

Метод ИК спектроскопии в исследовании облученной мышечной ткани свинины и ее составляющих

Д-р хим. наук **А.П. Нечипоренко**, allanech2512@yandex.ru
канд. техн. наук **С.М. Орехова**, канд. техн. наук **В.Е. Ситникова**, **А.В. Бушуева**,
д-р техн. наук **М.В. Успенская**

*Университет ИТМО
197101, Россия, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49*

Одним из современных способов, позволяющих повысить в несколько раз сроки длительного хранения мясопродуктов в свежем виде, является их обработка ионизирующими излучениями. В работе исследовали методом ИК спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения влияние облучения быстрыми электронами в режимах радуризации (6,5–25,0 кГр) на оптические характеристики протеиновых компонентов измельченной нативной мышечной ткани свинины и ее основных твердофазных составляющих (мышечного волокна, стромы, белков стромы) и прошедшей до измельчения контактную обработку (10 мин) 40% этанолом в цельно кусковом виде. В пострadiационный период образцы подвергались последовательному фракционированию экстракцией водно-солевыми и щелочным экстрагентами, в основе которого лежит иерархическая последовательность в растворимости глобулярных, миофибриллярных белков и белков стромы. Выделенные твердофазные составные части мышечной ткани проходили сублимационную сушку при -30°C и исследовались методом колебательной спектроскопии в диапазоне $4000\text{--}600\text{ см}^{-1}$ на Фурье-спектрометре Tensor-37. Показано, что зависимости изменения оптических свойств белковых компонентов, которые контролировались по интенсивности, форме и положению полос Амид-I и Амид-II, имели периодический характер и зависели не только от величины дозы излучения, поглощенной мышечной тканью, но и от того, компонентом какой фракционированной составной части они являлись. Отмечено, что в спектрах белков стромы, для которых типично положение полос при 1640 и 1563 см^{-1} , после облучения появляется полоса полипептидов (1590 см^{-1}), свидетельствующая о частичном разрушении их фибрилл. Эти же полосы наблюдались в спектрах мышечной ткани и волокна, прошедших обработку этанолом, после облучения дозой $12,5\text{ кГр}$. Предварительная обработка этанолом мышечной ткани в цельно кусковом виде приводит к стабилизации протеиновых структур.

Ключевые слова: мышечная ткань; электронно-лучевое облучение; инфракрасная спектроскопия отражения.

DOI: 10.17586/2310-1164-2020-10-3-3-20

IR spectroscopy method in the study of irradiated pork muscle tissue and its components

D. Sc. **Alla P. Nechiporenko**, allanech2512@yandex.ru
Ph. D. **Svetlana M. Orekhova**, Ph. D. **Vera E. Sitnikova**, **Anastasia V. Bushueva**,
D. Sc. **Maya V. Uspenskaya**

*ITMO University
49, Kronverksky ave., St. Petersburg, 197101, Russia*

One of the modern methods that allows to increase the long-term storage of meat products in fresh form by several times is their treatment with ionizing radiation. The purpose of this work was to study by IR spectroscopy of the disturbed total internal reflection of the effect of fast electron irradiation in radurization modes (6.5–25.0 kGr) on the optical characteristics of protein components of crushed native pork muscle tissue and its main solid-phase components (muscle fiber, stroma, and stroma proteins) and contact treatment (10 minutes) with 40% ethanol in a whole lump form. During the irradiation period, the samples were subjected to sequential fractionation by extraction with water-salt and alkaline extractants, which is based on a hierarchical sequence in the solubility of globular, myofibrillar, and stroma proteins. The isolated solid-phase components of muscle tissue were freeze-dried at -30°C and studied by vibrational spectroscopy in the range of $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ on a Fourier spectrometer Tpsog-37. Studies have shown that the dependences of changes in the optical properties of protein components, which were controlled by the intensity, shape, and position of the Amide-I and Amide-II bands, were periodic in nature and depend not only on the amount of radiation dose absorbed by the muscle tissue, but also on which component of the fractionated component they are. It is noted that in the spectra of stroma proteins, for which the position of the bands at 1640 and 1563 cm^{-1} is typical, a band of polypeptides (1590 cm^{-1}) appears after irradiation, indicating partial destruction of their fibrils. The same bands were observed in the spectra of muscle tissue

and fiber treated with ethanol after irradiation with a dose of 12.5 kGr. Pretreatment of muscle tissue with ethanol in whole chunks leads to stabilization of protein structures.

Keywords: muscle tissue; electron-beam irradiation; infrared reflection spectroscopy.

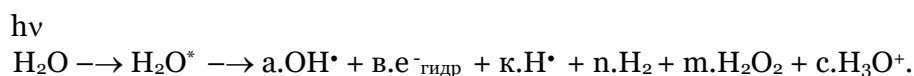
Введение

Научный и практический интерес ученых многих лабораторий мира к ионизирующим излучениям (гамма, рентгеновское, быстрые электроны), работающих в различных сферах производства и хранения пищевой продукции, не снижается уже в течение нескольких десятилетий и обусловлен, прежде всего, их антибактериальной, стерилизующей функцией, позволяющей не только уничтожить микрофлору, но и увеличивать в 5–6 раз сроки хранения скоропортящихся продуктов в свежем виде без заметной потери качества [1–4]. Такой суммарно эффективной и привлекательной возможности не дает ни один из известных современных методов. Сегодня радиационную стерилизацию используют при хранении скоропортящихся изделий из мяса, рыбы, морепродуктов, ягод, фруктов и другой продукции [5–7], при производстве пищи для космонавтов, больных, нуждающихся в стерильной диете, медицинских материалов и изделий (хирургические нити, одноразовые шприцы и пр.) [8, 9].

Неоценимые экспериментальные данные, полученные в 60–80-е годы прошлого столетия [10–14], позволили выявить сущность радиационно-химических реакций, понять и объяснить их общие механизмы, сделать ряд общих практических выводов [10], которые следуют из обширнейшего числа оригинальных публикаций (десятки тысяч за 70 лет!) по влиянию облучения на пищевые продукты, из сотен обзорных статей, диссертаций и монографий.

Однако на сегодняшний день нет полной и единой теории, описывающей механизм радиобиологического действия излучения. Наиболее универсальной, объединяющей два существующие теоретические направления, – прямого и косвенного воздействия, признана теория, предложенная в 1965 г. русским ученым А.М. Кузиным [13, 15, 16]. Прямое воздействие проявляется, в основном, при обработке продуктов в сухом виде. Косвенное воздействие ионизирующего излучения передается на другие компоненты облучаемой системы через воду и является главным, поскольку подавляющее большинство продуктов питания содержит в своем составе воду. Оно проявляется сильнее, чем прямое воздействие излучения и является единственной причиной тех химических изменений в пищевых продуктах, благодаря которым при консервировании облучение и достигает нужной цели. В основе теории косвенного влияния излучения лежит цепочечный механизм дискретного и селективного радикального воздействия продуктов радиолиза воды ($H\cdot$, $OH\cdot$, гидратированный электрон – $e_{гдр}^-$) [17] на разные компоненты биологического материала.

Доминирующая роль воды в косвенном влиянии излучения объясняется тем, что возбужденные и ионизированные при облучении молекулы воды подвергаются распаду, радиолизу по упрощенному уравнению



Радикалы, возникающие в процессе радиолиза воды, обладают повышенной химической активностью. В результате в облучаемом материале генерируются продукты первичного радиолиза его компонентов – первичные органические радикалы [9, 10]. Начальная стадия радиолиза компонентов биологического материала, то есть образование первичных органических радикалов разных по своей химической природе, – процесс достаточно беспорядочный. Эта хаотичность обусловлена случайными или вынужденными контактами разнообразных компонентов облучаемого продукта с очень активными продуктами радиолиза воды в местах их мгновенного возникновения при воздействии лучистой энергии. Появление первых органических радикалов вызывает процессы вторичного радиолиза – также множество разнообразных, но уже не беспорядочных, а направленных и системных цепных реакций (длинных или коротких), протекающих, в основном, вдоль треков этих первичных частиц. Последние приводят к образованию новых радикалов разной устойчивости и изменению структурно-химических свойств. Процесс протекает во времени и сопровождается снижением и стабилизацией осциллирующей активности тканевых ферментов – протеаз [18], инициирующих процесс автолиза компонентов биологического материала. Это обуславливает наличие двух взаимосвязанных противоположно

направленных периодических процесса – повреждения в результате радиационно-индуцируемой свободно радикальной фрагментация и восстановления у всех структурных элементов облучаемого объекта. Именно характер доминирующих процессов вторичного радиолиза, зависящих как от качества и природы материала, так и от технологического режима его радиационной обработки, предопределяет интенсивность и преимущественную направленность автолитических процессов, микробиологическое состояние и сроки пострадиационного хранения.

Метод облучения быстрыми электронами, примененный в данной работе [19], основан на использовании потока электронов, ускоренных в электрическом поле, с магнитной фокусировкой электронного пучка. Основным параметром, характеризующим степень облучения, является величина поглощенной дозы излучения, которая измеряется в Гр: $1 \text{ Гр} = 1 \text{ Дж/кг}$ и для каждого вида продукции для достижения определенных целей регламентируется международными стандартами ВОЗ [20].

В различных технологиях производства мясной продукции, в том числе и радиационных [21–23], широко применяются водно-спиртовые экстракты растительного сырья, содержащего природные антиоксиданты. В ряде работ отмечено положительное влияние кратковременной контактной обработки 70–75% этанолом на органолептические и микробиологические показатели стейков и фаршей в процессе последующего хранения при низких положительных температурах в упаковке с модифицированной атмосферой. В данной работе на основании предварительных опытов [24, 25] для контактной обработки целно кусковой мышечной ткани выбран раствор 40% этанола.

Целью данной работы являлось сравнительное исследование методом инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (ИКС НПВО) влияния облучения пучком быстрых электронов в режимах радиуризации и предварительной обработки мышечной ткани в целно кусковом виде 40% этанолом на оптические характеристики измельченной мышечной ткани и выделенных из нее мышечного волокна, стромы и белков стромы.

Объекты и методы исследования

В данной работе объектом исследования являлись две серии облученных двукратно механически измельченных ($d = 2,5 \text{ мм}$) лифилезованных образцов, полученных из

- интактной (не подвергавшейся обработке этанолом) препарированной мышечной ткани свинины (Серия–I);
- прошедшей до измельчения предварительную контактную (погружение в раствор при экспозиции 10 мин) обработку 40% раствором этанола в целно кусковом виде (Серия–II).

Материалом для исследования служила длиннейшая мышца спины свинины (фермерское производство Новгородской обл., белая порода). После соответствующей предварительной подготовки образцы мышечной ткани измельчались, упаковывались ($m \approx 10 \text{ г}$) в ячейки планшетов из полиэтилентерефталатной пленки с влаго-газозащитным покрытием (поставщик – компания «Охта», Санкт-Петербург), термически герметизировались и подвергались облучению пучком быстрых электронов мощностью 0,9 МэВ на средне энергетическом ускорителе РТЭ-1В в НТК «Ядерная физика» Санкт-Петербургского политехнического университета при варьировании поглощенной дозы излучения в диапазоне 6,25–25,00 кГр (режим радиуризации).

В пострадиационный период герметизированные образцы хранились в холодильной камере при $4 \pm 1^\circ\text{C}$, а перед исследованием подвергались фракционированию на составные части: мышечное волокно, строма, белки стромы. Это позволяет отслеживать влияние дозы излучения, поглощенной мышечной тканью, на контрактивные белки, соединительную ткань, белки стромы, находящихся в ее составе, а также влияние этанола на процессы, протекающие при обработке и облучении в объектах исследования. Параллельно исследовались образцы, не подвергавшиеся облучению.

