, А.П. Черняев // Альманах клинической медицины. — 2008. — № 17-1. — С. 121-124.
359. Близнюк, У.А. Потенциальные повреждения мембран эритроцитов при действии больших доз ионизирующего излучения / У.А. Близнюк, П.Ю. Алексеева, А.М. Черныш, А.П. Козлов, А.П. Черняев // Альманах клинической медицины. — 2006. — № 12. — С. 85-85.
360. Козлова, Е.К. Особенности комбинированного действия пучка ускоренных электронов и импульсного электрического поля на биологические клетки / Е.К. Козлова, А.П. Черняев, В.И. Шведун, А.М. Черныш, У.А. Близнюк, А.С. Шаркшанэ // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2004. — Т. 5, № 6. — С. 65-74.
361. Близнюк, У.А. Исследование глубинного распределения радиационного эффекта при прохождении пучка ускоренных электронов в суспензии эритроцитов с помощью метода электропорации / У.А. Близнюк, Е.К. Козлова, Л.И. Деев и др. // Медицинская физика. — 2007. — Т. 34, № 2. — С. 67-70.
362. Козлов, А.П. Измерение параметров электрического поля в суспензии эритроцитов человека при электропорации мембран / А.П. Козлов, В.М. Елагина, У.А. Близнюк, Е.К. Козлова, А.М. Черныш, А.П. Черняев // Медицинская физика. — 2006. — Т. 30, № 2. — С. 56-59.
363. Козлова, Е.К. Действие пучка ускоренных электронов на динамику электропорации биологических мембран / Е.К. Козлова, А.П. Черняев, А.М. Черныш, В.И. Шведун, У.А. Близнюк, А.С. Шаркшанэ, А.Н. Ермаков // Медицинская физика. — 2003. — Т. 7, № 1. — С. 50-56.
364. Близнюк, У.А. Характеристики дозовых распределений электронных пучков, используемых при радиационной обработке пищевой продукции / У.А. Близнюк и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2021. — Т. 85, № 10. — С. 1418-1422.
365. Красавин Е.А. Мутагенное действие излучений с разной ЛПЭ / Е.А. Красавин, С. Козубек. — М: Энергоатомиздат. — 1991. — 182 с.
366. Белоусов А.В. Вклад вторичных частиц в глубинное распределение поглощенной дозы при облучении фотонами / А.В. Белоусов, Г.А. Крусанов, А.П. Черняев // Ученые записки физического факультета Московского Университета. — 2018. — № 5, — С. 1850801-1-1850801-6.

367. Moroz V.V. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: Atomic force microscope research / V.V. Moroz et al. // *Journal of Critical Care*. — 2010. — Vol. 25, № 3. — P. 539.e1–539.e12.
368. Черныш, А.М. Поверхность мембран эритроцитов при калиброванной электропорации: исследование методом атомной силовой микроскопии / А.М. Черныш и др. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2009. — Т. 148, № 9. — С. 347-352.
369. Мороз, В.В. Атомная силовая микроскопия структуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и реинфузии / В.В. Мороз и др. // *Общая реаниматология*. — 2009. — Т. 5, № 5. — С. 5-9.
370. Мороз, В.В. Воздействие анестезирующих препаратов на мембрану эритроцитов в цельной крови и в суспензии / В.В. Мороз и др. // *Общая реаниматология*. — 2007. — Т. 3, № 5-6. — С. 28-33.
371. Козлова Е.К. Модель кинетики гемолиза эритроцитов при действии пучка электронов и импульсного электрического поля / Е.К. Козлова и др. // *Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия*. — 2004. — Т. 59, № 2. — С. 19-22.
372. Studenikin F.R. Electron beam modification for improving dose uniformity in irradiated objects / F.R. Studenikin et al. // *European Physical Journal: Special Topics*. — 2023. — Vol. 232, № 10. — P. 1631-1635.
373. Близнюк У.А. Расчет спектра пучка электронов после прохождения алюминиевых пластин / У.А. Близнюк и др. // *Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия*. — 2022. — № 4. — С. 1-6.
374. Студеникин Ф.Р. Влияние алюминиевых пластин-модификаторов пучка на однородность распределения поглощенной дозы по глубине объекта при обработке ускоренными электронами / Ф.Р. Студеникин и др. // *Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия*. — 2022. — № 1. — С. 3-9.
375. Золотов С.А. Комбинация алюминиевых пластин различной толщины для повышения однородности радиационной обработки ускоренными электронами / С.А. Золотов и др. // *Письма в журнал Физика элементарных частиц и атомного ядра*. — 2023. — Т. 20, № 4. — С. 1069-1075.
376. DEMETRA by IRT (свидетельство о регистрации прав на ПО, базу данных). Авторы: Черняев Александр Петрович, Ханкин Вадим Валерьевич, Близнюк Ульяна Александровна, Золотов Сергей Александрович, Студеникин Феликс Рикардович. Номер: 2023669934. Дата получения: 22 сентября 2023 г.
377. Dose Preview by IRT (свидетельство о регистрации прав на ПО, базу данных). Авторы: Черняев Александр Петрович, Ханкин Вадим Валерьевич, Близнюк Ульяна

