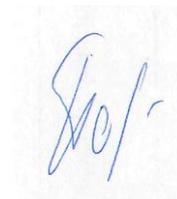


На правах рукописи



ПАВЛОВ Александр Николаевич

**ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО
ПРОЦЕССА РАДИАЦИОННОЙ ОБРАБОТКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
ПРОДУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

03.01.01 – Радиобиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Обнинск – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»

Научный руководитель:

доктор биологических наук **Спирин Евгений Викторович**,

Официальные оппоненты:

Сынзыныс Борис Иванович, доктор биологических наук, профессор
Институт Атомной Энергетики НИЯУ МИФИ, профессор кафедры экологии

Брызгин Александр Альбертович, кандидат технических наук,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт ядерной
физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук,
заведующий научно-исследовательской лабораторией

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева»

Защита состоится «28» апреля 2016 года в ___ час. ___ мин. на заседании диссертационного совета Д 006.068.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 249032, Калужская обл., г. Обнинск, Киевское шоссе, 109 км, ФГБНУ ВНИИРАЭ, здание 1, к. 510.
Факс: (484) - 396-80-66, e-mail: rirae70@gmail.com

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», <http://www.rirae-raas.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета



Шубина Ольга Андреевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Увеличение производства агропромышленной продукции и улучшение ее качества являются одной из важнейших задач обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации, решение которой невозможно без внедрения технологий, обеспечивающих рост производства продукции, снижение потерь при ее хранении и переработке. По данным международной Продовольственной и сельскохозяйственной организации ФАО ООН ежегодно в мире пропадает, в основном, вследствие порчи, примерно треть всех произведенных продуктов питания (1,3 млрд. тонн) (J. Gustavsson et al., 2011). Для решения этой проблемы на настоящем этапе развития мировой экономики усиливается интерес к использованию прорывных радиационных технологий (РТ). Эти технологии опираются на знания фундаментальных законов ядерной и радиационной физики, дозиметрии ионизирующих излучений и радиобиологии, требуют разработки специфических технологических процессов и создания специальной радиационной техники.

Современный мировой рынок по облучению продуктов питания и сельскохозяйственной продукции оценивается на сумму более 2 млрд. дол. США. Ожидается, что к 2020 он достигнет 4,82 млрд. дол. США, а к 2030 – 10,9 млрд. дол. США. Годовой объем облученной продукции составляет 700-800 тыс.т. При этом основной объем облученных растительных продуктов приходится на специи, сухие овощи и фрукты (52%) (Т. Kume et al., 2009). Пряности, специи, сушеные овощи и травы являются наиболее обсемененными продуктами и содержат микроорганизмы, свойственные почве и среде, где они были выращены и выдержали процесс сушки.

В настоящее время 40 стран проводят облучение более чем 80 видов продукции. Реализуется программа ФАО/МАГАТЭ «Применение ядерных технологий в продовольственной и сельскохозяйственной областях». Российская Федерация, как правопреемник Советского Союза, была одной из первых стран, которая начала проводить облучение пищи. В 1958 г. Министерство здравоохранения СССР дало разрешение на обработку ионизирующим излучением картофеля и зерна. Облучение сельскохозяйственной и пищевой продукции в СССР успешно работало вплоть до 1990-х годов. (Алексахин Р.М., 1980, Батыгин Н.Ф., Савин В.Н., 1966, Гудков, И.Н., 1991, Каушанский Д.А., Кузин А.М., 1984, Мейсель М.Н., Черняев Н.Д., 1956, Корнеев Н.А. и др., 1980). В соответствии с «Решениями по итогам заседания президиума Совета при Президенте России по модернизации экономики и

инновационному развитию» от 11 декабря 2014 г. поставлена задача по внедрению РТ в сельском хозяйстве и пищевой промышленности

Степень ее разработанности. На сегодняшний день наметилось заметное отставание РФ в данном направлении, отсутствует целевая программа развития РТ, необходима разработка специальной радиационной техники и нормативных документов, а также проведение исследований в целях создания научно-методической базы радиационной обработки сельскохозяйственного сырья и готовой продукции. Необходимо решение вопросов, связанных с методологией оптимизации радиационных технологических процессов на основе изучения радиобиологических показателей эффективности радиационной обработки в зависимости от исходных микробиологических показателей, дозиметрических характеристик ионизирующих излучений (доза, мощность дозы, распределение поглощенной дозы в облучаемой продукции) и свойств биологической среды продукции.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы состояла в определении оптимальных радиобиологических показателей экспериментально-производственного процесса радиационной обработки, обеспечивающего микробиологическую безопасность и увеличение сроков хранения продукции растительного происхождения.

Для достижения этой цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Исследование распределения поглощенных доз γ -излучения в воздухе и в сельскохозяйственной продукции разной плотности в зависимости от геометрии облучения с использованием исследовательской установки ГУР-120 с источником ионизирующего излучения (ИИИ) ^{60}Co .
2. Экспериментальное обоснование выбора дозиметрических систем для определения мощности поглощенной дозы и контроля поглощенной дозы в процессе облучения с использованием ионизационного, термолюминесцентного и химического методов технологической дозиметрии.
3. Исследование радиорезистентности контролируемых групп микроорганизмов, присутствующих в специях, сушеных травах сушеных и свежих овощах.
4. Изучение эффективности радиационной стерилизации растительного сырья и готовой продукции по контролируемым показателям микробиологической безопасности.
5. Оптимизация режимов радиационной обработки различных объемов сельскохозяйственной продукции, обеспечивающих ее равномерное облучение

б. Разработка и экспериментально-производственная апробация технологического регламента радиационной стерилизации растительной продукции в заводской упаковке на установке ГУР-120.

Научная новизна. В результате проведенных исследований получены новые экспериментальные данные по основным радиобиологическим зависимостям «доза-эффект» для микроорганизмов, входящих в группы БГКП, мезофильных аэробных и факультативных анаэробных, грибов и дрожжей при облучение мощностями доз в диапазоне 0,3 – 1,2 кГр/ч с поглощенными дозами от 30 Гр до 10 кГр.

Разработаны унифицированные методические подходы к формированию полей поглощенных доз γ -излучения и режимов облучения, обеспечивающих радиационную стерилизацию сельскохозяйственного растительного сырья с учетом исходных и пострadiационных контролируемых микробиологических показателей продукции.

Получены новые результаты, показывающие, что эффективность радиационной обработки определяется исходным уровнем обсемененности продукта, таксономическим составом микроорганизмов, входящих в группы БГКП, мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов, грибов и дрожжей, а также бактерицидными и антиоксидантными свойствами среды продуктов растительного происхождения и дозиметрическими величинами (мощность дозы, поглощенная доза). Установлено, что микробиологические показатели продукции улучшаются на порядок через две недели после радиационной обработки в дозе 10 кГр и мощностях поглощенных доз от 0,3 до 1,2 кГр и характеризуются сниженной метаболической и ростовой активностью микроорганизмов, входящих в группы БГКП, мезофильных аэробных и факультативных анаэробных, грибов и дрожжей.