Выделение составных частей из образцов измельченной мышечной ткани обеих серий, основанное на иерархической последовательности в растворимости белков [7, 26], проводилось по схеме:

- мышечное волокно получали из мышечной ткани многократной экстракцией в течение 4-х часов саркоплазмы (водорастворимой части, содержащей вещества всех классов), включающей глобулярные белки (альбумины, глобулины), до получения прозрачных вод (гидромодуль – 1/10);
- строму (соединительную ткань, состоящую из белковой и углеводной компонент) получали удалением из мышечного волокна сократительных белков – актина, миозина, тропомиозина

двукратной обработкой солевым раствором Вебера (NaCl 10%) на холоде с последующим отмыванием экстрагента дистиллированной водой;

– выделение белков стромы, в основном коллагена и эластина (соединительнотканых белков) осуществляли экстракцией из стромы мукополисахаридов (углеводного структурного элемента соединительной ткани) 0,6 М раствором NaOH на холоде с последующей отмывкой растворителя дистиллированной водой.

После фракционирования выделенные твердофазные составные части мышечной ткани подвергались лиофилизации с использованием сублимационной сушки Triad 7400030, (Labconco, США) в течение 72 часов при температуре -30°C и давлении вакуума 165 Па.

Колебательные спектры лиофилизированных образцов (32 скана) получали методом ИК спектроскопии НПВО на Фурье-спектрометре Tensor 37 фирмы Bruker (Германия) с алмазным НПВО-элементом, управляемым программным пакетом OPUS со стандартными градуировочными возможностями, в диапазоне частот $4000\text{--}600\text{ см}^{-1}$ в формате поглощения $A = f(\nu, \text{см}^{-1})$, где $A = \log(100/R)$ – поглощение, ν – волновое число, см^{-1} ; R – коэффициент отражения, %.

Результаты и их обсуждение

С появлением современных Фурье-спектрометров [27, 28] с программным управлением и компьютерной обработкой данных, за последние два–три десятилетия к методу ИК спектроскопии резко возрос интерес в различных научно-практических направлениях, в том числе в экспериментальной и клинической медицине – исследования качественных и количественных характеристик биологических тканей на уровне нанотехнологий. В области исследования пищевого сырья и его продукции до недавнего времени этот метод практически не применялся. Это связано с тем, что, независимо от класса компонентов и их структурных блоков, одноименные функциональные группировки, как правило, проявляются в одном и том же частотном интервале электромагнитного спектра [29, 30], что затрудняет интерпретацию. Однако мышечная ткань животного происхождения представляет собой сложные многокомпонентные и многообразные комплексы, в состав которых могут входить белковые, липидные, углеводные компоненты или их фрагменты, достаточно хорошо идентифицируемые методом колебательной спектроскопии [31, 32].

Одним из существенных недостатков нативных биологических тканей для метода ИК спектроскопии является присутствие в них воды, в той или иной степени маскирующей функциональные группировки практически всех компонентов, и которой в мясном сырье достаточно много. Это наглядно иллюстрируют спектры (рисунок 1) измельченных образцов свежее охлажденной измельченной мышечной ткани свинины и ее основных твердофазных составляющих, полученных в результате последовательных водно-солевой и щелочной обработок. Обращает на себя внимание низкая проявленность основных полос в спектрах всех рассматриваемых образцов. Наиболее интенсивные полосы с максимумами 3350 и 1637 см^{-1} характерны для валентных и деформационных, соответственно, колебаний ОН-групп в спектре воды.

Однако в состав интенсивной высокочастотной полосы, присутствующей в спектрах всех образцов, в области $3400\text{--}3220\text{ см}^{-1}$, часто накладываясь друг на друга, могут регистрироваться колебания ОН- и NH-группировок строительных блоков всех водорастворимых и нерастворимых компонентов (белков, углеводов и др.) саркоплазмы, мышечного волокна, стромы, белков стромы. Солевая экстракция белкового актомиозинового комплекса (кр. 3) и щелочная экстракция мукополисахаридной (кр. 4) составляющей стромы, вызывают увеличение интенсивности полос 3350 см^{-1} и высокочастотный сдвиг, связанный с повышенной влагосвязывающей способностью коллагена стромы. Полосы в области $3010\text{--}2800\text{ см}^{-1}$ характерны для колебаний C-H -группировок, присутствующих в составе веществ всех классов. На спаде левой и правой ветвей полосы деформационных колебаний ОН-групп молекул воды (1637 см^{-1}) слабо проявлены полосы карбоксильных -COOH (1743 см^{-1}) жирных кислот в составе триглицеридов и карбоксилатных групп $>\text{C=O}$ (1553 см^{-1}) белковых структур.

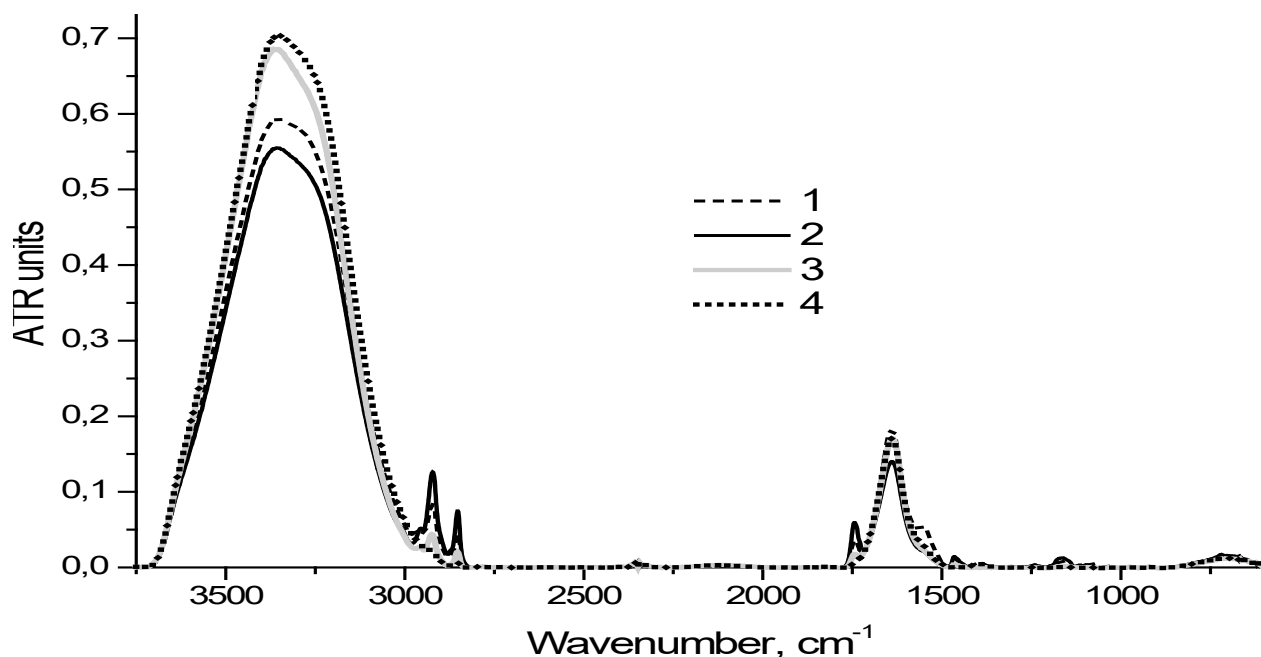


Рисунок 1 – ИК спектры свежееохлажденной измельченной мышечной ткани свинины (1) и ее основных составляющих: 2 – мышечного волокна; 3 – стромы; 4 – белков стромы
 Figure 1. IR spectra of freshly cooled ground pork muscle tissue (1) and its main components: 2 – muscle fiber; 3 – stroma; 4 – the proteins of the stroma

Как показали предварительные опыты, исследования методом ИКС НПВО наиболее информативны при использовании в эксперименте мышечной ткани животного происхождения в лиофилизированном состоянии, что способствует проявлению функциональных группировок, достаточно ярко отражая суть процессов, имеющих место при проведении последовательных экстракций, и при этом заметно изменяет фактуру ИК спектра в целом. Сублимационная сушка образцов, полученных фракционированием измельченной свежееохлажденной мышечной ткани (Серия I), как следует из рисунка 2, во всех случаях приводит к проявлению и дифференциации характеристических полос в области поглощения карбонил (C=O) Амид-I (1638–1640 cm^{-1}) и Амид-II (1529–1534 cm^{-1}) и индивидуализирует спектр во всем исследуемом диапазоне частот.

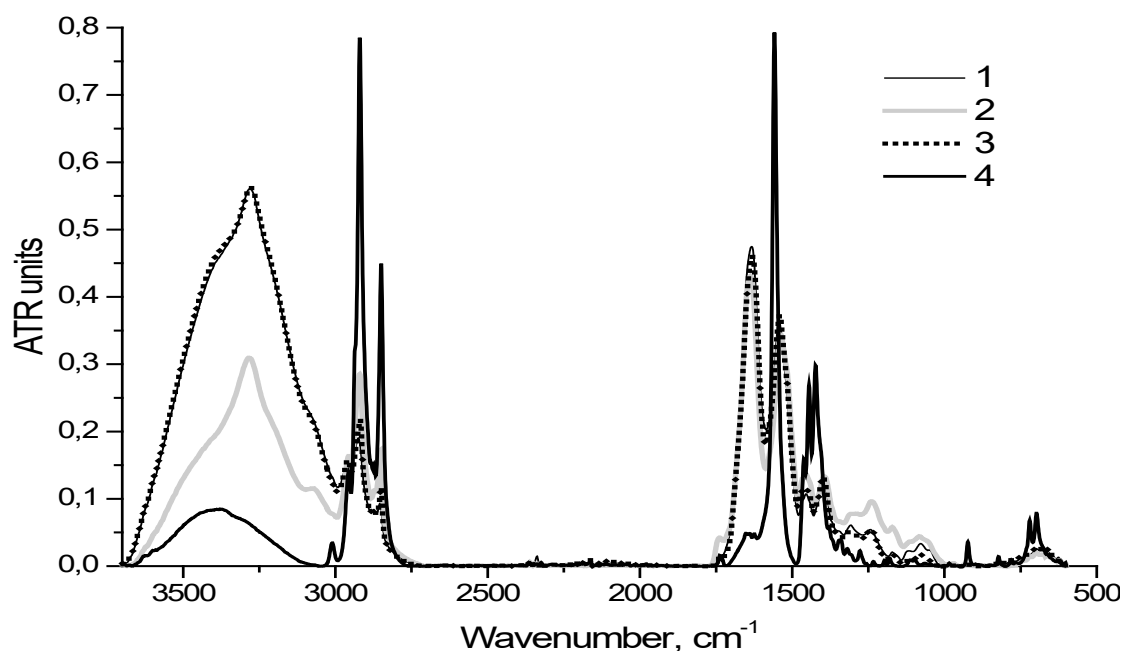


Рисунок 2 – ИК-спектры лиофилизованной интактной мышечной ткани свинины: 1 – мышечная ткань; 2 – строма; 3 – мышечное волокно; 4 – белки стромы (Серия I)
 Figure 2. IR spectra of lyophilized intact pork muscle tissue: 1 – muscle tissue; 2 – stroma; 3 – muscle fiber; 4 – stroma proteins (Series I)

Заметные изменения вызывает солевая обработка мышечного волокна (кр. 2), в связи с извлечением белков актомиозинового комплекса – понижение спектра практически во всем исследуемом диапазоне частот с небольшим высокочастотным сдвигом полос поглощения карбонильных групп Амид-II из положения 1529 см^{-1} в положение 1559 см^{-1} . Напротив, удаление мукополисахаридной компоненты стромы щелочным экстрагентом (кр. 4), приводит к увеличению интенсивности большинства полос, описывающих суммарный спектр ее белков – коллагена и эластина, и проявлению в протеиновой области дублета полос необычной формы – с очень интенсивной узкой полосой в области Амид-II и «аномально» низкой в области Амид-I. Среди отличительных особенностей кривой светопоглощения белков стромы следует отметить узкую малоинтенсивную полосу при $879,30\text{ см}^{-1}$, принадлежащую аминокислоте оксипролину присутствующую только в коллагене и доминирующую в его составе. Серия слабых полос в области $1500\text{--}1000\text{ см}^{-1}$, наблюдаемых в спектрах всех образцов, могут быть связаны с проявлением деформационных колебаний N–H, C–N, C–O и C–O–C связей любых компонентов. В области $3010\text{--}2850\text{ см}^{-1}$ – на спаде правой ветви высокочастотного максимума будут присутствовать валентные колебания C-H -группировок также всех компонентов всех составных частей мышечной ткани.