Александровна, Золотов Сергей Александрович, Студеникин Феликс Рикардович.
Номер: 2023669628. Дата получения: 18 сентября 2023 г.

378. Близнюк У.А. Восстановление спектров промышленных ускорителей электронов по глубинным дозовым распределениям / У.А. Близнюк и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2022. — Т. 86, № 4. — С. 601-608.
379. Близнюк У.А. Оценка точности реконструкции бихроматических спектров пучков электронов по глубинным дозовым распределениям / У.А. Близнюк и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2021. — Т. 85, № 10. — С. 1430-1435.
380. Близнюк У.А. Востановление глубинных распределений поглощенной дозы при прохождении пучков электронов через вещество / У.А. Близнюк и др. // Физика элементарных частиц и атомного ядра. — 2023. — Т. 54, № 4. — С. 728-737.
381. Lowe, D. et al. Radiation dose rate effects: what is new and what is needed?. Radiat Environ Biophys 61, 507–543 (2022). DOI: 10.1007/s00411-022-00996-0
382. Черняев, А.П. Применение низкоэнергетических электронов для антимикробной обработки мяса птицы / А.П. Черняев и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2020. — Т. 84, № 11. — С. 1617-1622.
383. Близнюк, У.А. Определение микробиологических и химических показателей мясной продукции после обработки электронным излучением / У.А. Близнюк и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. — 2021. — Т. 87, № 6. — С. 5-13.
384. Близнюк, У. А. Инновационные подходы к развитию радиационных технологий обработки биообъектов / У.А. Близнюк и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2018. — Т. 82, № 6. — С. 824-828.
385. Черняев, А.П. Применение низкоэнергетических электронов для радиационной обработки охлажденной форели / А.П. Черняев и др. // Письма в журнал Физика элементарных частиц и атомного ядра. — 2020. — Т. 17, № 4. — С. 681-687.
386. Черняев, А.П. Исследование эффективности радиационной обработки форели электронным и рентгеновским излучениями / А.П. Черняев и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2020. — Т. 84, № 4. — С. 501-507.
387. A. Abraham et al., “Microbiological quality of chicken sold in Accra and determination of D 10-value of E.coli,” Food and Nutrition Sci., vol. 3, pp. 693-698, 2012. DOI:10.4236/fns.2012.35094
388. C. Sommers et al., “Inactivation of uropathogenic Escherichia coli in ground chicken meat using high pressure processing and gamma radiation, and in purge and chicken meat surfaces by ultraviolet light,” Front. Microbiol., vol. 7, 2012.