Теоретическая значимость и практическая значимость. Теоретическая значимость работы обусловлена новыми результатами, показывающими влияние свойств среды их обитания, которая обладает собственной биологической, антимикробной и антиоксидантной активностью, на радиобиологические эффекты у микроорганизмов. Сделано предположение, что фитонциды в условиях воздействия гамма-излучения могут усиливать бактерицидное действие. В настоящей работе выдвинутая гипотеза находит подтверждение в виде зависимостей инактивации бактерий *E. coli*, полученных *in vitro* (стерилизующая доза ~ 0,8–1,0 кГр) и при облучении бактерий в составе лукового порошка (стерилизующая доза ~ 0,3–0,5 кГр), обладающего мощным антимикробным действием. Показано значение как бактерицидных свойств специй, так и их антиоксидантной активности и,

соответственно, возможности поступления антиоксидантных соединений в микроорганизмы и их участие в процессах перехвата свободных радикалов, образующихся в результате воздействия ионизирующего излучения. Различия таксономического состава микроорганизмов и бактерицидная и антиоксидантная активность специй могут существенным образом модифицировать зависимости «доза-эффект».

Практическая значимость работы связана с разработкой операционных процедур радиационной стерилизации высушенного сельскохозяйственного растительного сырья, а также свежей продукции растениеводства для увеличения сроков хранения и обеспечения микробиологической безопасности (в соответствии с действующими нормативными требованиями).

Разработанные режимы облучения положены в основу технологического регламента применения γ -установок с мощностью поглощенной дозы в диапазоне 0,3 – 1,2 кГр/ч. Проведена экспериментально-производственная апробация технологического регламента радиационной стерилизации растительной продукции в заводской упаковке на установке ГУР-120.

Результаты настоящей работы могут быть использованы для создания нормативно-правовой, научно-методической и технической базы применения РТ и внедрения их в сельскохозяйственное производство и пищевую промышленность.

Методология и методы диссертационного исследования. Общая методология исследований заключалась в комплексном исследовании радиобиологических показателей: 1) распределений поглощенных доз γ -излучения в воздухе и в сельскохозяйственной продукции разной плотности; 2) режимов радиационной обработки различных объемов сельскохозяйственной продукции, обеспечивающих ее равномерное облучение; 3) радиочувствительности контролируемых групп микроорганизмов в составе среды специй, сушеных трав, сушеных и свежих овощей.

Радиобиологические показатели были положены в основу оценки эффективности радиационной стерилизации растительного сырья и готовой продукции и разработки экспериментально-производственного процесса радиационной стерилизации растительной продукции в заводской упаковке.

Для облучения специй и овощей была использована γ -установка ГУР-120. Измерения интегральных радиационных параметров (мощность экспозиционной дозы, мощность поглощенной дозы, поглощенную дозу) проводился с

использованием современных приборов и методов экспериментальной дозиметрии. Оценку параметров микробиологической безопасности осуществляли согласно СанПиН 2.3.2.1078-01. Основным биологическим тестом была выживаемость, оцениваемая по способности клеток образовывать колонии на питательной среде.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Разработана методология оценки эффективности экспериментально-производственного процесса радиационной обработки продукции растительного происхождения, основанная на определении радиобиологических показателей.
2. Эффективность радиационной обработки определяется дозиметрическими величинами (мощность дозы, поглощенная доза), исходным уровнем обсемененности продукта, таксономическим составом микроорганизмов, а также бактерицидными и антиоксидантными свойствами среды продуктов растительного происхождения. Популяция микроорганизмов в облученных продуктах характеризуется сниженной метаболической и ростовой активностью, что обеспечивает более длительные сроки хранения.
3. Результаты исследования являются научной основой практического внедрения в коммерциализацию γ -установок небольшой мощности при проведении радиационной пастеризации с поглощенными дозами до 10 кГр. Технология апробирована в экспериментально-производственном процессе радиационной обработки пряностей, сушеных трав и овощей с производительностью более чем 400 т в год.

Достоверность результатов. Достоверность полученных результатов определяется современными методами исследования и измерительной базой, стандартными и специально разработанными методическими приемами, а также представительной выборкой биологических проб. За время исследований отобрано и проанализировано (до и после облучения) более 1170 образцов различных видов сельскохозяйственной продукции.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на шести всероссийских и международных форумах: Научно-практическая конференция «Радиационные технологии: достижения и перспективы», 11-12 октября 2012 г., Москва; VII съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность), 21-24 октября 2014 г., Москва; Научно-практическая конференция «Радиационные технологии: достижения и перспективы развития», 21–23 октября 2014 г., Республика Крым, Ялта; Международный симпозиум «on Food

Safety and Quality: Applications of Nuclear and Related Techniques», 10-13 ноября 2014 г., Вена, Австрия; Международная конференция "Генетическая интеграция про - и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии", 24-27 июня 2015 г., Санкт-Петербург; Седьмой съезд всероссийского масс-спектрометрического общества (VI всероссийская конференция с международным участием) «масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы», 12-17 октября 2015 г., Москва.

Связь с научными направлениями работы ФГБНУ ВНИИРАЭ.

Исследования проводились в рамках Федеральных целевых программ: «Фундаментальные научные исследования государственных академий наук на 2013-2020 годы», «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2013 годы», «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2008 год и на период до 2015 года»; государственных контрактов и гранта РФФИ «ЦЕНТРАЛЬНАЯ РОССИЯ», проект №14-44-03095 по теме: «Изучение радиационно-химических и биологических эффектов, определяющих компетенции радиационных агробiotехнологий и разработка научно-методической базы их внедрения в АПК РФ».

Реализация результатов работы. Разработанная технология использования ИИ для нужд сельскохозяйственной и пищевой промышленности отмечена золотой медалью на российской агропромышленной выставке «Золотая осень - 2013».

Разработанные режимы радиационной обработки сельскохозяйственной продукции растительного происхождения, использованы при реализации коммерческих контрактов ФГБНУ ВНИИРАЭ по γ -облучения специй, сушеных трав и овощей в целях микробиологической безопасности и продления сроков хранения в объеме ~ 400 т/г.