На рисунке 3 представлены ИК спектры образцов соответствующих составных частей мышечной ткани свинины, прошедшей до измельчения предварительную контактную обработку в цельно кусковом виде 40% раствором этанола. Сопоставление с данными, приведенными на рисунке 2, убедительно говорит о том, что при поверхностной обработке этанолом цельно кусковой мышечной ткани имеют место существенные изменения всех компонентов в ее объеме (insity), на что указывает после измельчения и фракционирования более усредненный общий вид спектров всех ее лиофилизированных составных частей.

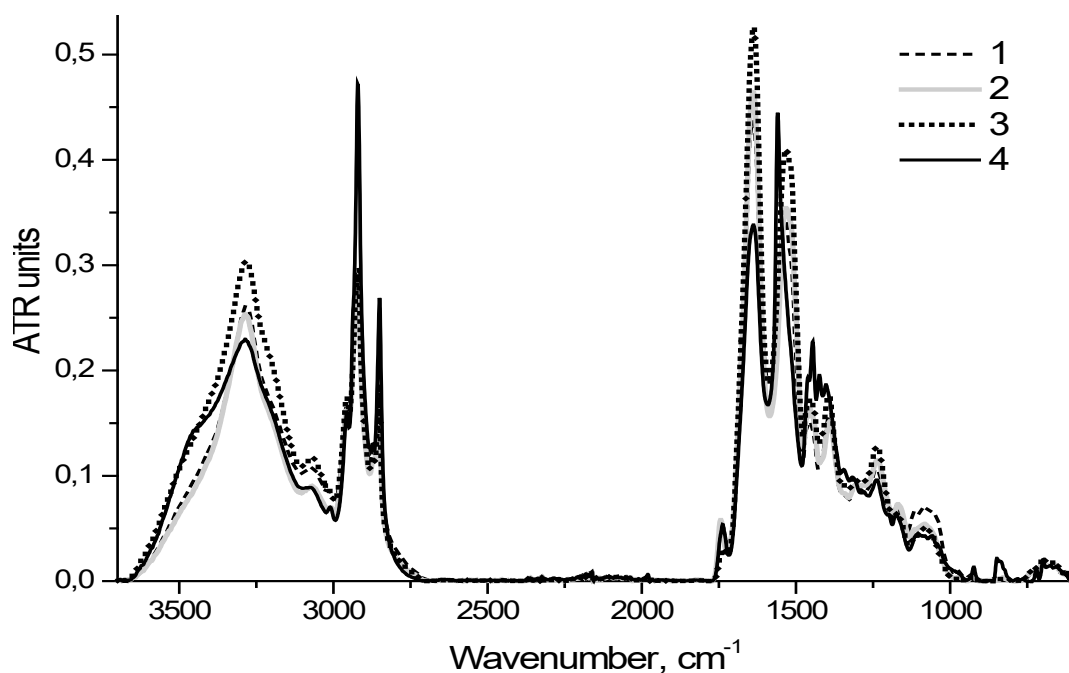


Рисунок 3 – ИК спектры мышечной ткани свинины, обработанной 40% этанолом:
1 – мышечная ткань; 2 – мышечное волокно; 3 – строма; 4 – белки стромы (Серия II)

Figure 3. IR spectra of pork muscle tissue treated with 40% ethanol:
1 – muscle tissue; 2 – muscle fiber; 3 – stroma; 4 – stroma proteins (Series II)

Более детальное рассмотрение увеличенных фрагментов протеиновой области (рисунок 4) для образцов обеих серий позволяет отметить следующее:

– наиболее заметно, как отмечалось выше, от всех остальных (рисунок 4а) отличается спектр белков стромы (кр. 4) с интенсивным узким максимумом при 1563 см^{-1} и небольшой широкой полосой в области 1650 см^{-1} . Это спектр изолята пула белков стромы со спонтанно сформированной структурой, после освобождения от мукополисахаридной связки. Спектр стромы, состоящей из ее белков и углеводной составляющей, не дающей в данной области дублета полос, позволяют говорить о том, что

наличие дублета в спектре стромы обязано белкам стромы, которые в связанном состоянии присутствуют в другой структурной форме, спектрально более близкой к белкам иных категорий;

– данное предположение подтверждают данные, представленные на рисунке 4б – обработка мышечной ткани этанолом, очевидно, приводит к частичной стабилизации структуры белков стромы, которую они имели в ее составе, снижая их возможность к агрегации при переходе в изолированное состояние. Об этом говорит уменьшение интенсивности полосы 1563 см^{-1} и значительное увеличение интенсивности полосы Амид-I;

– полосы Амид-I и Амид-II в спектрах остальных составных частей интактной мышечной ткани, располагаясь по интенсивности в последовательности 1, 3, 2, 4, испытывают разнонаправленный сдвиг; обработка этанолом приводит к изменению формы и небольшому bathochromному сдвигу полос Амид-II, последовательности расположения полос Амид-I по интенсивности (3, 2, 1, 4). Некоторое снижение интенсивности полосы Амид-I в спектре мышечной ткани после обработки этанолом и увеличение в спектрах мышечного волокна и стромы может говорить об увеличении растворимости, соответственно, саркоплазматических белков и снижении миофибриллярных и стромы. Уменьшение количества растворимых белков авторы [33–35] объясняют как частичной денатурацией, так и фрагментацией белковых молекул, связанной с образованием новых белковых фракций в результате процессов агрегации частично денатурированных белков.

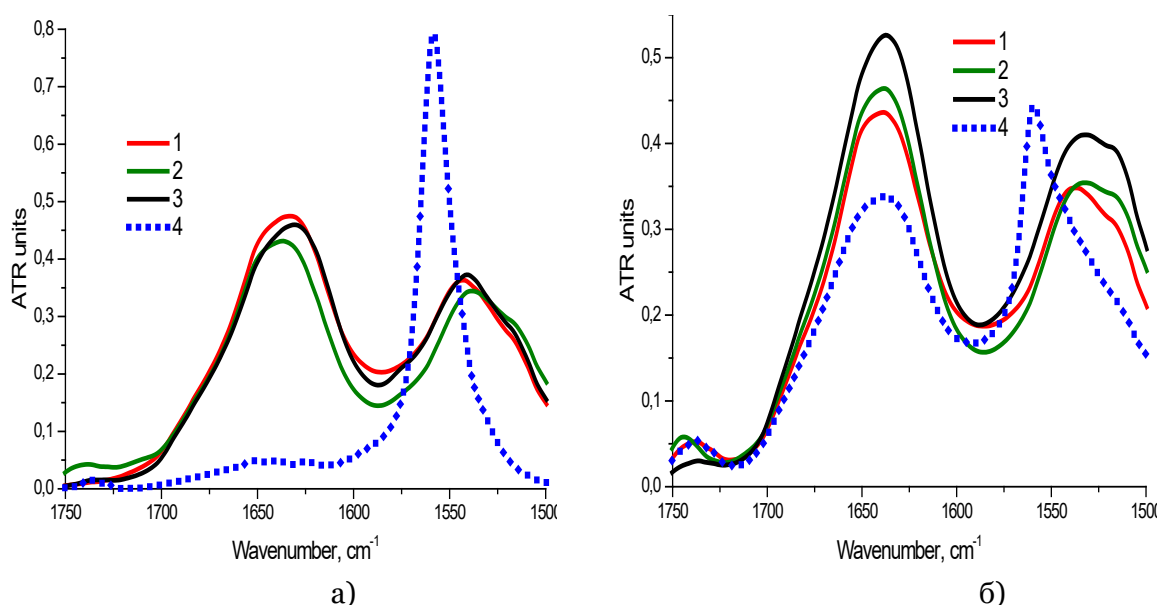


Рисунок 4 – Фрагменты ИК спектров ($1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$): а) Серия I; б) Серия II;
 1 – мышечная ткань; 2 – мышечное волокно; 3 – строма; 4 – белки стромы
 Figure 4. Fragments of IR spectra ($1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$): а) Series I; б) Series II;
 1 – muscle tissue; 2 – muscle fiber; 3 – stroma; 4 – proteins of the stroma

Результаты исследования показали, что обработка поверхности целно кусковой мышечной ткани свинины этанолом по цепочечному механизму оказывает существенное, но неоднозначное влияние на реорганизацию структурных связей всех ее составных частей и их протеиновых компонентов в объеме биологического материала. Наиболее яркие изменения, как следует из рисунка 4, испытывают белки стромы.

Влияние облучения электронным пучком мышечной ткани Серий I и II на белки стромы в ее составе в зависимости от поглощенной дозы иллюстрируют фрагменты протеиновой области их спектров на рисунках 5а и 5б. Образцы получены фракционированием мышечной ткани обеих серий через сутки после облучения. Следует отметить, что положение полосы Амид-II – 1563 см^{-1} остается неизменным независимо от поглощенной дозы. Положение максимума более широкой полосы Амид-I меняется в пределах $1650\text{--}1640\text{ см}^{-1}$. Обращает на себя внимание наличие прогиба в большинстве спектров в области 1590 см^{-1} , отсутствующего в необлученных образцах. Зависимости изменения интенсивности полос Амид-I и Амид-II от величины поглощенной дозы излучения, представленные на рисунке 5в, показывают их антибатное изменение для образцов обеих серий при дозе $6,5\text{ кГр}$, указывающее на стабилизирующее влияние этанола, которое нивелируется с увеличением дозы. Однако

антибатность в изменении интенсивности дублета полос Амид-А при этом сохраняется – снижение полосы Амид-В вызывает увеличение интенсивности полосы Амид-А.