389. A. Xu et al., “Inactivation of extraintestinal pathogenic E. coli clinical and food isolates suspended in ground chicken meat by gamma radiation,” *Food Microbiology*, vol. 84, 2019.
390. O. Chirinos et al., “Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers by gamma irradiation,” *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 33, pp. 53-56, 2002.
391. N. Aziz et al., “Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-irradiation,” *J. of Food Safety*, vol. 24, pp. 109-127, 2004.
392. Черняев А.П. Моделирование воздействия ускоренных электронов на микробиологические показатели рыбы после проведения радиационной обработки / А.П. Черняев и др. // Ученые записки физического факультета Московского Университета. 2020. № 2. С. 2020401.
393. Черняев А.П. ОБРАБОТКА ЭЛЕКТРОНАМИ С ЭНЕРГИЕЙ 1 МЭВ ОХЛАЖДЕННОЙ ФОРЕЛИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЕЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ / А.П. Черняев и др. // Ядерная физика и инжиниринг. 2018. Т. 9. № 1. С. 89-93.
394. Антонов В.Ф. Физика и биофизика: учебник / В.Ф. Антонов, Е.К. Козлова, А.М. Черныш. — 2-е изд., испр. и доп. — М: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 472 с.
395. Soladoye, O. et al. Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2015, 14(2), 106–122. DOI: 10.1111/1541-4337.12127
396. Huang, X.; Ahn, D. Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food Science Biotechnology*. 2019, 28, 1275–1285. DOI: 10.1007/s10068-019-00631-7
397. Bliznyuk, U.A. Volatile compound markers in beef irradiated with accelerated electrons / U.A. Bliznyuk et al. // *Molecules*. — 2024. — Vol. 29, № 5. — P. 940.
398. Bliznyuk, U.A. Research into gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) for ensuring the effect of 1 MeV-accelerated electrons on volatile organic compounds in turkey meat / U.A. Bliznyuk et al. // *Separations*. — 2022. — Vol. 8, № 8. — P. 227.
399. Близнюк, У.А. Воздействие ускоренных электронов на летучие органические соединения в мясе птицы и в рыбе / У.А. Близнюк и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. — 2023. — Т. 89, № 1. — С. 11-19.
400. Близнюк, У.А. Мониторинг концентрации альдегидов в мясе курицы в течение периода хранения после радиационной обработки ускоренными электронами / У.А. Близнюк и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. — 2022. — Т. 88, № 10. — С. 13-19.
401. Resconi V. et al. Gas chromatographic-olfactometric aroma profile and quantitative analysis of volatile carbonyls of grilled beef from different finishing feed systems. *Journal of Food Science* 2012, 77(6), S240–S246. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02720.x

402. Lee, D. et al. Effect of Different Aging Methods on the Formation of Aroma Volatiles in Beef Strip Loins. *Foods* 2021, 10, 146. DOI: 10.3390/foods10010146
403. Chen, Q. et al. Flavour formation from hydrolysis of pork sarcoplasmic protein extract by a unique LAB culture isolated from Harbin dry sausage. *Meat Science* 2015, 100, 110–117. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.10.001
404. Montanari, C. et al. Effects of the diameter on physico-chemical, microbiological and volatile profile in dry fermented sausages produced with two different starter cultures. *Food Bioscience* 2018, 22, 9–18. DOI: 10.1016/j.fbio.2017.12.013
405. Legako, J. et al. Retail stability of three beef muscles from grass-, legume-, and feedlot-finished cattle. *Journal of animal science* 2018, 96(6), 2238–2248. DOI: 10.1093/jas/sky125
406. Tangerman, A. Measurement and biological significance of the volatile sulfur compounds hydrogen sulfide, methanethiol and dimethyl sulfide in various biological matrices. *Journal of Chromatography* 2009, 877(28), 3366–3377. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.05.026
407. Kim, Y.; Nam, K.; Ahn, D. Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Science* 2002, 61(3), 257–265. DOI: 10.1016/s0309-1740(01)00191-7
408. Bliznyuk, U.A. Hemoglobin derivatives in beef irradiated with accelerated electrons / U.A. Bliznyuk et al. // *Molecules*. — 2023. — Vol. 28, № 15. — P. 5773.
409. Brown, J. L. et al. (2018). Potential role for *Streptococcus gordonii* -derived hydrogen peroxide in heme acquisition by *Porphyromonas gingivalis*. *Molecular Oral Microbiology*, 33(4), 322–335. doi:10.1111/omi.12229
410. Браун, А.В. Исследование влияния ускоренных электронов на структурные характеристики бычьего сывороточного альбумина с использованием жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения / А.В. Браун и др. // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. — 2023. — Т. 89, № 3. — С. 14-24.
411. Estimation, N. & Patonay, G.A. New Method for the Synthesis of Heptamethine Cyanine Dyes: Synthesis of New Near-Infrared Fluorescent Labels. *J. Org. Chem.* 60, 2391–2395. DOI: 10.1021/jo00113a018 (1995).
412. Shik, A.V. Estimation of doses absorbed by potato tubers under electron beam or x-ray irradiation using an optical fingerprinting strategy / A.V. Shik et al. // *Food Chemistry*. — 2023. — Vol. 414. — P. 135668.
413. Shik, A.V. Rapid testing of irradiation dose in beef and potatoes by reaction-based optical sensing technique / A.V. Shik et al. // *Journal of Food Composition and Analysis*. — 2024. — Vol. 127. — P. 105946.

