Комбинированная озоно-радиационная стерилизация костной ткани: влияние на структуру коллагена и механические свойства

© *Н.А. Николаева*[1], *С.Н. Мамаева*[1], *В.В. Розанов*[2,3], *И.В. Матвейчук*[3], *А.П. Черняев*[2], *А.О. Хуцистова*[2]

[1] Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия
[2] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
[3] Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия
E-mail: larsoon696@mail.ru

Поступило в Редакцию 4 мая 2026 г.
В окончательной редакции 21 июня 2026 г.
Принято к публикации 23 октября 2026 г.

Исследовано влияние ионизирующего излучения и озоно-радиационной обработки на структуру и механические свойства костной ткани (современной и плейстоценовой). Стерилизация биоматериалов затруднена ввиду радиационного повреждения органического матрикса, особенно в хрупких палеонтологических костях. Показано, что дозы 20−25 kGy вызывают нарушения коллагена: разрушение тройной спирали, увеличение межфибриллярных расстояний и снижение прочности. Предварительное озонирование (6−8 mg/l) дает синергетический эффект, позволяя снизить дозу до $\sim$ 12 kGy при сохранении структуры и стерильности. В качестве структурного параметра введено приращение межфибриллярного расстояния Δr, характеризующее степень нарушения организации коллагенового матрикса. Комбинированный режим обеспечивает стерилизацию без существенного ухудшения свойств и перспективен для сохранения палеообъектов.

Ключевые слова: костная ткань, радиационная стерилизация, озон, деградация коллагена, ИК-фурье-спектроскопия, механические свойства, палеонтология.

DOI: 10.61011/PJTF.2026.23.64007.9648k

Стерилизация биологических материалов играет ключевую роль как в медицинской практике, так и в задачах сохранения объектов культурного и палеонтологического наследия [1]. Среди существующих методов особое место занимает ионизирующее излучение, отличающееся высокой проникающей способностью и эффективностью в отношении широкого спектра микроорганизмов.

Вместе с тем его применение в отношении коллагенсодержащих тканей, прежде всего костной, существенно ограничено вследствие радиационно-индуцированной деградации органического матрикса. При дозах, соответствующих стандартным режимам стерилизации, в коллагене происходят разрывы полипептидных цепей, разрушение водородных связей и денатурация тройной спирали. Эти изменения на молекулярном уровне приводят к нарушению фибриллярной организации, что в свою очередь вызывает ухудшение механических свойств материала, включая снижение прочности и пластичности [2–4]. Проблема приобретает особую остроту при работе с древними костными образцами, где коллаген уже частично деградирован в результате длительных диагенетических процессов [5–10]. Такие материалы характеризуются повышенной пористостью, накопленными микроповреждениями и существенно меньшей устойчивостью к внешним воздействиям, вследствие чего критические изменения могут возникать при дозах, значительно меньших стандартных стерилизующих значений.

В связи с этим возникает необходимость разработки щадящих методов стерилизации, обеспечивающих микробиологическую безопасность при минимальном воздействии на структуру ткани. Одним из перспективных подходов является комбинирование ионизирующего излучения с предварительной озоновой обработкой [11]. Озон, являясь сильным окислителем, способен эффективно инактивировать микроорганизмы при низких температурах, а также изменять кислородное состояние среды, обеспечивая достижение требуемого уровня стерильности при меньших дозах ионизирующего излучения [12,13]. Несмотря на наличие отдельных исследований в этой области, в настоящее время отсутствует количественное описание пороговых условий радиационной деградации коллагена и механизмов их контролируемого смещения. В настоящей работе предлагается подход, основанный на введении универсального структурного параметра — увеличения межфибриллярного расстояния Δr, позволяющего связать молекулярные изменения с макроскопическим механическим откликом.

Целью работы являются установление закономерностей радиационной и комбинированной озоно-радиационной деградации костной ткани различного генезиса, разработка физико-математической модели процесса и определение оптимальных режимов стерилизации, обеспечивающих сохранность структуры материала.