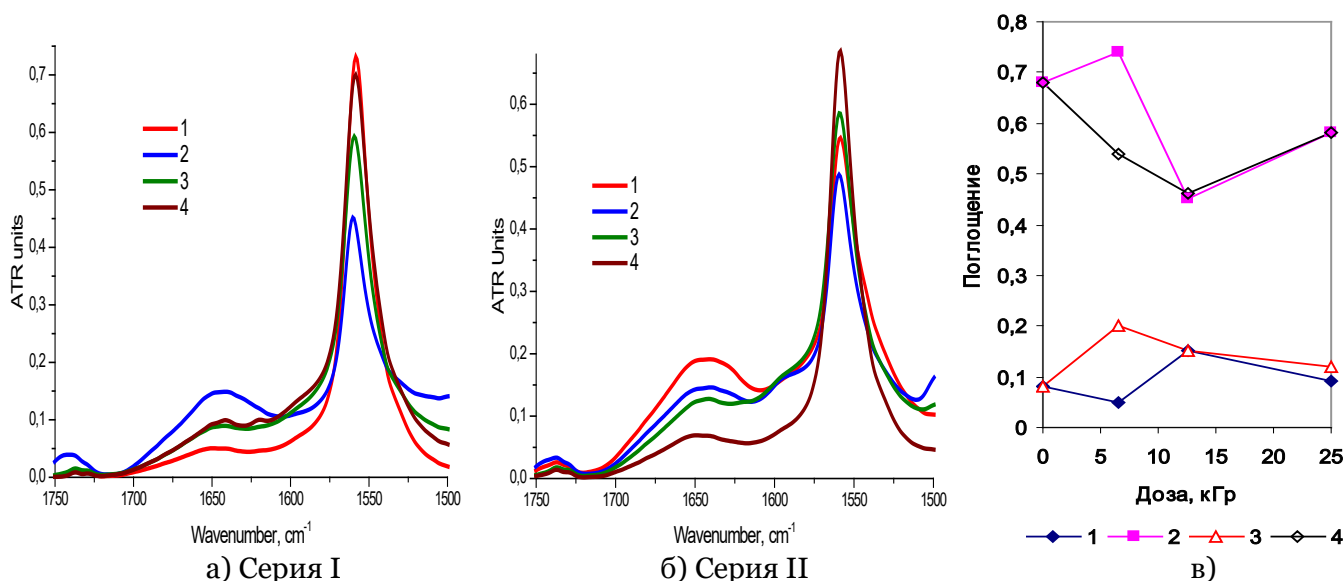


Рисунок 5 – Фрагменты (1750–1500 см⁻¹) ИК спектров белков стромы, выделенных из облученной мышечной ткани: 1 – 6,5; 2 – 12,5; 3 – 25,0; 4 – 0,0 кГр; в) зависимости интенсивности полос от поглощенной дозы излучения: Серия I (1, 2), Серия II (3, 4); Амид-А (1, 3), Амид-В (2, 4)

Figure 5. Fragments (1750–1500 cm⁻¹) of IR spectra of stroma proteins isolated from irradiated muscle tissue: 1 – 6.5; 2 – 12.5; 3 – 25.0; 4 – 0.0 kGr; в) dependence of absorption on radiation dose: Series I (1, 2), Series II (3, 4); Amide-A (1, 3), Amide-B (2, 4)

Влияние облучения интактной мышечной ткани на протеиновые компоненты ее составляющих в зависимости от величины поглощенной дозы показано на рисунке 6. Образцы фракционировались через неделю после облучения, когда уже более заметны изменения в компонентах мышечной ткани, но еще не начался естественный процесс автолиза, затормаживаемый первичными радикальными реакциями радиолитических компонентов биологического материала. По сравнению со спектрами в этой области образцов необлученной мышечной ткани Серии-А (рисунок 4а) при электронно-лучевой обработке заметно меняется последовательность расположения кривых, положение обеих полос и их форма в зависимости не только от величины поглощенной дозы, но и от того, компонентом какой твердофазной составной части мышечной ткани они являются.

В спектрах белков стромы при неизменном положении полоса 1563 см⁻¹ снижается по интенсивности, но при этом растет полоса 1640 см⁻¹ и появляется третья полоса при 1590 см⁻¹, характерная для полипептидов [36], что указывает на частичное разрушение фибрилл соединительнотканых белковых структур. Похожий эффект вариации интенсивности полос 1640 и 1563 см⁻¹ в спектре белков стромы наблюдался ранее при обработке мышечной ткани этанолом (рисунок 4б), но при этом не отмечено появление полосы пептидов.

Считается, что белки, по сравнению с другими компонентами мышечной ткани, значительно более стойки к прямому (в отсутствие воды) действию ионизирующего излучения [37, 38]. Влияние же косвенного воздействия радиации (в присутствии продуктов радиолитической воды) более заметно и разнообразно: с одной стороны оно выражается в перегруппировке части звеньев полипептидных цепей и структурных изменениях, характерных для денатурационных явлений (понижение растворимости, агрегация, сшивка и др.), с другой – происходит частичная деполимеризация белковых частиц. Сшивание и деструкция белковых полимеров происходят одновременно [15, 16, 39], но соотношение скоростей этих процессов зависит от химической структуры молекулы, ее физического состояния, условий облучения и от показателя рН среды, значение которого меняется в пострационационный период при хранении образцов [25]. Вблизи изоэлектрической точки, например, эффект облучения почти полностью выражается в агрегации белковых молекул. Удаление рН от изоэлектрической точки увеличивает вероятность внутримолекулярных изменений белков. Внутри и межмолекулярные преобразования белков приводят не только к изменению растворимости, но к изменениям их гидрофильной и влагоудерживающей способности. Частичная денатурация и деполимеризация белков являются

одним из неизбежных результатов облучения. Однако при дозах радиуризации фракция денатурированных белков обычно невелика [37].

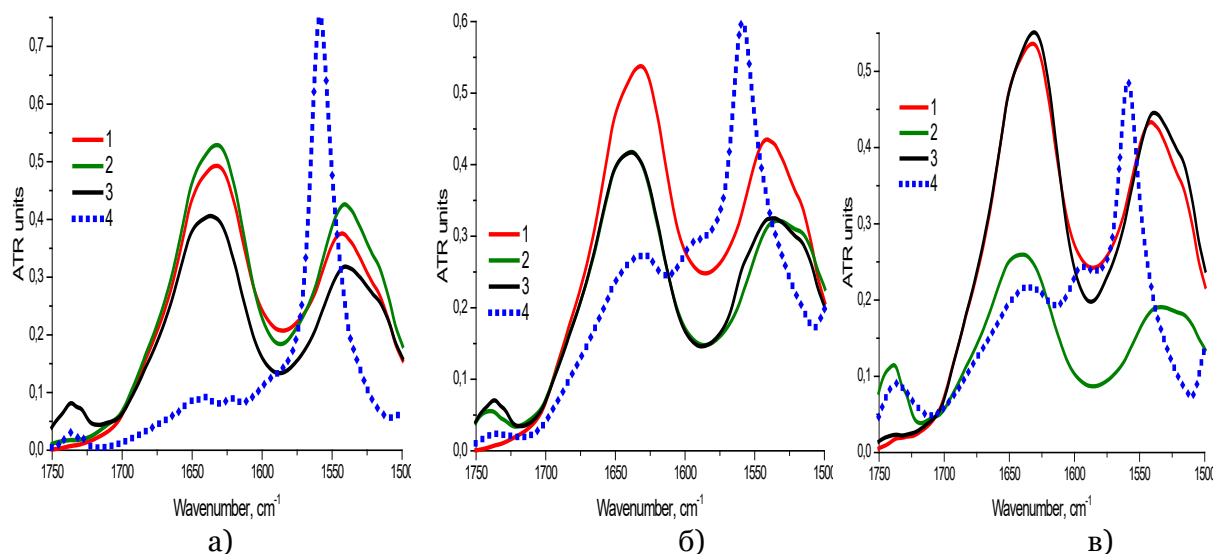


Рисунок 6 – Фрагменты (1750–1500 см⁻¹) ИК спектров облученной интактной мышечной ткани свинины: а) 6,5; б) 12,5; в) 25,0 кГр; 1 – мышечная ткань, 2 – мышечное волокно; 3 – строма; 4 – белки стромы (Серия I)
 Figure 6. Fragments of IR spectra (1750–1500 cm⁻¹) of irradiated intact pork muscle tissue: а) 6.5; б) 12.5; в) 25.0 kGr; 1 – muscle tissue; 2 – muscle fiber; 3 – stroma; 4 – the proteins of the stroma (Series I)

Полученные данные свидетельствуют именно о структурных преобразованиях белков, поскольку, как отмечает большинство авторов [4, 40–42], при облучении мышечной ткани дозами до 50–60 кГр изменениям подвергается лишь очень незначительная часть аминокислот, (порядка нескольких микромолей на грамм), что практически не отражается на общем аминокислотном составе продукта. Наиболее чувствительны к облучению цистеин, метионин, гистидин, фенилаланин, тирозин, треонин и серин. Напротив, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, лизин, аргинин и аланин – являются наиболее стойкими. При этом ни мощность, ни вид излучения (быстрые электроны, γ и x -лучи) не оказывают влияния на стабильность аминокислот. Однако степень радиационной лабильности аминокислот для разных белков неодинакова.

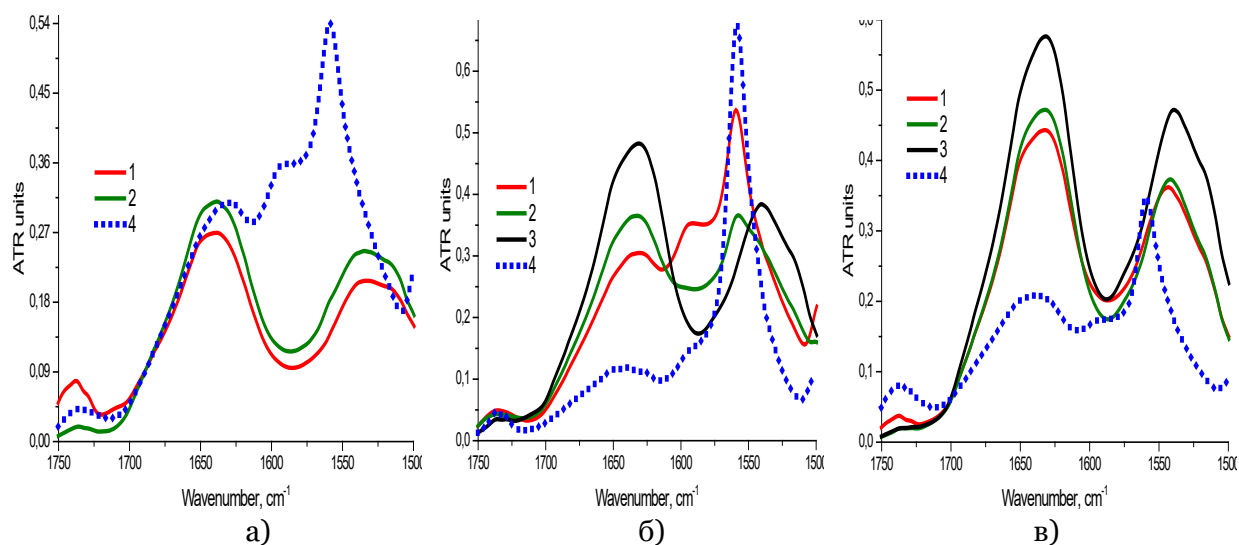


Рисунок 7. Фрагменты ИК спектров (1750–1500 см⁻¹) облученной мышечной ткани свинины (Серия II): а) 6,5; б) 12,5; в) 25,0 кГр; 1 – мышечная ткань; 2 – мышечное волокно; 3 – строма; 4 – белки стромы
 Figure 7. Fragments of IR spectra (1750–1500 cm⁻¹) of irradiated pork muscle tissue (Series II): а) 6.5; б) 12.5; в) 25.0 kGr; 1 – muscle tissue; 2 – muscle fiber; 3 – stroma; 4 – the proteins of the stroma

На рисунке 7 представлены фрагменты протеиновой области спектров облученных образцов Серии II, так же полученных через неделю после облучения. Сопоставление с данными, приведенными выше, говорит о том, что предварительная обработка этанолом существенным образом влияет

на оптические характеристики протеинов при хранении. Прежде всего, следует отметить увеличение интенсивности полосы Амид-I в ряду – мышечная ткань, мышечное волокно, строма, чего не наблюдалась в предыдущих опытах. При облучении дозой 12,5 кГр в спектре протеинов мышечной ткани появляется хорошо выраженная полоса пептидов, кроме того в ее спектре и спектре мышечного волокна положение полосы Амид-II отвечает положению в спектрах белков стромы – 1563 см⁻¹. Традиционное положение (1540 см⁻¹) второй полосы наблюдается только в спектре стромы.