414. Алимов, А.С. Применение пучков ускоренных электронов для радиационной обработки продуктов питания и биоматериалов / А.С. Алимов и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2017. — Т. 81, № 6. — С. 819-823.
415. Chulikova, N.S. Electron beam irradiation to control rhizoctonia solani in potato / N.S. Chulikova et al. // AGRICULTURE. — 2023. — Vol. 13, № 6. — P. 1221.
416. Чуликова, Н.С. Радиационная обработка семенного картофеля как метод подавления различных форм ризоктониоза на клубнях нового урожая / Н.С. Чуликова и др. // Агрохимия. — 2023. — № 2. — С. 69-78.
417. Чуликова, Н.С. Влияние пучка ускоренных электронов с энергией 1 МэВ на рост и микрофлору картофеля / Н.С. Чуликова и др. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. — 2022. — Т. 86, № 12. — С. 1817-1825.
418. Авдюхина, В.М. Исследование воздействия рентгеновского излучения на концентрацию восстанавливающих сахаров в картофеле и на его прорастание / В.М. Авдюхина и др. // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия. — 2018. — № 3. — С. 99-103.
419. Bliznyuk U.A. Germination and phytosanitary state of flax and wheat seeds after electron beam irradiation / U A Bliznyuk et al. // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2023. Vol. 1229. C. 012033. DOI: 10.1088/1755-1315/1229/1/012033
420. Bliznyuk U. Effects of X-Ray irradiation on germination and phytosanitary condition of cereal and oilseed crops / U. Bliznyuk et al. // E3S Web Conf.. 2023. Vol. 420. C. 01013 DOI: 10.1051/e3sconf/202342001013
421. Близнюк, У.А. Влияние ионизирующего излучения на рост фитопатогена *r. Solani* / У.А. Близнюк и др. // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия. — 2021. — Т. 3, № 1. — С. 45-49.
422. Приложение
423. ISO/ASTM 51261:2013. Practice for calibration of routine dosimetry systems for radiation processing
424. ГОСТ 34155-2017. Руководство по дозиметрии при исследовании влияния радиации на пищевые и сельскохозяйственные продукты
425. De Dios L. J., Giménez A., Cespón C. A new method for dosimetry standardization using ¹³⁷Cs biological irradiator based on Fricke solution // Sens Actuators B Chem— 2017. — Vol. 253. — С. 784-793.
426. Sayed M. et al. Acid fuchsin dosimeter: A potential dosimeter for food irradiation dosimetry //J. Food Meas. Charact — 2019. — Vol. 13. — С. 707-715.

427. Li H. L. et al. Effects of cobalt-sourced γ -irradiation on the meat quality and storage stability of crayfishes (*Procambarus clarkii*) // Food. Sci. Technol. — 2023. — Vol. 43. — C. e104222.
428. Mihaljević B., Knežević Ž., ZAGREB C. Recent radiation research and technology development in Croatia //International Conference on Applications of Radiation Science and Technology (1; 2017). — 2017. — C. 175-175.
429. Lopes F. A. et al. A versatile radiochromic dosimeter for low-medium gamma radiation and its application to food irradiation //J. Appl. Polym. Sc. — 2018. — Vol. 135. — №. 13. — C. 45729.
430. Desrosiers M. F., Puhl J. M., Cooper S. L. An absorbed-dose/dose-rate dependence for the alanine-EPR dosimetry system and its implications in high-dose ionizing radiation metrology // J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol. — 2008. — Vol. 113. — №. 2. — C. 79.
431. Chand S., Mehra R., Chopra V. Recent developments in phosphate materials for their thermoluminescence dosimeter (TLD) applications //Luminescence. — 2021. — Vol. 36. — №. 8. — C. 1808-1817.
432. Soliman Y. S. et al. A comparative dosimetry study of an alanine dosimeter with a PTW PinPoint chamber at ultra-high dose rates of synchrotron radiation // Phys. Med. — 2020. — Vol. 71. — C. 161-167.
433. Bliznyuk U.A. Computer simulation to determine food irradiation dose levels / U. A. Bliznyuk, P. Y. Borchegovskaya, A. P. Chernyaev et al. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. — 2019. — Vol. 365. — P. 012002.
434. ГОСТ 10444.15-94 Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов
435. ГОСТ EN 13783-2017 Продукция пищевая. Выявление облученной пищевой продукции с использованием метода прямого счета с помощью эпифлуоресцентной микроскопии после фильтрации/метода глубинного посева микроорганизмов (DEFT/APC). Скрининговый метод.
436. Kim G. R. et al. Assessment of microbiological contamination in saengshik products from the Korean market and identification of the irradiation status // Food Sci. Biotechnol.— 2018. — Vol. 27. — C. 607-615.
437. ГОСТ Р 56139-2014 -- Методы определения и подсчета пробиотических микроорганизмов.
438. Hameed S., Xie L., Ying Y. Conventional and emerging detection techniques for pathogenic bacteria in food science: A review // Trends Food Sci. Technol— 2018. — Vol. 81. — C. 61-73.