Исследование выполнено на шести независимых костных образцах различного происхождения: современной компактной кости крупного рогатого скота, трех плейстоценовых образцах бизона (Среднеколымск, Усть-Яна, Верхневилюйск) и двух образцах мамонтовой кости. Из каждого исходного образца изготавливалось в среднем

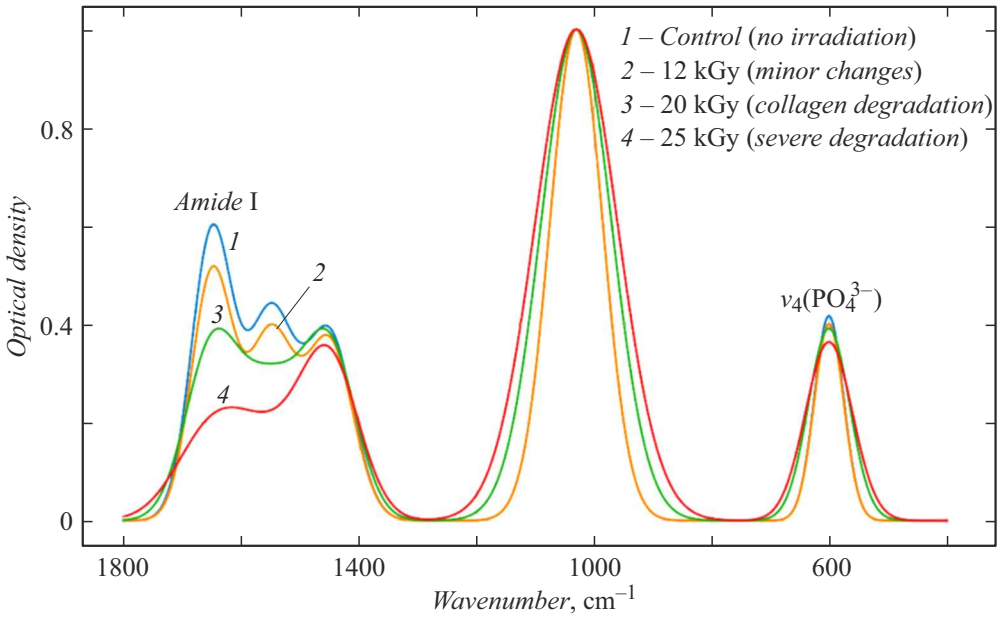


Рис. 1. ИК-фурье-спектры (FTIR) костной ткани при различных дозах радиационного воздействия (0–25 kGy).

24 стандартных фрагмента, использованных для контрольных и экспериментальных режимов обработки и последующего сравнительного анализа различных дозовых нагрузок и способов стерилизации. Образцы подвергались стандартной подготовке (очистка, обезжиривание, сушка) с последующей стандартизацией геометрии. Использовались три режима обработки: 1) озоновая — воздействие озоно-кислородной смеси (6–8 mg/l, 15–20 min) с контролем концентрации (анализатор ИКО-50); 2) радиационная — облучение электронным пучком (1 MeV) в диапазоне доз 5–25 kGy; 3) комбинированная — последовательность озон–облучение (5–25 kGy). Контрольные образцы не обрабатывались.

Структурный анализ проводился методами ИК-фурье-спектроскопии (Varian 7000 FTIR, 4000–400 cm^{-1}) и комбинационного рассеяния с деконволюцией амидных полос для оценки состояния коллагена и минеральной фазы. Наноструктура исследовалась методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) (Solver NEXT, NT-MDT) с определением межфибриллярного расстояния r, толщины фибрилл, шероховатости R_a и степени упорядоченности. Морфология и элементный состав дополнительно изучались методом растровой электронной микроскопии (JEOL JSM-7800F с EDS), включая анализ пористости, дефектов и распределения элементов. Механические свойства оценивали по микротвердости методом Виккерса при нагрузке 0.05 kgf (HV0.05) и времени выдержки 10 s, а также по прочностным характеристикам образцов. Эффективность стерилизации контролировалась микробиологическим посевом, максимальная инактивация достигалась при комбинированной обработке. Для интерпретации результатов использована физико-математическая модель, в которой коллаген представлен системой взаимодействующих диполей, а радиационная деградация описывается увеличением межфибриллярного расстояния Δr как функции поглощенной дозы. Статистическая обработка выполнялась в OriginPro 2023, Statistica 13.3 и Matlab (t-критерий Стьюдента, $p < 0.05$); спектры нормировались по полосе Амид I, данные АСМ обрабатывались в Gwyddion.