Личный вклад автора. Автор лично участвовал в формулировке темы, постановке цели и задач, планировании и проведении экспериментальных исследований, обосновании методологических подходов, разработке методов исследования, их проведении и анализе полученных экспериментальных данных, интерпретации результатов, формулировке выводов, подготовке отчетов и публикаций. В работах, выполненных в соавторстве, вклад автора связан с вопросами изучения радиобиологических показателей эффективности радиационной обработки продукции растительного происхождения.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 15 работ, в том 2 коллективные монографии, 9 статей в научных журналах, в том числе 5 из них в рекомендуемых ВАК РФ для кандидатских диссертаций, 6 работ представлены в материалах Российских и международных конференций, съездов и симпозиумов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов экспериментов, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературных источников. Работа изложена на 129 страницах, содержит 16 таблиц, 26 рисунков и список литературы из 201 наименования.

Благодарности. Автор выражает признательность научному руководителю Е. В. Спирину, а также глубокую благодарность Г.В. Козьмину и Е.П. Пименову за оказанную помощь и ценные советы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во *Введении* обосновывается актуальность темы исследования, ставятся цель и задачи, решаемые в диссертации, рассматривается научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследований.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

Представлен обзор публикаций, посвященных современному состоянию и перспективам использования РТ в агропромышленном комплексе, а также радиационной технике для облучения ионизирующим излучением продукции сельского хозяйства и пищевой промышленности. Рассмотрены радиобиологические основы и дозиметрия ионизирующего излучения в технологиях радиационной обработки сельскохозяйственного сырья и готовой продукции, а также вопросы радиационной стерилизации продукции растительного происхождения. Представлены перспективные направления исследований в целях внедрения радиационных технологий в практику агропромышленного производства.

На основании анализа литературных источников, отражающих состояние и перспективы развития исследований в области создания радиационных технологий, сделан вывод о том, что цель и задачи, поставленные в настоящем исследовании, обладают научной новизной, практической значимостью и актуальны для современного агропромышленного производства.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для облучения специй и овощей была использована γ -установка ГУР-120 (рисунок 1), разработанная для радиобиологических исследований, включая радиационную стерилизацию сельскохозяйственной продукции.

Установка ГУР-120 состоит из восьми блоков-облучателей, четыре против четырёх. Тип – стационарная, исследовательская с сухим способом защиты. Параметры облучательского помещения: объем – 380 м³, площадь – 67,5 м², длина – 11,43 м, ширина – 5,9 м, высота – 5,6 м



Рисунок 1 - Контейнеры-облучатели γ -установки ГУР-120

Геометрия облучения растительного сырья на γ -установке ГУР-120 представлена на рисунке 2.

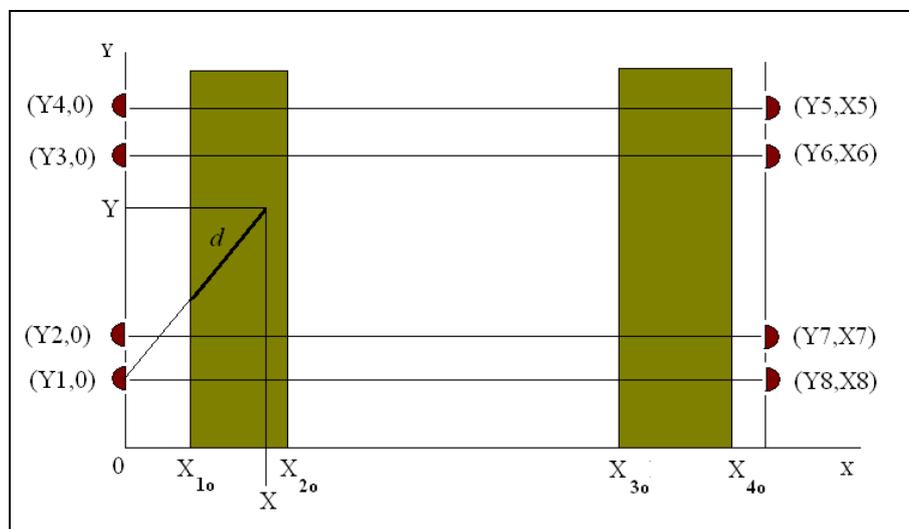


Рисунок 2 – Геометрия облучения объектов в зале γ -установки ГУР-120

где, d – толщина среды от начала тканеэквивалентных барьеров до точки детектирования;

$(X_{20}-X_{10})$, $(X_{40}-X_{30})$ – толщина тканеэквивалентных барьеров;

$(Y_1;0)$, $(Y_2;0)$, $(Y_3;0)$, $(Y_4;0)$, $(Y_5;X_5)$, $(Y_6;X_6)$, $(Y_7;X_7)$, $(Y_8;X_8)$ – координаты ИИИ.

Инженерные расчёты мощности поглощённой дозы выполняли с использованием дозовой функции точечного изотропного источника γ -излучения:

$$P_{\gamma} = Q \cdot K_{\gamma} \cdot \exp(-\mu d) \cdot B(\mu d) / R^2, \text{ где}$$

Q – активность источника, Бк;

K_{γ} - гамма-постоянная радионуклида ^{60}Co , $(\text{Гр} \cdot \text{м}^2) / (\text{с} \cdot \text{Бк})$;

μ - коэффициент ослабления гамма-излучения в веществе объекта, $\text{м}^2/\text{кг}$;

d – толщина среды от источника до точки детектирования, $\text{кг}/\text{м}^2$;

$B(\mu d)$ – дозовый фактор накопления, отн. ед.;

R – расстояние от источника до точки детектирования, м.

В формуле для расчета мощности дозы учитывается ослабление в материале объекта на глубине d (выражается в $\text{г}/\text{см}^2$) и вклад в мощность дозы рассеянного гамма-излучения, который учитывается фактором накопления $B(\mu d)$. Фактор накопления с использованием аппроксимирующего выражения Бергера представлен для ^{60}Co в виде:

$$B(\mu d) = 1 + 1,035 \cdot (\mu d)^{1,36}$$

Прямые измерения дозовых полей проводили с помощью дозиметров Фрике в диапазоне доз 20 – 400 Гр, термолюминесцентных детекторов (ТЛД) на основе порошкообразного фтористого лития марки ТЛД-100 в диапазоне доз 1 – 10 Гр), дозиметра конденсаторного типа ДКС-101 с мощностью п.д. до 200 Гр/ч, максим. время измерения 9 ч, полимерных пленочных детекторов в диапазоне доз 1 – 10 (5-50) кГр и цветowych индикаторов дозы от 1 до 20 кГр.

Оценку параметров микробиологической безопасности осуществляли согласно СанПиН 2.3.2.1078-01, где КМАФАнМ не должно превышать значения $5 \cdot 10^5$ КОЕ/г в см^3 , плесень и дрожжи, не более 10^3 КОЕ/г в см^3 , наличие БГКП не допускаются.