439. ГОСТ 31708-2012. Микробиология пищевых продуктов и кормов. Метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий *Escherichia coli*. Метод наиболее вероятного числа.
440. Arshad K. et al. Effect by Gamma Irradiation and Low-Temperature Storage on Bacteriological Profile of Edible Estuarine Crab *Scylla serrata* // J. Food Process. Preserv.. — 2015. — Vol. 39. — №. 6. — С. 2473-2484.
441. ГОСТ 29024-91 Анализаторы жидкости турбидиметрические и нефелометрические.
442. Maia M. R. G. et al. Simple and Versatile Turbidimetric Monitoring of Bacterial Growth in Liquid Cultures Using a Customized 3D Printed Culture Tube Holder and a Miniaturized Spectrophotometer: Application to Facultative and Strictly Anaerobic Bacteria // Frontiers in Microbiology. — 2016. — Vol. 7(1381). doi: 10.3389/fmicb.2016.01381
443. ГОСТ 4212-2016 Реактивы. Методы приготовления растворов для колориметрического и нефелометрического анализа
444. Mitishev A. et al. Nephelometric method for determination of growth parameters of chlorella culture //KnE Engineering. — 2018. — С. 206–212-206–212.
445. ГОСТ 31770-2012. Мед. Метод определения электропроводности
446. Mutlaq S. et al. Conductometric immunosensor for *Escherichia coli* O157: H7 detection based on polyaniline/zinc oxide (PANI/ZnO) nanocomposite //Polymers. — 2021. –Vol. 13. — №. 19. — С. 3288.
447. ASTM D7463-21 --Standard Test Method for Adenosine Triphosphate (ATP) Content of Microorganisms in Fuel, Fuel/Water Mixtures, and Fuel Associated Water
448. Zanardi E., Caligiani A., Novelli E. New insights to detect irradiated food: an overview // Food Anal. Methods– 2018. — Vol. 11. — С. 224-235.
449. Chauhan A., Goyal M. K., Chauhan P. GC-MS technique and its analytical applications in science and technology // J Anal Bioanal Tech. 2014. 5(6). P. 222.
450. EN 14122:2014. Foodstuffs — Determination of vitamin B1 by high performance liquid chromatography
451. EN 12822:2014. Foodstuffs — Determination of vitamin E by high performance liquid chromatography — Measurement of α -, β -, γ - and δ -tocopherol
452. Bajkacz S., Kycia-Słocka E. Liquid chromatography in food analysis // Chemical Analysis of Food. 2020. P. 391–455. doi:10.1016/b978-0-12-813266-1.00008-5
453. ГОСТ Р 55810-2013 -- Метод определения тиобарбитурового числа
454. Abeyrathne E.D.N.S., Nam K., Ahn D.U. Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems //Antioxidants. 2021. Vol. 10. P. 1587. DOI : 10.3390/antiox10101587

455. ГОСТ 26188— 2016 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Метод определения pH.
456. Kim T. K. et al. Interactions between raw meat irradiated by various kinds of ionizing radiation and transglutaminase treatment in meat emulsion systems // Radiat. Phys. Chem.. — 2020. — Vol. 166. — С. 108452.
457. ГОСТ Р 52529-2006 — Мясо и мясные продукты. Метод электронного парамагнитного резонанса для выявления радиационно-обработанных мяса и мясопродуктов, содержащих костную ткань
458. ГОСТ Р 53186-2008 — Продукты пищевые. Метод электронного парамагнитного резонанса для выявления радиационно-обработанных продуктов, содержащих целлюлозу
459. ГОСТ Р 52829-2007 — Продукты пищевые. Метод электронного парамагнитного резонанса для выявления радиационно-обработанных продуктов, содержащих кристаллический сахар
460. ГОСТ ISO 5519-2019 Фрукты, овощи и продукты их переработки. Определение содержания сорбиновой кислоты спектрофотометрическим методом
461. Zanardi E. et al. Metabolic profiling by ¹H NMR of ground beef irradiated at different irradiation doses // Meat Sci. — 2015. — Vol. 103. — С. 83-89.
462. EN 13751:2002 -- Foodstuffs — Detection of irradiated food using photostimulated luminescence
463. Bortolin E. et al. Photo-Stimulated Luminescence Approach for Effective Identification of Irradiated Fruit // Appl. Sci. — 2023. — Vol. 13. — №. 9. — С. 5767.
464. Khawar A. et al. Evaluation of irradiation in foods using DNA Comet assay // J. Food Sci. Technol.. — 2011. — Vol. 48. — С. 106-109.