Интерес представляло выявление влияния облучения в режимах радиуризации на чувствительность поглощенной дозы функциональных группировок Амид-I и Амид-II. Графическая обработка полученных данных для полосы Амид-I (рисунок 8, Серия I) в виде зависимостей $A = f(D, \text{кГр})$ позволила отметить неоднозначность в периодичности изменения интенсивности и сдвигов полосы для всех исследуемых фракционированных частей облученной мышечной ткани Серии-I, в том числе и для пептидной полосы 1590 см⁻¹ в спектрах белков стромы, несмотря на последовательное удаление из мышечной ткани глобулярных, миофибриллярных белков и освобождение белков стромы от мукополисахаридной связки. Несмотря на разную направленность полученных кривых, все имеют перегибы разной степени выраженности в двух точках – 6,5 и 12,5 кГр. При этом общая тенденция к увеличению интенсивности полосы наблюдалась для образцов мышечной ткани и волокна. Примечательно, что до дозы 12,5 кГр интенсивность полос в протеиновом дублете меняется антибатно, а с увеличением дозы интенсивность обеих полос падает. Кривая, описывающая изменение пептидной полосы 1590 см⁻¹, воспроизводит характер кривой полосы Амид-I. Это указывает на многофакторность и многофункциональность множества взаимосвязанных параллельно протекающих цепных радикальных процессов разной длины и скорости.

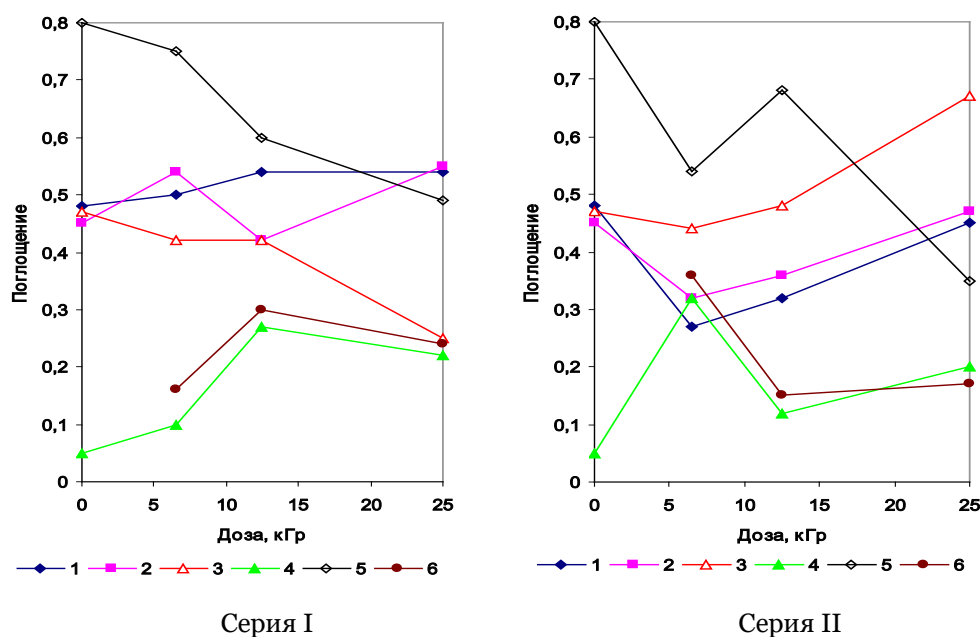


Рисунок 8 – Изменение интенсивности протеиновой полосы Амид-I в спектрах образцов Серий I и II в зависимости от дозы излучения: 1 – мышечная ткань; 2 – мышечное волокно; 3 – строма; белки стромы: 4 – Амид-I, 5 – Амид- II, 6 – пептиды (1590 см⁻¹)

Figure 8. Changes in the intensity of protein bands in the spectra of Series I and II samples depending on the radiation dose: 1 – muscle tissue, 2 – muscle fiber, 3 – stroma; stroma proteins: 4 – Amide-I, 5 – Amide-II, 6 – peptides (1590 cm⁻¹)

Влияние этанола на характер изменения интенсивности полосы в спектрах образцов Серии II показано на рисунке 8. Этанол существенно меняет характер зависимостей для мышечной ткани, мышечного волокна и стромы, делая их типовыми с минимальной пороговой дозой 6,5 кГр, после которой все кривые показывают прирост интенсивности полосы Амид-I, близкой к показателю исходных мышечной ткани и мышечного волокна с увеличением доли поглощенной радиации. Для обеих полос белков стромы сохраняется периодический характер с более выраженными экстремумами при 6,5 и 12,5 кГр, но имеющими противоположную направленность по сравнению с образцами Серии I. И в этом случае полоса пептидов воспроизводит характер изменения полосы Амид-I.

Резкое снижение интенсивности полосы Амид-II после дозы 12,5 кГр и значительно менее крутой подъем полосы Амид-I может говорить о том, что прирост полосы Амид-I в спектрах мышечной ткани и волокна связан с их реконструктивными процессами за счет фрагментов частично деполимеризованных белков стромы, поскольку система закрыта и поступления белковых компонентов извне отсутствует. О разрушении структуры белков стромы в составе соединительной ткани говорит наиболее высокое положение кривой стромы и ее более крутой подъем с увеличением поглощенной дозы. Следует подчеркнуть, что последовательность расположения кривых 1, 2 и 3 на рисунке 8 (Серия II) отвечает последовательности расположения их спектров на рисунках 7б и 7в. В спектрах мышечной ткани и мышечного волокна (рисунок 7б) отмечено появление полосы пептидов (1590 см⁻¹), а положение полосы Амид-II соответствует ее положению в спектрах белков стромы, что указывает на их происхождение в составе этих образцов. Полученный результат служит доказательством того, что в процессе пострадиационного хранения реконструкция миофибриллярных и, возможно, саркоплазматических белков происходит за счет фрагментов деполимеризованных белков стромы. Данный момент зарегистрирован и отмечен ранее в работе [25] при исследовании фракционированных составных частей мышечной ткани свинины методом электронной спектроскопии диффузного отражения (ЭСДО).

В результате вполне логичен интерес к тому, что происходит под влиянием радиации с теми связями, колебания которых формируют полосу Амид-II. Результаты по ее исследованию для образцов обеих серий представляет рисунок 9, из которого следует, что вторая белковая полоса, в отличие от первой, практически не чувствительна к малой дозе радиации в составе мышечной ткани, мышечного волокна и стромы. При поглощении мышечной тканью 12,5 кГр отмечено небольшое повышение интенсивности полосы в спектре мышечной ткани и снижение в спектрах мышечного волокна и стромы. Дальнейшее повышение поглощенной дозы приводит к падению интенсивности ее в спектрах мышечной ткани и волокна и повышению в спектре стромы. В спектрах белков стромы данная полоса закономерно снижается во всем исследуемом диапазоне режима облучения.

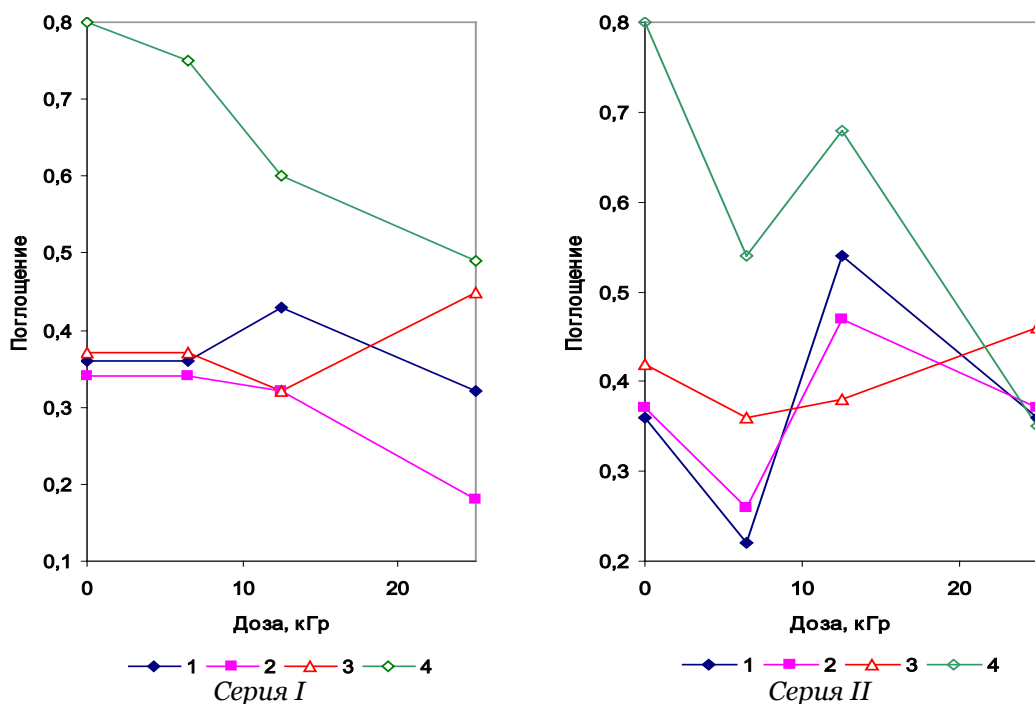
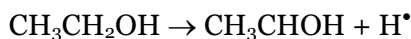


Рисунок 9 – Изменение интенсивности полос Амид-II в спектрах образцов Серий I и II в зависимости от дозы излучения: 1 – мышечная ткань; 2 – мышечное волокно; 3 – строма; 4 – белки стромы

Figure 9. Change in the intensity of Amide-II bands in the spectra of Series I and II samples depending on the radiation dose: 1 – muscle tissue; 2 – muscle fiber; 3 – stroma; 4 – stroma proteins

Обработка мышечной ткани этанолом кардинально меняет характер кривых $A = f(D, \text{кГр})$ всех составных частей. Периодический характер кривых 1, 2 и 4 и положительный экстремум на них при поглощении 12,5 кГр обусловлен высокой чувствительностью полосы Амид-II к этой дозе в присутствии этанола, что и проявляется в спектрах мышечной ткани и волокна появлением более высокочастотной

полосы 1563 см⁻¹ и полосы пептидов (рисунок 7б). Следует отметить, что алкоксильные радикалы, образующиеся при радиоллизе спиртов [43]



могут также отрывать атомы водорода, изменяя в результате как сами исходные молекулы, так и свободные радикалы, подобно тому, как это проявляется при действии гидроксильных радикалов.