Для количественного учета микроорганизмов использован прямой подсчет количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Образцы специй, сушеных овощей и трав исследовали непосредственно до и после облучения. Из контрольных и облученных в разных дозах с/х продуктов отбирали пробы для микробиологического анализа. Стандартное отклонение от среднего значения для КМАФАнМ и БГКП не превышало 12%, а для плесневых грибов и дрожжей - 20%, от средних значений каждого определения.

ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОЗИМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ УСТАНОВКИ ГУР-120

Радиобиологические показатели эффективности γ -обработки зависят от радиочувствительности основных групп микроорганизмов, присутствующих в специях, сушеных травах сушеных и свежих овощах (а также от исходной микробиологической обсемененности) и дозиметрических характеристик

ионизирующих излучений (доза, мощность дозы, распределение поглощенной дозы в облучаемой продукции).

В общем виде задача сводится к определению радиочувствительности основных групп микроорганизмов, первоначальных уровней загрязненности продукции и контролю поглощенной дозы и мощности поглощенной дозы, а также распределения ее в объеме облучаемого объекта. При этом была реализована следующая последовательность дозиметрических процедур:

1. Изучение дозиметрических характеристик поля поглощенных доз в воздухе и облучаемых объектах на примере использования γ -установки ГУР-120.
2. Экспериментальная апробация различных дозиметрических методов контроля процесса облучения.
3. Выбор режимов облучения обеспечивающих микробиологическую деконтаминацию растительной продукции.

Для расчетов были выбраны два значения плотности вещества $0,3 \text{ г/см}^3$ и $0,7 \text{ г/см}^3$, т.к. плотность молотого перца – $0,745 \text{ г/см}^3$, плотность молотого кориандра – $0,569 \text{ г/см}^3$, плотность резаного сушеного укропа – $0,35 \text{ г/см}^3$. Из приведённых данных видно, что, когда плотность вещества в объекте равна $0,7 \text{ г/см}^3$ P_{max} превышает P_{min} в 180 раз, а при $\rho=0,3 \text{ г/см}^3$ в 40 раз (рисунок 3).

Плотность вещества объекта необходимо учитывать при оптимизации режима облучения объектов. Увеличение плотности вещества в 2 раза приводит к увеличению неравномерности в 4,5 раза. Ослабление излучения на одной из боковых сторон объекта может достигать порядка величины при толщине материала 1 м с плотностью $0,7 \text{ г/см}^3$ (рисунок 3).

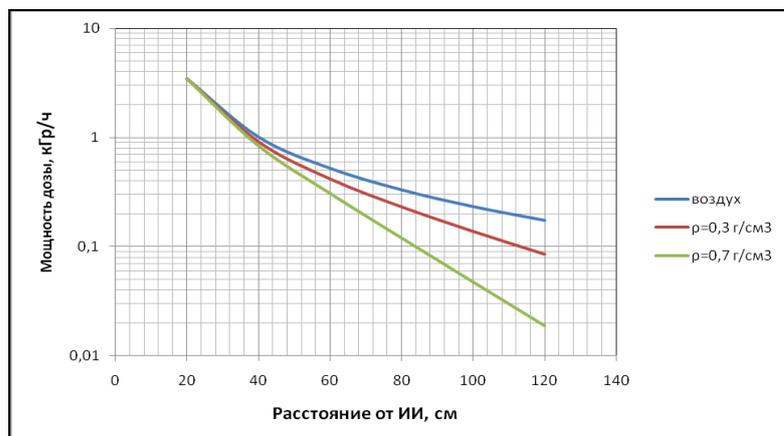


Рисунок 3 – Распределение мощности дозы в воздухе и облучаемых объектах с $\rho=0,3 \text{ г/см}^3$ и $\rho=0,7 \text{ г/см}^3$

Неравномерность поля облучения (по соотношению $P_{\text{max}}/P_{\text{min}}$) можно существенно снизить за счет двухстороннего облучения путём поворота облучаемого

объекта 180 градусов. Сформированное таким образом распределение мощности поглощенной дозы в центральном поперечном сечении объема облучаемого объекта показано на рисунке 5. В результате поворота на 180 градусов неравномерность распределения МПД (по соотношению R_{max}/R_{min}) снизилась в 5 раз (рисунок 4).

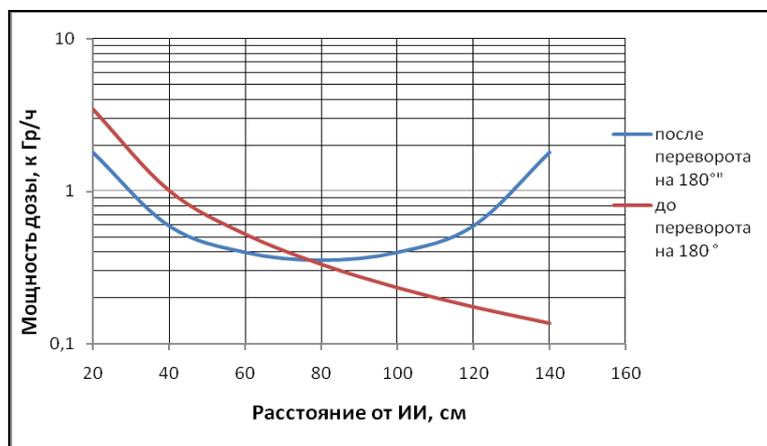


Рисунок 4 – Распределение доз в объекте до и после переворачивании на 180 градусов

Проведённое исследование показало, что поле излучения в материале объекта крайне неравномерно по глубине. Данные по распределению мощностей доз облучения позволяют выявить размеры области равномерного облучения объекта. Для улучшения равномерности облучения может быть применён прием с периодическим переворачиванием материала.

В процессе всех исследований наряду с расчетными методами были использованы дозиметрические приборы, обладающие разными диапазонами измеряемых дозиметрических характеристик (рисунок 5).