Приложение 1.

Таблица 1 — Дозиметрические, биологические, физические и химические методы анализы биообъектов.

Метод исследования		Физический принцип	ГОСТ/ISO	Ссылка	
Дозиметрический контроль [422,423]	Химические методы дозиметрии	Дозиметр Фрикке	метод основан на реакции окисления ионов Fe ²⁺ до трехвалентного состояния — Fe ³⁺ в водном растворе под действием ионизирующего излучения	ASTM E1026-13 [95]	[424]
		Цериевый дозиметр	Сульфат церия с добавкой серной кислоты находятся в водном растворе. Продукты радиолиза воды восстанавливают церий. Доза рассчитывается по числу ионов трехвалентного церия.	ISO/ASTM 51205 [96]	[425]
		Дозиметр на основе дихромата серебра	Дозиметр представляет собой раствор, содержащий ионы серебра и дихромата в хлорной кислоте, в стеклянном контейнере. Раствор показывает поглощенную дозу путем изменения (уменьшения) оптического поглощения на указанной длине волны	ISO/ASTM 51401-13 [97]	[426]
		РЕСВ-дозиметр (этанол-хлорбензол)	Поглощенная доза определяется исходя из концентрации, образовавшейся под действием ионизирующего излучения, соляной кислоты в этанол-хлорбензольном растворе	ISO/ASTM 51538 [98]	[427]
		Пленочные дозиметры	метод основан на преобразовании кристаллов галоидного серебра, содержащегося в эмульсии на плёнке, в металлическое серебро	ISO/ASTM 51275 [101]	[428]
		L-аланиновый дозиметр	Сигнал аланин/ЭПР представляет собой	ISO/ASTM 51607 [99]	[429]

			скорректированную интенсивность аланина от пика к пику на единицу массы дозиметра, выраженную в Гр на воду, с использованием калибровочной кривой, полученной на основе считывания аланина, облученного в эталонных условиях при 60°C.		
	Физические методы дозиметрии	TLD-дозиметр	При воздействии ионизирующего излучения с кристаллом люминоформа электроны вещества переходят на более высокие энергетические уровни. При релаксации испускаются фотоны в видимом диапазоне длин волн. Доза определяется на основе величины светосуммы.	ISO/ASTM 51956 [104]	[430]
		Дозиметр на основе PMMA (ПММА, полиметилметакрилат)	Метод основан на измерении количества тепла, выделяемого при поглощении излучения	ISO/ASTM 51276 [100]	[431]
	Компьютерное моделирование	GEANT4, EGSnrc и др.	Транспортные коды на основе метода Монте-Карло, позволяющие моделировать прохождение заряженных частиц с веществом, для расчета поглощенной дозы	[114-125] [89-100]	[432]
	Методы прямого подсчета	Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ или общее микробное число, ОМЧ)	Метод основан на способности мезофильных аэробов и факультативных анаэробов расти на питательных средах при температуре 30 °C, образуя колонии, видимые при увеличении в 2 раза. Число колоний должно отражать количество жизнеспособных микроорганизмов, содержащихся в засеянном	ГОСТ 10444.15-94 [433]	[434]