Спектроскопический анализ (FTIR и комбинационное рассеяние) выявил выраженную зависимость структуры костной ткани от поглощенной дозы (рис. 1). В нативных образцах фиксируются высокая интенсивность амидных полос и стабильное соотношение органической и минеральной фаз (Am I/Ph ≈ 0.18 для современной кости), тогда как в ископаемых образцах этот показатель изначально ниже. С ростом дозы уменьшается интенсивность полосы Амид I (~ 1660 cm^{-1}), снижается вклад α-спиралей и увеличивается доля β-структур и аморфной компоненты, что отражает разрушение тройной спирали коллагена [14]. Одновременно ослабевает сигнал фенилаланина и уширяется фосфатная полоса (~ 960 cm^{-1}), что указывает на частичную дестабилизацию минеральной фазы.

Деконволюция полосы 1500–1750 cm^{-1} показала двукратное снижение вклада α-спирального компонента при 20–25 kGy и рост β-структур, что соответствует разрыву водородных связей и переходу к дезорганизованному состоянию белка. Анализ амидных полос (I–III) также позволил количественно оценить остаточное содержание коллагена, уменьшающееся с ростом дозы.

Наноструктурный анализ методом АСМ подтвердил последовательную деградацию фибриллярной организации. В исходном состоянии сохраняется D-периодичность (~ 67 nm), устойчивая до ~ 12 kGy. При более

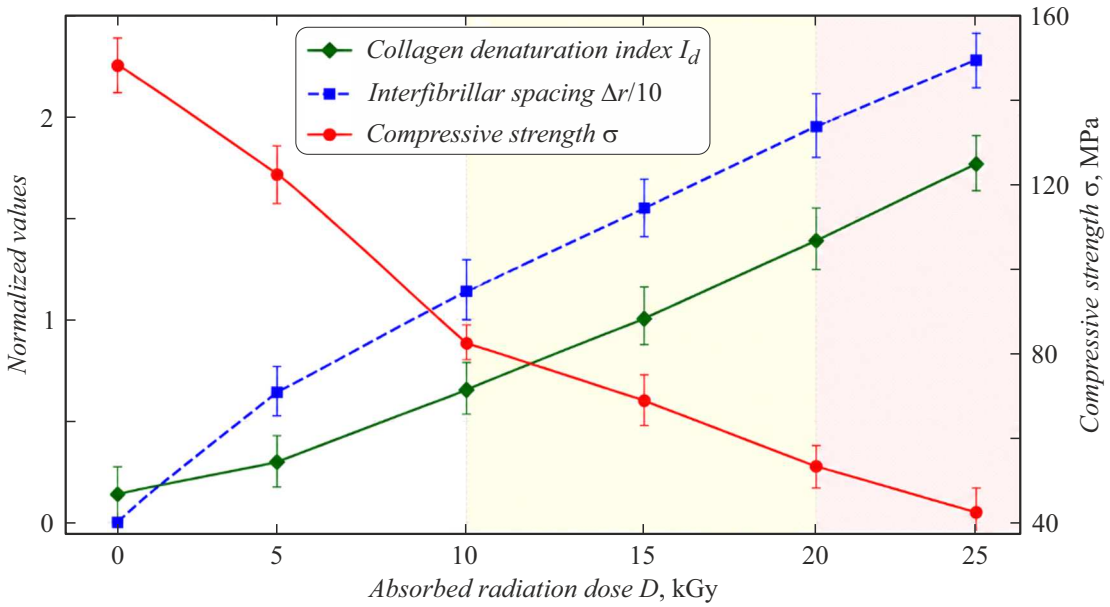


Рис. 2. Радиационно-индуцированные изменения параметров деградации костной ткани древнего бизона (возраст около 40 тыс. лет) в зависимости от поглощенной дозы радиации D. Представлены индекс денатурации коллагена I_d, изменение межфибриллярного расстояния Δr и предел прочности при сжатии σ. Значения I_d и Δr нормированы относительно контрольного образца (0 kGy); значения Δr уменьшены в 10 раз для совместного отображения на одной оси. Выделенные цветом области соответствуют начальной (0–10 kGy), переходной (10–20 kGy) и выраженной (20–25 kGy) стадиям радиационно-индуцированной деградации. Ошибки представлены как среднее ±SD ($n = 3$).