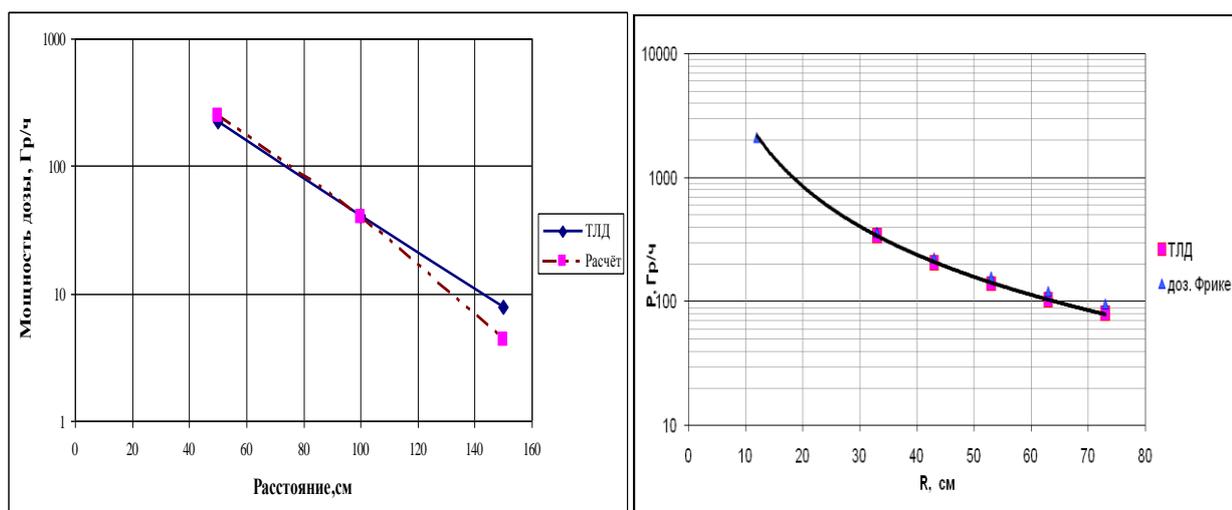


Рисунок 5 – Сравнение различных методов дозиметрии и рассчитанных мощностей доз в облучательном зале установки ГУР-120

Применение в зависимости от величины мощности дозы и дозы в интервале от 30 Гр до 10 кГр методов ионизационной, термолюминесцентной и химической

дозиметрии позволяет получить детальное распределение поглощенной дозы в облучаемых биологических объектах путем размещения детекторов ионизирующего излучения на поверхности и в объеме тех объектов, которые проходят радиационную обработку.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИАЦИОННОЙ ДЕКОНТАМИНАЦИИ КОНТРОЛИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРИСУТСТВУЮЩИХ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ

Для определения поглощенных доз, обеспечивающих выполнение нормируемых микробиологических показателей, проводили исследования зависимостей «доза – инаktivация микроорганизмов» *in vitro* и в составе различных специй, сушеных трав и овощей в зависимости от мощности дозы и поглощенной дозы γ -излучения.

В таблице 1 приведены результаты, характеризующие радиочувствительность культуры бактерий *E. Coli in vitro*.

Таблица 1 - Ингибирование роста культуры бактерий *E. coli* при мощностях доз 50, 100 и 200 Гр/мин

50 Гр/мин	N	100 Гр/мин	N	200 Гр/мин	N
0	10^5	0	10^5	0	10^5
50	$9,9 \times 10^3$	100	$4,5 \times 10^3$	200	$1,6 \times 10^3$
100	$4,2 \times 10^3$	200	$1,6 \times 10^3$	300	$7,5 \times 10^2$
200	$1,4 \times 10^3$	400	$1,1 \times 10^2$	400	$7,8 \times 10^1$
300	$7,0 \times 10^2$	600	$4,9 \times 10^1$	600	$4,6 \times 10^1$
500	$5,1 \times 10^1$	800	0	800	0
1000	0	1000	0	1000	0

N – число КОЕ/мл бактериальной суспензии

Результаты эксперимента показали, что ингибирование бактериальных клеток *E. coli* гамма-облучением зависит от мощности дозы и интегральной дозы облучения. Для гарантированного подавления жизнеспособности популяции *E. coli* необходима доза гамма облучения ≥ 1 кГр. Доза 3кГр гарантирует гибель выбранных условно-патогенных, патогенных бактерий и спор плесневых грибов. Бактерии рода *Salmonella* более устойчивы к действию ионизирующего излучения, чем бактерии рода *Escherichia*. Полученные результаты согласуются с опубликованными данными (таблица 2).

Таблица 2 - Результаты облучения микроорганизмов *Escherichia coli*, *Aspergillus fischeri*, *Salmonella enteritidis*, КОЕ/г

Доза облучения	Наименование облучаемых культур		
	<i>Salmonella enteritidis</i> 5765	<i>Escherichia coli</i> F-41 (0,26)	<i>Aspergillus fischeri</i> (споры)
Контроль	$(8,47 \pm 0,38) \cdot 10^7$	$(1,27 \pm 0,04) \cdot 10^8$	$(3,50 \pm 0,47) \cdot 10^3$
0,5 кГр	$(1,17 \pm 0,11) \cdot 10^6$	$(1,08 \pm 0,29) \cdot 10^3$	$(3,40 \pm 0,27) \cdot 10^1$
0,7 кГр	$(1,47 \pm 0,09) \cdot 10^4$	$(2,73 \pm 0,91) \cdot 10^1$	$(1,33 \pm 0,38) \cdot 10^1$
1,1 кГр	$(5,27 \pm 0,38) \cdot 10^3$	0	$1,67 \pm 0,44$
3 кГр	$1 \pm 0,67$	0	0
5 кГр	0	0	0
7 кГр	0	0	0

Исследованы показатели радиочувствительности основных групп микроорганизмов, присутствующих в специях, сушеных травах сушеных и свежих овощах, в диапазоне доз облучения от 30 Гр до 10 кГр.

В специях исходное количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) варьировало от 0 до 10^7 КОЕ/г. Установлено, что LD₅₀ КМАФАнМ равно 0.5 кГр. С увеличением дозы облучения количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) снижается (рисунок 6). Доза 10 кГр оказывается достаточной для того, чтобы обеспечить безопасный уровень численности этой группы микроорганизмов.