Возможно частичное разрушение некоторых мукполисахаридов стромы, представляющей пул нескольких категорий соединительных тканей в структуре мышцы, и приводит к высвобождению белков. Совершенно иной характер кривой, описывающей строму (кр. 3) после отделения саркоплазматических и миофибриллярных белков, говорит о том, что в ее составе, находясь в связанном состоянии, белки имеют иную структуру и спектральный образ. Следует отметить, что в работе [25] доза 12,5 кГр была рекомендована при радиационно-этанольной обработке мышечной ткани свинины для длительного хранения при низких положительных температурах.

Многие авторы ранних работ [4, 34, 44–46] отмечают более высокую чувствительность белков соединительной ткани к радиации по сравнению с белками мышечной ткани других категорий. Различия в радиостойкости образцов коллагенов в зависимости от поглощенной дозы подтверждаются результатами, полученными при электронно-микроскопическом исследовании в режиме сканирования и определении (ВУС). В коллагене, как и в других белковых полимерах мышечной влагоудерживающей способности ткани, при облучении одновременно с разной скоростью происходят два процесса: расщепление полипептидных цепей и образование новых межмолекулярных поперечных связей, приводящих к структурным изменениям [15, 16, 37, 38, 47]. Однако при облучении коллагена в составе мышечной ткани (insity) белки защищены от действия излучения другими компонентами и изменяются значительно меньше, чем белковые фракции, облученные после выделения в виде изолятов [48].

ИК спектры образцов мышечного волокна, стромы и белков стромы, фракционированных из измельченной интактной мышечной ткани, а затем облученных дозой 25 кГр и лиофилизированных, иллюстрирует рисунок 10а. Обращает на себя внимание структурирование полосы в области поглощения белковых компонентов в спектрах мышечного волокна и стромы с формированием полосы при 1590 см⁻¹, говорящей о присутствии в их структуре пептидов наряду с белковыми компонентами. Уширенная полоса Амид-I (1663–1637 см⁻¹) и полоса Амид-II (1540 см⁻¹) в спектре мышечного волокна (рисунок 10б) обязаны суммарным колебаниям С=О-групп миофибриллярных и соединительнотканых белков. Эти же полосы, но меньшей интенсивности в спектре стромы, обусловлены ее белками, которые очевидно частично разрушены, о чем говорит пептидная полоса 1590 см⁻¹.

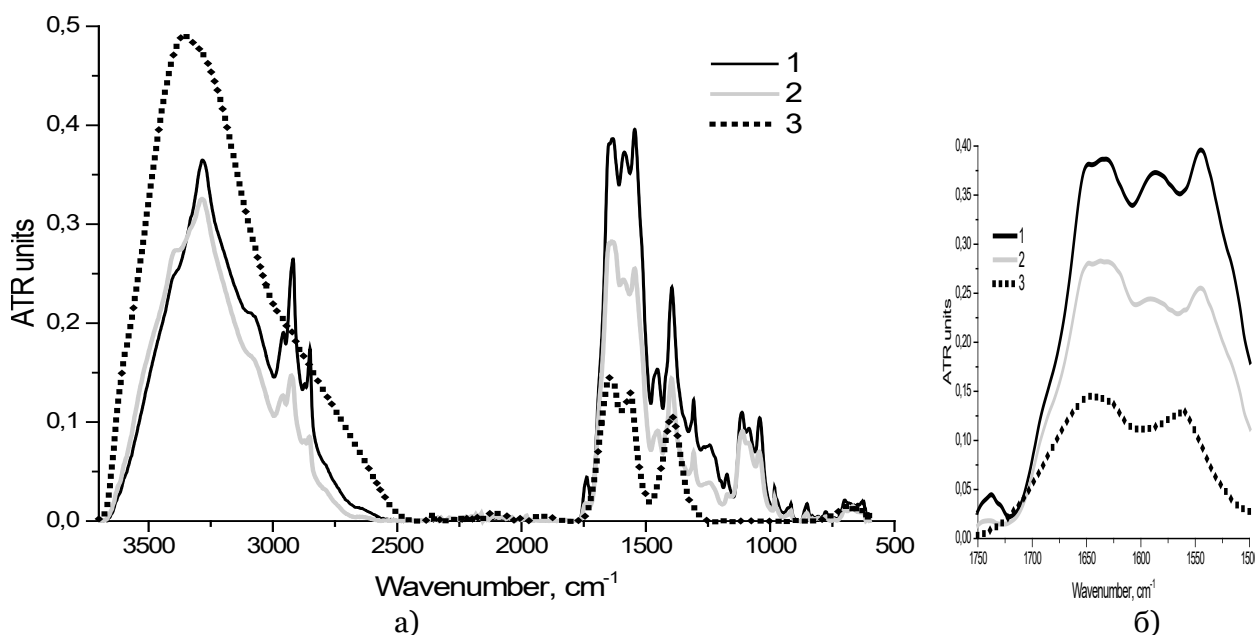


Рисунок 10 – а) ИК спектры мышечного волокна (1), стромы (2), белков стромы (3) мышечной ткани свинины, облученных дозой 25 кГр; б) фрагменты спектров (1750–1500 см⁻¹)

Figure 10. а) IR spectra of muscle fiber (1), stroma (2), and stroma proteins (3) of pork muscle tissue irradiated with a dose of 25 kGr; б) fragments of the spectra (1750–1500 cm⁻¹)

В спектре облученных изолятов белков стромы наблюдаются две полосы – 1653 и 1563 см⁻¹. Высокая интенсивность полосы Амид-I говорит об изменении структуры, но при этом не просматривается полоса пептидов. Отсутствуют полосы углеводных (1200–1000 см⁻¹) и липидных (1748 см⁻¹) компонентов, хорошо проявленные в спектрах мышечного волокна и стромы. Высокая интенсивность широкой высокочастотной полосы (3700–3000 см⁻¹) обусловлена значительным содержанием в белках стромы связанной воды, не удаляемой в условиях сублимационной сушки. Очевидно, что изолят белков стромы, свободный от углеводных связей, спонтанно агрегирует и трансформируется в самостоятельную компактную структуру, но отмечает в ней свое происхождение неизменным положением второй белковой полосы – 1563 см⁻¹. Однако разрушения белков стромы под влиянием радиоактивного излучения имеют место, и это видно во всех случаях как при облучении фракционированных мышечного волокна и стромы, так и после их выделения из облученной мышечной ткани. Об этом говорит присутствие в их структурах пептидов, по-видимому, достаточно прочно удерживаемых полисахаридами в виде пептид-полисахаридных комплексов.

Имеющиеся в литературе данные [48, 49] указывают на то, что наряду с другими составными частями мышечной ткани радиационному воздействию подвергается и соединительная ткань. Прочность и устойчивость ее (к растворителям, нагреву в воде, действию протеолитических ферментов) зависит от доли мукополисахаридов, прочно и лабильно связанных с белковой частью посредством гидроксильных групп двух аминокислотных остатков – серина и треонина, которые, что немало важно, не являются радиорезистентными строительными блоками белковых полимеров. Следует заметить, что в последние десятилетия произошел всплеск интереса к коллагену в связи с возросшей потребностью использования в медицинской практике синтетических коллагенов [50, 51].

Однако как показали опыты, аналогичный спектральный эффект увеличения интенсивности полосы Амид-I, указывающий на изменение структуры белков стромы, можно наблюдать при более прозаичных ситуациях, например, механическое (отбивание) или химическое воздействие некоторых препаратов, приводящих к разрушению коллаген-мукополисахаридных связей. В практике промышленных производств с целью размягчения белковых структурных элементов тканей используются ферменты животного, растительного или микробного происхождения [7]. Большее распространение получили ферменты растительного происхождения, обладающие коллагеназно-эластазной активностью и частично гиалуронидазным действием. Они способны влиять не только на целостность структуры внутримышечной соединительной ткани, но и достаточно избирательно способствовать разрушению структуры мукополисахаридных связей и их отщеплению от белковых структур. Мукополисахариды и особенно гиалуроновая кислота, составляющая их основу, входящие в состав биомембран и соединительной ткани животных, значительно более радиочувствительны и их распад обнаруживается при поглощении существенно меньших доз радиации (0,2–1,0 кГр) [49–52]. Разрушение гиалуроновой кислоты способствует образованию сшивок коллагеновых волокон. Кроме того отмечено, что деструкция протеогликанов также, как и гликопротеинов [53], при облучении происходит по кислород-углеводным связям углеводной компоненты с серином и треонином полипептидных цепей.

На рисунке 11 приведены спектры стромы и ее белков, полученных из свежееохлажденной механически жестко отбитой цельно кусковой мышечной ткани свинины, затем измельченной и подвергнутой экстрактивному фракционированию в соответствии с рабочей схемой с последующей лиофилизацией. Если сравнить их с кривыми 3 и 4 на рисунках 3 и 4 и результатами, представленными на рисунке 4а, видно, что механическое воздействие на мышечную ткань оказывает более заметное структурное преобразование в белках стромы, что проявляется в изменении интенсивности и положении полосы Амид-I, чем обработка этанолом и облучение их в составе мышечной ткани, хотя при этом не отмечено образование пептидов, появление которых типично при радиационном облучении. Показательно – стабильное положение полосы Амид-II (1563 см⁻¹), наличие достаточно интенсивной полосы аминокислоты оксипролина (879,30 см⁻¹), свидетельствующей о снижении растворимости белков, а также присутствие хорошо выраженных полос липидных компонентов (1748, 3008 и 722 см⁻¹). Уширение правой ветви высокочастотной полосы говорит о наличии в структуре связанной воды.

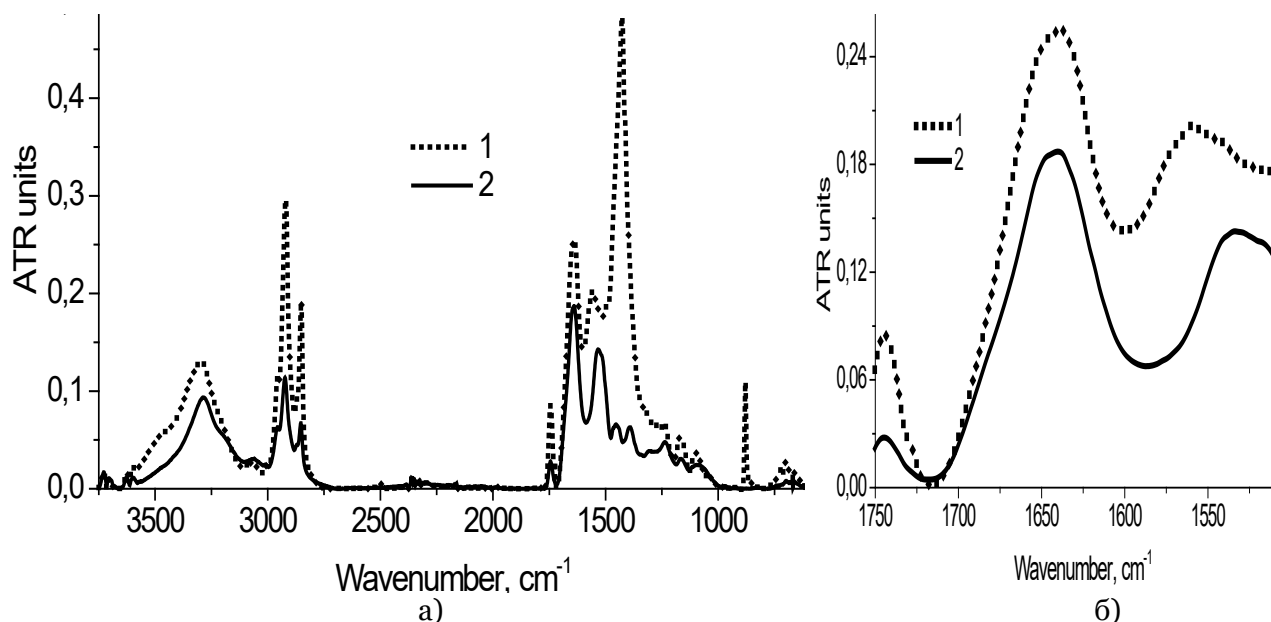


Рисунок 11 – а) ИК спектры, б) фрагменты (1750–1500 см⁻¹) спектров белков стромы (1) и стромы (2) мышечной ткани, подвергнутых механической обработке до измельчения

Figure 11. a) IR spectra, б) fragments (1750–1500 cm⁻¹) of protein spectra stroma (1) and stroma (2) of muscle tissue machined before grinding

Все это говорит о том, что спонтанные внутри- и межмолекулярные структурные преобразования имеют место и при обычной механической деструкции связей в нативной мышечной ткани. И здесь важно отметить разницу в оптических характеристиках между продуктами фракционирования не облученной измельченной цельнокусковой свежееохлажденной (рисунок 4а) мышечной ткани и отбитой перед измельчением (рисунок 11б). Наличие в спектрах слабых липидных и полисахаридных полос позволяет говорить о том, что мы видим фактически белок-липид-полисахаридные комплексы, которые более устойчивы при последующем измельчении и многоэтапном фракционировании.