			объеме исследуемого материала.		
		метода прямого эпифлуоресцентного фильтрования (DEFT)	Метод заключается в окрасе мембран бактерий флуоресцентным красителем, акридиновым оранжевым, после чего происходит подсчет бактерий под эпифлуоресцентным микроскопом. Может потребоваться предварительная обработка образца для обеспечения возможности предварительной фильтрации.	ГОСТ EN 13783-2017 [14]	[435]
		Культуральный (бактериологический) метод исследования (БЛМИ)	Метод основан на культивировании ранее выделенных чистых культур бактерий и дальнейшей их идентификации до вида на основе изучения характеристик данных микроорганизмов	ГОСТ Р 56139-2014 [436]	[437]
		Метод наиболее вероятного числа (MPN)	Метод основан на разведении пробы до тех пор, пока не останется одна жизнеспособная клетка на раствор. Подготавливается несколько таких проб и далее производят подсчет растворов, где клетка продолжила жизнедеятельность	ГОСТ 31708—2012 [438]	[439]
	Непрямые методы подсчета	Светопоглощение (турбидиметрия)	Метод основан на измерении интенсивности света на определенной длине волны, проходящей через раствор, содержащий микроорганизмы	ГОСТ 29024-91 [440]	[441]
		Светорассеяние (нефелометрия)	Метод основан на анализе рассеянного света, проходящего через раствор, содержащий микроорганизмы, наличие которых и приводит к рассеянию света	ГОСТ 4212-2016 [442]	[443]

Химические методы анализа		Электропроводность (кондуктометрия)	Метод основан на измерение электропроводности раствора, изменение которой обусловлено наличием микроорганизмов	ГОСТ 31770-2012 [444]	[445]
		Определение АТФ (Аденозинтрифосфат)	Метод основан на способности ряда живых организмов испускать свет под воздействием ферментов люциферазы. Реакция происходит при гидролизе АТФ. Снятие спектрограмм позволяет оценить концентрацию молекул АТФ.	ASTM D7463-21 [446]	[447]
		Газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС)	определение низкомолекулярных летучих органических соединений путем нагрева образца и сравнения полученных хроматограмм с имеющимся банком	EN 1784 1996 [22], EN 1785 2003 [23]	[448]
		Тандемная жидкостная хромато-масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС)	определение высокомолекулярных органических соединений путем растворения их в сольвенте с дальнейшим разделением и сравнением с имеющимся банком	EN 14122:2014. [449] EN 12822:2014. [450]	[451]
		TBARS	Метод основан на том, что тиобарбитуровая кислота вступает в реакцию с малановым альдегидом, одним из продуктов липидного окисления, с образованием красного продукта, который можно обнаружить с помощью фотоспектрометрического анализа	ГОСТ Р 55810-2013 [452]	[453]
		pH-анализ	pH-датчике содержит буферный раствор, который позволяет ионам водорода проникать в мембрану, и отмеченные различия	ГОСТ 26188-2016 [454]	[455]

			создают потенциал напряжения.		
Физические методы ана		Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР)	метод основан на поглощении сверхвысокочастотной энергии переменного поля парамагнитным веществом, находящимся в сильном постоянном магнитном поле	ГОСТ Р 52529-2006 [20,456] ГОСТ Р 53186-2008 [19,457] ГОСТ Р 52829-2007 [21,458]	[27]
		Спектроскопия (ИК и ЯМР)	Мвоздействию на ядра, обладающие магнитным моментом, находящиеся во внешнем магнитном поле, радиоимпульсом, ядра переходят на другой уровень. По окончании воздействия происходит релаксация с испусканием гамма-квантов, которые и определяют получаемый спектр.	ГОСТ ISO 5519-2019 [459]	[460]
		Методы люминесценции (термолюминесценция, фотолюминесценция, хемолюминесценция)	Метод термолюминесценции основан на переходе электронов, находящихся в возбужденном состоянии, в основное состояние при их термической стимуляции. При нагревании образца электроны высвобождаются из ловушек и пропускают свет, поскольку они рекомбинируют с дырками. Метод фотолюминесценции отличается типом стимуляции, приводящим к явлению люминесценции.	EN 1788 2001 [18] EN 13751:2002 [461]	[25,462]
		Метод ДНК-комет	Метод основан на том, что поврежденные при воздействии ионизирующим излучением молекулы ДНК, при дальнейшем анализе с помощью микрогелевого электрофореза оставляют за собой «хвосты»	EN 13784 2001 [17]	[463]

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность и искреннюю благодарность коллегам с физического факультета и химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Научно-исследовательского института ядерной физики имени Д.В. Скобельцына, ФГБНУ Всероссийского научно-института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), ФГБУ ГНЦ Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна, Сибирского Федерального Научного Центра Агробιοтехнологий РАН.

Автор благодарит свою семью за помощь и поддержку.