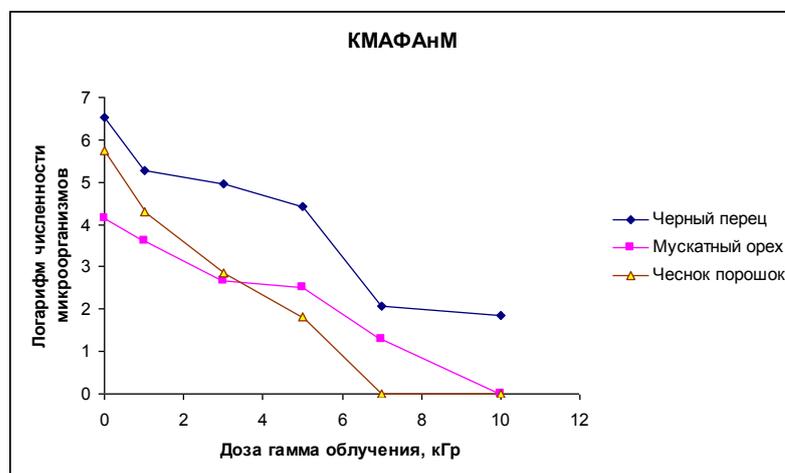
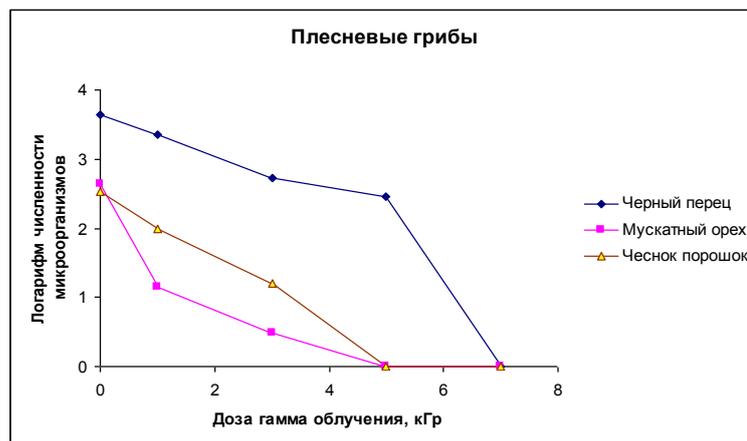
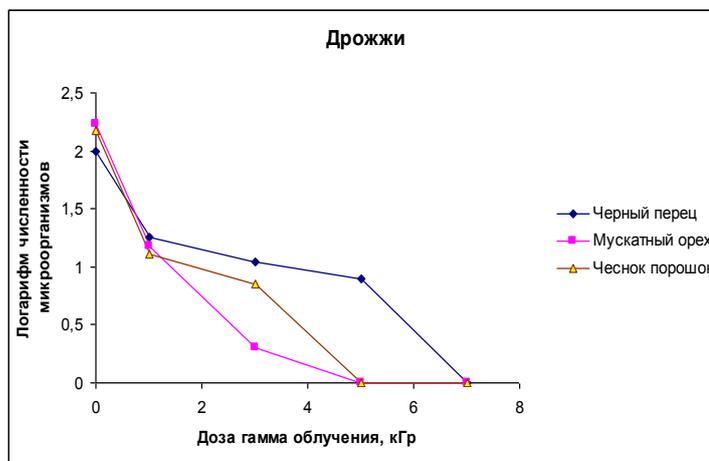


Рисунок 6 – Влияние γ -облучения специй на количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ).

Исходное количество дрожжей и плесневых грибов варьировало в пределах от 0 до 10^4 КОЕ/г. Плесневые грибы в специях находятся в виде спор, что обуславливает их сравнительно высокую устойчивость к γ облучению. У дрожжей и плесневых грибов LD₅₀ ~0.5 кГр, при дозе ~7 кГр наступила полная гибель данной группы микроорганизмов (рисунки 7 и 8).

Рисунок 7 – Влияние γ -облучения специй на число плесневых грибовРисунок 8 – Влияние γ -облучения специй на количество дрожжей

В образцах молотого кориандра и лукового порошка была обнаружена кишечная палочка (*Escherichia coli*). Количество бактерий кишечной палочки (*Escherichia coli*) составляло до 10^4 на грамм. При облучении дозами от 30 Гр до 1 кГр минимальные уровни облучения, обеспечивающие полную инактивацию бактерий *E. Coli*, были получены для лукового порошка (300 Гр).

Используя разработанную технологию радиационной обработки сушеных пряностей и овощей на установке ГУР-120 провели облучение высушенного сельскохозяйственного растительного сырья: специй (черный и красный перец; кориандр), трав (укроп, петрушка, базилик) овощей (капуста, лук, морковь, сладкий болгарский перец) и какао-порошка. Показатели плотности облучаемых продуктов находились в пределах отработанных нами значений (0,3–0,7 г/см³).

Эффективность гамма-облучения рассчитывали по формуле:

$$\mathcal{E} = [(K_n - K_0)/K_n] \cdot 100, \text{ где}$$

\mathcal{E} – эффективность облучения в процентах, K_n – количество микроорганизмов в 1 г необлученного продукта, K_0 – количество микроорганизмов в 1 г продукта после облучения.

Эффективность гамма-облучения составила 80-100% и зависела от начальных уровней его загрязнения и группового состава присутствующих в нем микроорганизмов. Колиформные бактерии (БГКП) устранялись полностью, в то время как сохранялось некоторое число выживших спорообразующих бактерий и плесневых грибов, в основном соответствующее нормативам (таблица 3).

Таблица 3 - Эффективность γ -облучения растительного сырья

Наименование продукта	КМАФАнМ*, в тыс. КОЕ/г		Эффективность, %
	до облучения	после облучения	
Специи:			
перец черный	1850	110	94
перец красный	105	55	48
кориандр	2500	70	97
Сушеные травы:			
петрушка	8300	1450*	83
укроп	12000	300	98
базилик	300	0	100
Овощи:			
капуста сушеная дробленая	110	6,5	94
лук сушеный дробленый	28	0,5	98
Наименование продукта	БГКП, в тыс. КОЕ/г		Эффективность, %
	до облучения	после облучения	
Специи:			
перец черный	0,5	0	100
перец красный	1,6	0	100
кориандр	0	0	-
Сушеные травы:			
петрушка	0	0	-
укроп	0	0	-
базилик	0,05	0	100
Овощи:			
капуста сушеная дробленая	5,8	0	100
лук сушеный дробленый	0	0	-
Наименование продукта	Плесени и дрожжи, в тыс. КОЕ/г		Эффективность, %
	до облучения	после облучения	
Специи:			
перец черный	3,3	0	100
перец красный	60	2,5*	96
кориандр	10		
Сушеные травы:			
петрушка	6,2	0,17	97
укроп	15,6	1,2*	92
базилик	0,35	0	100
Овощи:			
капуста сушеная дробленая	2,7	0,5	81
лук сушеный дробленый	0,12	0	100

* превышение нормативов СанПин 2.3.2.1078-01.

Свежие овощи облучали в упаковках из полимерных материалов барьерного типа (марки «Слава - ТС» со средними барьерными свойствами), толщиной 65-100 мкм.

При радиационной обработке в дозе 2 кГр снизилась обсеменённость свежих овощей (болгарский перец, морковь) с 10^8 - 10^7 КОЕ/г продукта до 10^4 и даже единичных клеток. Количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae* уменьшается с 10^7 КОЕ/г продукта до 10^3 в моркови и единичных клеток у перца. Во всех пробах количество выживших микроорганизмов после облучения не превышает одного процента, кроме плесневых грибов (20 и 45%) (таблица 4).