высоких дозах наблюдаются ее исчезновение, увеличение межфибриллярных расстояний и рост шероховатости; при 25 kGy структура становится аморфной. Параметр Δr возрастает с дозой, достигая ~ 30 nm, при этом критическое значение $\Delta r \approx 13$ nm соответствует потере структурной целостности (рис. 2). Для ископаемых образцов этот порог достигается при меньших дозах, что отражает их повышенную радиочувствительность.

Для количественного описания наблюдаемых изменений предложена феноменологическая модель, связывающая деградацию коллагенового матрикса с увеличением межфибриллярного расстояния Δr. В рамках эффективного описания межмолекулярное взаимодействие представлено потенциалом

$$U(r) = -\frac{A}{r^6},$$

где A — эффективная константа межмолекулярного взаимодействия.

Влияние дозы ионизирующего излучения учитывается через параметр

$$\Psi(D) = \eta \frac{D}{A},$$

где η характеризует эффективность радиационно-индуцированной деградации структуры, D — поглощенная доза ионизирующего излучения [kGy].

Модельное изменение межфибриллярного расстояния определяется выражением

$$\Delta r = r_1 - r_0, \qquad r_1 = \frac{r_0}{\sqrt{1 - r_0^6 \Psi(D)}}.$$

Здесь r_0 — исходное межфибриллярное расстояние, r_1 — расстояние после воздействия, Δr — изменение межфибриллярного расстояния.

Полученные зависимости демонстрируют нелинейный рост Δr с увеличением дозы и наличие порогового поведения, соответствующего нарушению структурной устойчивости. Сопоставление экспериментальных и модельных данных показывает их количественное согласование (расхождение $< 5\,\%$) и подтверждает корректность выбранного подхода.

Для интегральной оценки радиационно-индуцированных изменений на различных масштабных уровнях на рис. 2 сопоставлены индекс денатурации коллагена I_d, изменение межфибриллярного расстояния Δr и предел прочности на сжатие σ. В области более низких доз изменения всех трех параметров незначительны. Начиная с доз порядка 12–15 kGy наблюдается ускоренный рост Δr и степени денатурации коллагена, сопровождающийся снижением прочности. При дозах 20–25 kGy реализуется стадия выраженной деградации с потерей фибриллярной организации и существенным ухудшением механических свойств. Полученные результаты демонстрируют количественную связь между молекулярными, наноструктурными и механическими измене-

ниями и подтверждают определяющую роль деградации коллагенового матрикса в снижении механической прочности ископаемой костной ткани.

Показано, что предварительная обработка озонокислородной смесью (6–8 mg/l, до 20 min) не вызывает морфологических изменений поверхности, но приводит к увеличению содержания кислорода в поверхностных слоях. Это усиливает „кислородный эффект“ при последующем облучении и позволяет снизить необходимую дозу без потери стерилизующей эффективности. В присутствии озона деструктивные изменения становятся заметными при дозах $\geqslant 15$ kGy, что подтверждает целесообразность снижения дозовой нагрузки. Растровая электронная микроскопия выявила формирование микротрещин, дефектов и рост шероховатости при дозах 20–25 kGy, а энергодисперсионный анализ — увеличение содержания кислорода вследствие окисления органической фазы. При комбинированной обработке эти эффекты выражены значительно слабее.

Механические испытания согласуются со структурными данными: до ~ 12 kGy свойства практически не изменяются, тогда как при 20–25 kGy прочность снижается на 10–15 % и возрастает хрупкость при сохранении модуля упругости, что указывает на деградацию коллагенового каркаса при относительной стабильности минеральной фазы. В ископаемых образцах наблюдается более выраженная потеря прочности и упругопластического поведения.

Разработанная модель, описывающая коллаген как систему дипольных взаимодействий, количественно воспроизводит экспериментальные данные (расхождение $< 5\,\%$) и связывает деградацию с увеличением Δr, отражающим расслоение фибрилл.