Выводы

Исследование методом ИКС НПВО свежееохлажденной измельченной нативной и прошедшей до измельчения механическую деструкцию отбиванием, контактную обработку 40% этанолом и их последующее облучение пучком быстрых электронов в режимах радиуризации (6,5–25,0 кГр) позволило отметить:

- стабилизирующее влияние обработки этанолом, распространяющееся по радикально-цепочечному механизму в объеме мышечной ткани, на белковые структуры всех ее твердофазных составных частей – мышечного волокна, стромы, белков стромы;

- в отличие от обработки этанолом и механической деструкции облучение электронным пучком приводит к более заметному разрушению белков стромы в пострадиационный период при хранении, наиболее чувствительных к радиационному воздействию; это особенно заметно при облучении их изолята и проявляется в снижении интенсивности полосы Амид-II (1563 см⁻¹), увеличении полосы Амид-I (1650 см⁻¹) и появлении полосы полипептидов в области 1590–1606 см⁻¹;

- экстремальный характер изменения интенсивности характеристических полос при облучении мышечной ткани дозой 12,5 кГр после обработки этанолом, появление в спектрах мышечной ткани и волокна полосы 1563 см⁻¹, характерной для Амид-II белков стромы, и полосы полипептидов 1590 см⁻¹ в спектре мышечного волокна говорит о реструктуризации компонентов составных твердофазных частей мышечной ткани.

Полученные данные, кроме всего прочего, позволяют говорить об электронно-лучевом методе как высоко эффективном и информативном инструменте в практике целевых научно-исследовательских работ с биологическими материалами животного происхождения.

Литература

1. Fan X., Sommers C.H. (Eds.) *Food Irradiation Research and Technology*. N.-Y.: Wiley-Blackwell, 2012. 472 p.
2. O'Bryan C.F., Crandall P.G., Ricke S.C., Olson D.G. Impact of irradiation on the safety and quality of poultry and meat products: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2008, V. 48, no. 5, pp. 442–457.
3. Костенко Ю.Г., Шурдуба Н.А., Шагова Т.С., Телегина М.Д., Филатов В.И. Применение ионизирующих излучений для улучшения санитарно-микробиологических показателей мяса и мясных продуктов. М.: Мясомолочная промышленность, 1992. 32 с.
4. Фрумкин М.Л. Перспективы использования ионизирующих излучений для интенсификации технологических процессов в пищевой промышленности // Радиационная обработка пищевых продуктов: сб. ст. М.: Атомиздат, 1971. С. 79–84.
5. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н. Консервирование мяса и мясных продуктов // Мясная индустрия. 2008. № 3. С. 70–73.
6. Чиж Т.В., Козьмин Г.В., Полякова Л.П., Мельникова Т.В. Радиационная обработка как технологический прием в целях повышения уровня продовольственной безопасности // Вестник российской академии естественных наук. 2011. № 4. С. 44–49.
7. Соколов А.А. Физико-химические и биохимические основы технологии мясопродуктов. М.: Пищевая промышленность, 1965. 489 с.
8. Осипов В.Б., Ракитская Г.А., Трофимов В.И. Актуальные вопросы радиационной стерилизации (Практика применения в медицинской промышленности). М.: ЦБНТИ Медпром. 1984. Серия: Химико-фармацевтическая промышленность. Вып. 9. 37 с.
9. Васильев И.А., Нечаев А.Ф., Персинен А.А. Радиационная технология: потенциал использования пиковолновой энергии для охраны здоровья и защиты окружающей среды. СПб.: С.-Петербург. гос. технол. ин-т (Техн. ун-т), 2000. Серия: Введение в инженерную экологию. Вып. 2. 242 с.
10. Пикаев А.К. Современная радиационная химия. Твердое тело и полимеры. Прикладные аспекты. М.: Наука, 1987. 448 с.
11. Basson R.A. Advances in radiation chemistry of food and food components – a review. *In: Recent advances in food irradiation*. Amsterdam: Elsevier. 1983, pp. 7–25.
12. Черняев А.М. Взаимодействие ионизирующих излучений с веществом. М.: Физматлит, 2004. 151 с.
13. Кузин А.М., Силаев М.П. О новом возможном использовании ионизирующей радиации в мясной промышленности // Радиобиология. 1963. Т. 3. № 4. С. 545–548.
14. Фрумкин Ф.Л., Гельфанд С.Ю., Анисимов Б.Н. Удлинение сроков хранения охлажденного мяса. М.: ВНИИКОП, 1970. С. 17–40.
15. Кузин А.М. Структурно-метаболическая теория в радиобиологии. М.: Наука, 1986. 282 с.
16. Кузин А.М., Каушанский Д.А. Прикладная радиобиология. М.: Энергоиздат, 1981, 224 с.
17. Бугаенко Л.Т., Бяков В.М., Кабакчи С.А. Механизм радиолитиза воды // Химия высоких энергий. 1985. Т. 19. № 4. С. 201–302.
18. Orlova M.A., Kost O.A., Gribkov V.A. et al. Enzyme activation and inactivation induced by low doses of irradiation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2003, V. 88, pp. 321–333.
19. Мякин С.В., Сычев М.М., Васильева И.В. и др. Электронно-лучевое модифицирование функциональных материалов. СПб.: С.-Петербург. гос. ун-т путей сообщ., 2006. 104 с.
20. Кодекс Алиментариус. Облученные продукты питания. М.: Весь Мир, 2007. 24 с.
21. Berasategi I., Legarra S., de Ciriano M.G., Rehecho S., Calvo M.I., Caverro R.Y., Navarro-Blasco I., Ansorena D., Astiasarbn I. “High in omega-3 fatty acids” bologna-type sausages stabilized with an aqueous-ethanol extract of *Melissa officinalis*. *Meat Sci.* 2011, V. 88, no. 4, pp. 705–711.
22. Rojas M.C., Brewer M.S. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. *J. Food Sci.* 2007, V. 72, no. 4, pp. 282–288.
23. Mohamed H.M., Mansour H.A., Faraq M.D. The use of natural herbal extracts for improving the lipid stability and sensory characteristics of irradiated ground beef. *Meat Sci.* 2011, V. 87, no. 1, pp. 33–39.
24. Orehova S., Nechiporenko U., Vasileva I., Nechiporenko A. Ethanol effect on the radiolysis of pork muscle tissue. *6th Baltic Conference on Food Science and Technology Foodbalt 2011 “Innovations for food science and production”*. Latvia, 2011. pp. 177–181.
25. Орехова С.М. Радиационно-химическое консервирование мышечной ткани свинины: дис. ... канд. техн. наук. СПб., 2014. 149 с.
26. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. М.: Колос, 2001. 376 с.
27. Тарасевич Б.Н. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопии. М.: МГУ, 2010. 22 с.
28. Белл Р.Дж. Введение в Фурье – спектроскопию. М.: Мир, 1975. 382 с.

29. Stuart В.Н. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. N.-Y.: Wiley, 2004. 242 p.
30. Бёккер Ю. Спектроскопия. М.: Мир, 2009. 528 с.
31. Тарасевич Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. М.: МГУ. 2012. 55с.
32. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффильтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных. М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2006. С. 251–318.
33. Урбейн У.М. Радиационная химия белков // Радиационная химия основных компонентов пищевых продуктов: значение для оценки доброкачественности облученных пищевых продуктов: сб. ст. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983. С. 72–134.
34. Фрумкин М.Л., Павлова Г.А., Дозорец Д.П. Влияние γ -лучей на некоторые фракции белков говяжьего мяса // Консервная и овощесушильная промышленность. 1963. № 1. С. 19–22.
35. Garrison W.M. Reaction mechanism in the radiolysis of peptides, polypeptides and proteins. *Chemistry Review*. 1987, V. 87, pp. 381–398.
36. Нечипоренко А.П., Миневиц И.Э., Нечипорено У.Ю., Ситникова В.Е., Громова Д.А. Пептид-полисахаридные комплексы слизи ламинарии, корня алтея, семян льна // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2020. № 1(43). С. 3–17.
37. Горизонтов П.Д., Савич А.В., Жестянкиков В.Д. и др. Радиационное поражение и восстановление структур и функций макромолекул. М.: Медицина, 1977. 280 с.
38. Тимофеев-Ресовский Н.В., Савич А.В., Шальнов М.И. Введение в молекулярную радиобиологию. М.: Медицина, 1981. 320 с.
39. Каушанский Д.А., Кузин А.М. Радиационно-биологическая технология. М.: Энергоатомиздат, 1984. 152 с.
40. Ковальская Л.П., Гельфанд С.Ю., Климова Г.С. Радиационная обработка пищевых продуктов // Итоги науки и техники. Серия: Химия и технология пищевых продуктов. 1989. Т. 2. 156 с.
41. Дэвени Т., Гергей Я. Аминокислоты, пептиды, белки. М.: Мир, 1976. 165 с.
42. Фрумкин М.Л., Павлова Г.Л., Дозорец Д.П. Качественные изменения свободных аминокислот облученного мяса при хранении // Консервная и овощесушильная промышленность. 1961. № 1. С. 14–16.
43. Своллоу А.Дж. Химические эффекты облучения // Радиационная химия основных компонентов пищевых продуктов: значение для оценки доброкачественности облученных пищевых продуктов: сб. ст. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. С. 13–30.
44. Cheung D.T., Perelman N., Tong D. Nimni M.E. The effect of γ -irradiation on collagen molecules, isolated α -chain and cross-linked native fibers. *J. Biomed. Mater. Res.* 1990, V. 24, pp. 581–589.
45. Bowes I.H., Moss I.A. The effect of electron beam irradiation on collagen. *Radiat. Res.* 1962, V.16, pp. 211–223.
46. Balley A.J., Tomans W.J. Effects of ionizing radiation on the ultrastructure of collagen fibrils. *Radiat. Res.* 1964, V. 23, pp. 145–155.
47. Garrison W.M. Reaction mechanism in the radiolysis of peptides, polypeptides and proteins. *Chemistry Review*. 1987, V. 87, pp. 381–398.
48. Кочетков Н.К., Кудряшов Л.И., Членов М.А. Радиационная химия углеводов. М.: Наука, 1978. 287 с.
49. Шарпатый В.А. Радиационная химия биополимеров. М.: Энергоиздат, 1981. 168 с.
50. Друженкова Н.А. О механизмах радиационного повреждения структуры коллагена // Материалы Всесоюзного симпозиума «Механизм действия ионизирующих излучений на структуру и функции белков» (Львов, 25–27 ноября, 1986 г.). Пущино: НИЦБИ АН СССР, 1986. С. 18–19.
51. Byun E.H., Kim J.H. et al. Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of b-glucan. *Rad. Phys. Chem.* 2008, V. 77, pp. 781–786.
52. Хабаров В.Н., Бойков П.Я., Селянин М.А. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: Практическая медицина, 2012. 224 с.
53. Cavatorta P., Crippa P.R., Vecli A. Radiation effects in glycoproteins and related carbohydrates. *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* 1971, V. 3, pp. 483–490.