Таблица 4 - Результаты облучения свежих овощей

Доза ионизирующего излучения	Определённые микробиологические показатели			
	Количество КМАФАнМ, КОЕ/г продукта	Количество плесневых грибов, КОЕ/г продукта	Количество дрожжей, КОЕ/г продукта	Количество бактерий семейства <i>Enterobacteriaceae</i> КОЕ/г продукта
Морковь резаная				
Контроль	$1,4 \cdot 10^8$	<5	$1,7 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^7$
0,5 кГр	$4,1 \cdot 10^5$	6	$1,5 \cdot 10^3$	$8,2 \cdot 10^4$
2,0 кГр	$1,2 \cdot 10^3$	2	$2,2 \cdot 10^1$	$9,7 \cdot 10^2$
Количество выживших микроорганизмов, %	<1	40	<1 <1	
Перец резаный				
Контроль	$2,0 \cdot 10^7$	$2,8 \cdot 10^1$	$1,1 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^7$
0,5 кГр	$1,2 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^1$	$3,1 \cdot 10^1$	$1,3 \cdot 10^6$
2,0 кГр	<7	7	$1,7 \cdot 10^1$	<7
Количество выживших микроорганизмов, %	<1	25	< 1	<1

Какао-порошок облучали на установке ГУР–120 в бумажных мешках, весом 25 кг каждый, по разработанной технологии радиационной обработки продуктов питания в дозах до 10 кГр. Облученные пробы хранились при температуре окружающей среды. Анализ динамики микробиологического загрязнения в процессе хранения продукции продемонстрировал, что положительный эффект сохраняется для показателя КМАФАнМ, дрожжей, плесени и БГКП в течении всех 90 суток. После радиационной обработки, в течение всего времени хранения исследуемых образцов какао-порошка, количество контролируемых микроорганизмов не превышало установленных нормативных требований для данного вида продукции.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Применение методов ионизационной, термолюминесцентной и химической дозиметрии, а также инженерных методов расчета позволяет получить детальное распределение поглощенной дозы в облучаемых биологических объектах и использовать дозиметрические величины для анализа радиобиологических эффектов.

Анализируя зависимости инактивации одних и тех же групп микроорганизмов от величины поглощенной дозы, нетрудно видеть, что эти зависимости специфичны для каждого вида исследованных специй. Отмеченное обстоятельство, по всей видимости, обусловлено значительными различиями таксономического состава микроорганизмов, населяющих разные виды специй, а также свойствами субстрата исследованной растительной продукции.

Причиной нестабильности зависимостей «доза-эффект» может явиться возможность влияния на конечный радиобиологический эффект свойств среды обитания микроорганизмов, которая специфична для каждого вида продуктов растительного происхождения. Среди этих свойств следует выделить потенциально способные модифицировать вид классических зависимостей «доза-эффект», определенных *in vitro* с использованием стандартных суспензий питательных сред. В первую очередь следует обратить внимание на то обстоятельство, что все исследованные растительные субстраты сами по себе обладают разной биологической, антимикробной и антиоксидантной активностью, что может являться причиной модификации зависимостей «доза-эффект», определенных *in vitro*. Нельзя исключить, что фитонциды в условиях воздействия гамма-излучения могут усиливать бактерицидное действие. В нашем случае эта гипотеза находит подтверждение в виде зависимостей инактивации бактерий *E. coli*, полученных *in vitro* (стерилизующая доза ~ 0,8–1,0 кГр) и при облучении бактерий в составе лукового порошка (стерилизующая доза ~ 0,3–0,5 кГр), обладающего мощным антимикробным действием. Наряду с бактерицидными свойствами специй следует также обратить внимание и на их антиоксидантную активность. По всей видимости, нельзя исключить поступление антиоксидантных соединений в микроорганизмы и, соответственно, их участие в процессах перехвата свободных радикалов, образующихся в результате воздействия ионизирующего излучения. Таким образом, представляется вероятным, что различия таксономического состава микроорганизмов, бактерицидная и антиоксидантная активность специй могут существенным образом модифицировать радиобиологические зависимости, установленные *in vitro*, что и нашло отражение в

настоящей работе.

В то же время для подтверждения возможного влияния бактерицидных и антиоксидантных свойств специй на характер зависимостей «доза–эффект» при облучении микроорганизмов необходимо проведение специально спланированных экспериментальных исследований.

Результаты изучения радиационной устойчивости микроорганизмов, обнаруженных в облучаемом сырье, свидетельствуют о том, что поглощенная доза в 10 кГр позволяет снизить КМАФАНМ до необходимых уровней безопасности. Рекомендуемые дозы ионизирующего излучения (ниже 10 кГр) уменьшают количество, но полностью не ингибируют споры патогенных бактерий. Остальные группы микроорганизмов, исследованные нами, при этой поглощенной дозе обнаружены не были.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что разработанная технология обработки сельскохозяйственного растительного сырья, облучаемого изотопными источниками с малыми (по сравнению с промышленными установками) мощностями доз, оказалась оптимальной, но при высокой исходной обсеменённости продукции из-за неполного уничтожения микроорганизмов принятые нормативы качества могут быть не достигнуты и необходимо увеличивать поглощенную дозу.

В процессе экспериментально-производственной апробации радиационной технологии было отобрано ~ 1170 образцов различных видов сельскохозяйственной продукции, поставляемой на продовольственный рынок РФ из Китая, Индии, Египта и Румынии. ~ 95% исследованных проб показали превышения принятых нормативов качества. Недопустимые уровни КМАФАНМ обнаружены в 1017, дрожжей и плесени в 1106 и БГКП в 82 образцах. В результате радиационной обработки, по разработанной в данном исследовании технологии, практически у 100% обработанного сырья микробиологические показатели стали соответствовать установленным нормативам РФ и ТС. Таким образом, показана возможность вовлечения в технологический процесс облучения продуктов питания, исследовательских установок небольшой мощности. Разработанная технология использования ИИ для нужд сельскохозяйственной и пищевой промышленности отмечена золотой медалью на российской агропромышленной выставке «Золотая осень - 2013».

ВЫВОДЫ

1. Эффективность радиационной обработки определяется исходным уровнем обсемененности продукта, таксономическим составом микроорганизмов, входящих в группы БГКП, мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов, грибов и дрожжей, а также бактерицидными и антиоксидантными свойствами среды продуктов растительного происхождения и дозиметрическими величинами (мощность дозы, поглощенная доза).

2. Увеличение плотности вещества в 2 раза приводит к увеличению неравномерности в 4,5 раза. Ослабление излучения на одной из боковых сторон объекта может достигать порядка величины при толщине материала 1 м с плотностью 0,7 г/см³. Разработана система кинематики объектов, которая обеспечивает радиационную обработку по всему объему облучаемой продукции в пределах заданного интервала поглощенных доз.

2. Применение в зависимости от величины мощности дозы и дозы в интервале от 30 Гр до 10 кГр методов ионизационной, термолюминесцентной и химической дозиметрии позволяет получить детальное распределение поглощенной дозы в облучаемых биологических объектах путем размещения детекторов ионизирующего излучения на поверхности и в объеме тех объектов, которые проходят радиационную обработку.