Установлена количественная связь между молекулярными, наноструктурными и механическими изменениями. В совокупности результаты демонстрируют синергетический эффект озона и радиации и обосновывают оптимальный режим комбинированной стерилизации (озон 6–8 mg/l + доза ~ 12 kGy), обеспечивающий стерильность при сохранении структуры коллагена. Показано, что сохранность ископаемого материала также зависит от внешних условий (география, воздействие грунтовых вод), при этом минеральная фаза остается относительно стабильной.

Полученные данные формируют основу для разработки щадящих технологий стерилизации и имеют значение как для биомедицинских задач, так и для сохранения палеонтологических объектов, включая образцы, контаминированные микроскопическими грибами.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного задания № FSRG-2024-0002 и при финансовой поддержке Эндаумент-фонда Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] W. Gluszewski, IAEA Radiat. Technol. Ser., **41** (1), 41 (2011).
[2] D.B. Crocker, O. Akkus, M.E. Oest, C.M. Rimnac, J. Mech. Behav. Biomed. Mater., **160**, 106759 (2024). DOI: 10.1016/j.jmbbm.2024.106759
[3] L. Fan, Y. Ren, S. Emmert, I. Vučković, S. Stojanovic, S. Najman, R. Schnettler, M. Barbeck, K. Schenke-Layland, X. Xiong, Int. J. Mol. Sci., **24** (4), 3744 (2023). DOI: 10.3390/ijms24043744
[4] H. Nguyen, A.I. Cassady, M.B. Bennett, E. Gineyts, A. Wu, D.A.F. Morgan, M.R. Forwood, Bone, **57** (1), 194 (2013). DOI: 10.1016/j.bone.2013.07.036
[5] C. Ryder, G. Celis, T. Deviése, S. Talamo, K. Douka, M. Collins, A. Perri, H. Thakar, W. Pestle, M. Sponheimer, J. Archaeolog. Sci., **185**, 106448 (2026). DOI: 10.1016/j.jas.2025.106448
[6] M. Lackner, B. Zelger, M. Schirmer, S.H. Unterberger, A.K. Pallua, G. Schäfer, M. Sieß, I. Brosch, B. Zelger, G. Degenhart, M. Hermann, R. Arora, M. Klosterhuber, W. Parson, E. Kustatscher, C.W. Huck, J.D. Pallua, Sci. Rep, **16**, 18255 (2026). DOI: 10.1038/s41598-026-49212-9
[7] M. Unal, R. Ahmed, A. Mahadevan-Jansen, J.S. Nyman, Analyst, **146** (24), 7464 (2021). DOI: 10.1039/d1an01560e
[8] G. Falgayrac, R. Vitale, Y. Delannoy, H. Behal, G. Penel, C. Olejnik, L. Duponchel, T. Colard, Biology, **11** (10), 1542 (2022). DOI: 10.3390/biology11101542
[9] G. Calábková, J. Chlachula, M. Ivanov, M. Hložková, J. Czerniawska, M. Vasinova-Galiova, L. Prokeš, P. Gadas, Quat. Res., **111**, 84 (2022). DOI: 10.1017/qua.2022.28
[10] E.I. Végh, N. Márquez-Grant, R.J. Schulting, J. Appl. Spectrosc., **76** (9), 1080 (2022). DOI: 10.1177/00037028221085600
[11] И.В. Матвейчук, В.В. Розанов, И.К. Гордонова, З.К. Никитина, Н.И. Сидельников, Ю.Ю. Литвинов, А.А. Николаева, А.П. Черняев, И.В. Пантелеев, *Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов*, патент РФ № 2630464 (заявл. 29.07.2016, опубл. 08.09.2017), бюл. № 25.
[12] N. Nikolaeva, M. Al Kobaisi, D. Ammosov, S. Stepanov, V. Rozanov, J. Comput. Appl. Math., **474**, 116979 (2026). DOI: 10.1016/j.cam.2025.116979
[13] N.A. Nikolaeva, V.V. Rozanov, A.P. Chernyaev, I.V. Matveychuk, M.M. Makarova, Int. J. Mol. Sci., **24** (19), 14426 (2023). DOI: 10.3390/ijms241914426
[14] E.P. Paschalis, R. Mendelsohn, A.L. Boskey, Clinic. Orthop. Rel. Res., **469** (8), 2170 (2011). DOI: 10.1007/s11999-010-1751-4