References

1. Fan X., Sommers C.H. (Eds.) *Food Irradiation Research and Technology*. N.Y.: Wiley-Blackwell, 2012. 472 p.
2. O'Bryan C.F., Crandall P.G., Ricke S.C., Olson D.G. Impact of irradiation on the safety and quality of poultry and meat products: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2008, V. 48, no. 5, pp. 442–457.
3. Kostenko Yu.G., Shurduba N.A., Shagova T.S., Telegina M.D., Filatov V.I. *Application of ionizing radiation to improve the sanitary and microbiological indicators of meat and meat products*. Moscow, Meat and Dairy industry Publ., 1992. 32 p. (In Russian).
4. Frumkin M.L. Prospects for the use of ionizing radiation for the intensification of technological processes in the food industry. *Radiation Treatment of Food Products*. Moscow, Atomizdat Publ., 1971, pp. 79–84 (In Russian).
5. Neklyudov A.D. Ivankin A.N. Preserving meat and meat products. *Meat Industry*. 2008, no. 3, pp. 70–73 (In Russian).

6. Chizh T.V., Kozmin G.V., Polyakova L.P., Melnikova T.V. Radiation treatment as a technological method for improving food security. *Herald of Russian Academy of Natural Sciences*. 2011, no. 4, pp. 44–49 (In Russian).
7. Sokolov A.A. *Physicochemical and biochemical bases of meat products technology*. Moscow, Food Industry Publ., 1965. 489 p. (In Russian).
8. Osipov V.B., Rakitskaya G.A., Trofimov V.I. *Actual issues of radiation sterilization* (practice of application in the medical industry). Moscow, Central bureau of scientific and technical information Medprom Publ., 1984. Series: Chemical and Pharmaceutical Industry. Is. 9. 37 p. (In Russian).
9. Vasiliev I.A., Nechaev A.F., Persinen A.A. *Introduction to engineering ecology. Radiation technology: potential use of peak-wave energy for health and environmental protection*. St. Petersburg, St. Petersburg State Institute of Technology Publ., 2000, Is. 2, 242 p. (In Russian).
10. Pikaev A.K. Modern radiation chemistry. Solid and Polymers. Applied aspects. Moscow, Science Publ., 1987. 448 p. (In Russian).
11. Basson R.A. Advances in radiation chemistry of food and food components – a review. In: *Recent advances in food irradiation*. Amsterdam: Elsevier. 1983, pp. 7–25.
12. Chernyaev A.M. Interaction of ionizing radiation with matter. Moscow, Fizmatlit Publ., 2004, 151 p. (In Russian).
13. Kuzin A.M., Silaev M.P. About a new possible use of ionizing radiation in the meat industry. *Radiobiology*. 1963, V. 3, no. 4, pp. 545–548 (In Russian).
14. Frumkin F.L., Gelfand S.Yu., Anisimov B.N. Extending the shelf life of chilled meat. Moscow, All-Russian Research Institute of the Canning and Vegetable Drying Industry Publ., 1970, pp. 17–40 (In Russian).
15. Kuzin A.M. Structural and metabolic theory in radiobiology. Moscow, Science Publ., 1986, 282 p. (In Russian).
16. Kuzin A.M., Kkaushansky D.A. Applied radiobiology. Moscow, Energoizdat Publ., 1981, 224 p. (In Russian).
17. Bugaenko L.T., Byakov V.M., Kabakchi S.A. Mechanism of water radiolysis. *High Energy Chemistry*. 1985, V. 19, no. 4, pp. 201–302 (In Russian).
18. Orlova M.A., Kost O.A., Gribkov V.A. et al. Enzyme activation and inactivation induced by low doses of irradiation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2003, V. 88, pp. 321–333.
19. Myakin S.V., Sychev M.M., Vasileva I.V. et al. Electron-beam modification of functional materials. St. Petersburg, Emperor Alexander I St. Petersburg State Transport University Publ., 2006, 105 p. (In Russian).
20. Codex Alimentarius. Irradiated food. Moscow, Ves Mir Publ., 2007, 24 p.
21. Berasategi I., Legarra S., de Ciriano M.G., Rehecho S., Calvo M.I., Cavero R.Y., Navarro-Blasco I., Ansorena D., Astiasarón I. “High in omega-3 fatty acids” bologna-type sausages stabilized with an aqueous-ethanol extract of *Melissa officinalis*. *Meat Sci.* 2011, V. 88, no. 4, pp. 705–711.
22. Rojas M.C., Brewer M.S. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. *J. Food Sci.* 2007, V. 72, no. 4, pp. 282–288.
23. Mohamed H.M., Mansour H.A., Faraq M.D. The use of natural herbal extracts for improving the lipid stability and sensory characteristics of irradiated ground beef. *Meat Sci.* 2011, V. 87, no. 1, pp. 33–39.
24. Orehova S., Nechiporenko U., Vasileva I., Nechiporenko A. Ethanol effect on the radiolysis of pork muscle tissue. *6th Baltic Conference on Food Science and Technology Foodbalt 2011 “Innovations for food science and production”*. Latvia, 2011. pp. 177–181.
25. Orehova S.M. Radiation-chemical preservation of pork muscle tissue. *Candidate’s thesis*. St. Petersburg, 2014, 149 p. (In Russian).
26. Antipova L.V., Glotova I.A., Rogov I.A. *Methods of research of meat and meat products*. Moscow, Kolos Publ., 2001. 376 p. (In Russian).
27. Tarasevich B.N. *Fundamentals of IR spectroscopy with Fourier transform. Preparation of samples in IR spectroscopy*. Moscow, Moscow State University Publ., 2010. 22 p. (In Russian).
28. Bell R.J. *Introduction to Fourier Spectroscopy*. Moscow, Mir Publ., 1975. 382 p. (In Russian).
29. Stuart B.H. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. N.-Y.: Wiley, 2004. 242 p.
30. Becker Yu. *Spectroscopy*. Moscow, Mir Publ., 2009, 528 p. (In Russian).
31. Tarasevich B.N. IR spectra of the main classes of organic compounds. Reference materials. Moscow, Moscow State University Publ., 2012. 55 p. (In Russian).
32. Prech E., Bühlmann F., Affolter K. *Structure determination of organic compounds: tables of spectral data*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New-York, 2000, 433 p.
33. Urbane W.M. Radiation chemistry of proteins. In: *Radiation chemistry of the main components of food products: value for assessing the good quality of irradiated food products*. Moscow, Light and Food Industry Publ., 1983, pp. 72–134 (In Russian).
34. Frumkin M.L., Pavlova G.A., Dozorets D.P. Influence of gamma rays on some fractions of beef meat proteins. *Canning and Vegetable Drying Industry*. 1963, no. 1, pp. 19–22 (In Russian).
35. Garrison W.M. Reaction mechanism in the radiolysis of peptides, polypeptides and proteins. *Chemistry Review*. 1987, V. 87, pp. 381–398.

36. Nechiporenko A.P., Minevich I.E., Nechiporenko U.Yu., Sitnikova V.E., Gromova D.A. Peptide-polysaccharide complexes of kelp slime, marshmallow root, flax seeds. *Processes and Food Production Equipment*. 2020, no. 1, pp. 3–17 (*In Russian*).
37. Gorizontov P.D., Savich A.V., Zhestyannikov V.D. et al. *Radiation damage and restoration of the structure and functions of macromolecules*. Moscow, Medicine Publ., 1977. 280 p. (*In Russian*).
38. Timofeev-Resovsky N.V., Savich A.V., Shalnov M.I. Introduction to molecular radiobiology. Moscow, Medicine Publ., 1981. 320 p. (*In Russian*).
39. Kaushansky D.A., Kuzin A.M. *Radiation-biological technology*. Moscow, Energoatomizdat Publ., 1984. 152 p. (*In Russian*).
40. Kovalskaya L.P., Gelfand S.Yu., Klimova G.S. Radiation treatment of food products. *Results of Science and Technology. Series: Chemistry and technology of food products*. 1989, V. 2, 156 p. (*In Russian*).
41. Daveni T., Gergei Ya. *Amino acids, peptides, proteins*. Moscow, Mir Publ., 1976, 165 p. (*In Russian*).
42. Frumkin M.L., Pavlova G.L., Dozoretz D.P. Qualitative changes in free amino acids of irradiated meat during storage. *Canning and Vegetable Drying Industry*. 1961, no. 1, pp. 14–16 (*In Russian*).
43. Swallow A.J. Chemical effects of irradiation. In: *Radiation chemistry of the main components of food products: value for assessing the good quality of irradiated food products*. Moscow, Light and Food Industry Publ., 1983, pp. 13–30. (*In Russian*).
44. Cheung D.T., Perelman N., Tong D., Nimni M.E. The effect of γ -irradiation on collagen molecules, isolated α -chain and cross-linked native fibers. *J. Biomed. Mater. Res.* 1990, V. 24, pp. 581–589.
45. Bowes I.H., Moss I.A. The effect of electron beam irradiation on collagen. *Radiat. Res.* 1962, V.16, pp. 211–223.
46. Balley A.J., Tomans W.J. Effects of ionizing radiation on the ultrastructure of collagen fibrils. *Radiat. Res.* 1964, V. 23, pp. 145–155.
47. Garrison W.M. Reaction mechanism in the radiolysis of peptides, polypeptides and proteins. *Chemistry Review*. 1987, V. 87, pp. 381–398.
48. Kochetkov N.K., Kudryashov, L.I., Chlenov M.A. Radiation chemistry of carbohydrates. Moscow, Science Publ., 1978, 287 p. (*In Russian*).
49. Sharpaty V.A. Radiation chemistry of biopolymers. Moscow, Energoizdat Publ., 1981, 168 p.
50. Drushenkova N.A. On the mechanisms of radiation damage to the collagen structure. *Proceedings of the All-Union Symposium "The mechanism of action of ionizing radiation on the structure and function of proteins"*. (Lviv, November 25–27, 1986). Pushchino, Scientific Center for Biological Research. 1986, pp. 18–19 (*In Russian*).
51. Byun E.H., Kim J.H. et al. Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of β -glucan. *Rad. Phys. Chem.* 2008, V. 77, pp. 781–786.
52. Khabarov V.N., Boikov P.Ya., Selyanin M.A. Hyaluronic acid: preparation, properties, application in biology and medicine. Moscow, Practical medicine Publ., 2012. 224 p. (*In Russian*).
53. Cavatorta P., Crippa P.R., Vecli A. Radiation effects in glycoproteins and related carbohydrates. *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* 1971, V. 3, pp. 483–490.

Статья поступила в редакцию 29.05.2020