3. Полная инактивация БГКП в продукции растительного происхождения наблюдалась при дозе ~3 кГр. В облученных образцах специй, сушеных трав и овощей инактивация дрожжей и плесневых грибов происходила при облучении с дозой ~7 кГр. Доза 10 кГр достаточна для обеспечения безопасного уровня численности КМАФАнМ.

4. Гамма-облучение в дозе 2 кГр снижает обсеменённость свежих овощей (болгарский перец, морковь) на 3 порядка и даже единичных клеток, количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae* уменьшается на четыре порядка в моркови и до единичных клеток у перца. Не ухудшаются сенсорные свойства и качество продукции. В облученной моркови сохраняется исходное содержание каротиноидов, а в свежем перце - концентрация натурального красителя Е 140.

6. Хранение облученной продукции, в течение 90 суток, не приводит к значительному изменению микробиологических показателей и соответствует нормативным требованиям. Полученные данные позволяют говорить, что популяция микроорганизмов в облученных продуктах характеризуется сниженной

метаболической и ростовой активностью, что обеспечивает более длительные сроки хранения.

7. Полученные результаты рекомендуются для практического внедрения в коммерциализацию гамма-установок небольшой мощности при проведении облучения с поглощенными дозами до 10 кГр. Технология была апробирована в экспериментально-производственном процессе радиационной обработки пряностей, сушеных трав и овощей с производительностью более чем 400 т в год.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Пименов, Е.П. Исследование эффективности радиационной стерилизации растительного сырья с использованием установки ГУР-120 / Е.П. Пименов, А.Н. Павлов, Г.В. Козьмин и др. // Радиация и риск. 2013. –Т. 22. – № 4. – С. 37-42
2. Алексахин, Р.М. Перспективы использования радиационных технологий в агропромышленном комплексе Российской Федерации / Р.М. Алексахин, Санжарова Н.И., Козьмин Г.В., Гераськин С.А., Павлов А.Н // Вестник РАЕН. 2014. – № 1. – С. 78–85.
3. Козьмин, Г.В. Перспективы развития рынка радиационных технологий в сельском хозяйстве и перерабатывающей промышленности / Г.В. Козьмин, Н.И. Санжарова, И.И. Кибина, Павлов А.Н. // Экономика сельскохозяйственных и перерабатывающих предприятий. – 2015. – № 8. – С. 30-34.
4. Козьмин, Г.В. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Г.В. Козьмин, Н.И. Санжарова, И.И. Кибина, А.Н. Павлов, В.Н. Тихонов // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29. – № 5. – С. 87-92.
5. Козьмин, Г.В. Развитие рынка радиационных технологий в АПК РФ / Г.В. Козьмин, Н.И. Санжарова, И.И. Кибина, А.Н. Павлов // Вестник РАЕН. – 2015. – № 4. – С. 24-30.

Коллективные монографии:

6. Научные основы применения радиационных технологий в сельском хозяйстве / Санжарова Н.И., Гераськин С.А., Исамов Н.Н., Козьмин Г.В., Лой Н.Н., Павлов А.Н., Пименов Е.П., Цыгвинцев П.Н. Обнинск: ВНИИСХРАЭ, 2013. – 133 с.
7. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Г.В. Козьмин, С.А. Гераськин, Н.И. Санжарова и др. [Павлов А.Н.]. Обнинск-Москва: ООО Информполиграф, 2015. – 400 с.

Работы, опубликованные в других изданиях

8. Изменение в структуре микроорганизмов при гамма-облучении специй / Пименов Е.П., Павлов А.Н., Морозова А.И. и др. // VII Съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность): тез. докл. Москва, 21-24 октября 2014г. /М., 2014. С. 310
9. Использование молекулярной масс-спектрометрии для характеристики радиационного облучения как метода стерилизации микроорганизмов в пищевых продуктах / Козьмин Г.В., Зякун А.М., Лыков И.Н., Кобялко В.О., Захарченко В.Н., Баскунов Б.П., Лауринавичюс К.С., Пешенко В.П., Дорончев Ф.В., Павлов А.Н. // VII съезд Всероссийского масс-спектрометрического общества (VMCO) в рамках VI Всероссийской конференции с международным участием: Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы. Москва (пос.

Московский), 12-17 октября 2015 г.: Тез. докл. Секция: Применение масс-спектрометрии для аналитических целей. АС-11.

10. Павлов, А.Н. Исследование доз гамма-излучения на установке ГУР-120 при радиационной обработке сельскохозяйственного сырья / А.Н. Павлов, М.В. Максимова, Е.В. Спирин // ВАНТ. Сер. Техническая физика и автоматизация. 2013. Вып. 67. Ч. 1. С. 140-147.

11. Пименов, Е.П. Эффективность применения гамма-облучения на установке ГУР-120 для деконтаминации сушеных растительных продуктов (зелени, специй и овощей) / Е.П. Пименов, А.Н. Павлов // ВАНТ. Сер. Техническая физика и автоматизация. 2013. Вып. 67. Ч. 1. С. 134-139.

12. Радиационные агробiotехнологии: исследования микробиологической безопасности и качества облучённой продукции / Козьмин Г.В., Кобялко В. О., Лыков И.Н., Саруханов В.Я., Зякун А.М., Павлов А.Н., Николаева Т.С., Фролова Н.А., Логинов А.А. / Труды регионального конкурса научных проектов в области гуманитарных наук. Вып. 20. / РФФИ; Правительство Калужской обл., Мин. образования и науки Калужской обл. Калуга: Калужский государственный институт развития образования, 2015. С. 216-225.

13. Радиационная обработка продуктов животного и растительного происхождения в целях микробиологической безопасности / Санжарова Н.И., Павлов А.Н., Пименов Е.П. и др. // Вопросы атомной науки и техники. 2015. Сер. Техническая физика и автоматизация. Вып. 71. С. 65-72.

14. Радиационные агробiotехнологии: исследования микробиологической безопасности и качества облученной продукции / Козьмин Г.В., Павлов А.Н., Пименов Е.П. и др. / Генетическая интеграция прокариот и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии: Тез. Междунар. конф., посвящ. 85-летию Федерального государственного бюджетного научного учреждения Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ). Санкт-Петербургский научный центр РАН, Санкт-Петербург, 24-27 июня 2015 г. СПб., 2015. С. 34.

15. Pavlov, A.N. Death of spice microorganisms at different doses of gamma-radiation / A.N. Pavlov, A.I. Morozova // Applications of Nuclear and Related Techniques: Intern. Symp. on Food Safety and Quality: IAEA, Vienna, Austria, 10-13 November: Book of Abstracts. IAEA-CN-222/106. / Joint FAO/IAEA Programme: Nuclear Techniques in Food and Agriculture. 50 years, 1964-2014. Vienna, 2014. P. 84.