

ИСТОЧНИКИ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ: ВЛИЯНИЕ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ И СОСТАВА АКТИВНЫХ ЧАСТИЦ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СУБСТРАТАХ

DOI: 10.17691/stm2018.10.2.10

УДК 533.9

Поступила 29.05.2017 г.

**И.М. Пискарев**, к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник¹;**К.А. Астафьева**, младший научный сотрудник отдела физико-химических исследований ЦНИЛ²;**И.П. Иванова**, д.б.н., зав. отделом физико-химических исследований ЦНИЛ²¹Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д.В. Скобельцына Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, 1;²Приволжский исследовательский медицинский университет, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — изучение влияния поглощенной дозы и состава активных частиц различных источников газоразрядной плазмы на физико-химические изменения в биологических субстратах.

Материалы и методы. Источниками газоразрядной плазмы служили генератор плазмы вспышечного коронного электрического разряда, импульсные источники излучения плазмы «Пилимин ИР-10», «Пилимин ИР-1» и «Бриг», кварцевый ультрафиолетовый облучатель ОУФК-01 «Солнышко» с ртутной лампой низкого давления ДКБ-9. Дозу излучения определяли с помощью дозиметра Фрикке. Оптические плотности растворов регистрировали спектрофотометром СФ-102. На спектрофотометре «ФЛЮОРАТ-02 ПА-НОРАМА» изучали спектры флюоресценции водного раствора триптофана в концентрации 10 мг/л после обработки источниками газоразрядной плазмы. Концентрацию сульфгидрильных (–SH) групп до и после обработки излучением генератора «Пилимин ИР-10» и УФ-лампы ДКБ-9 определяли для водных растворов альбумина и метгемоглобина.

Результаты. Проанализированы спектры излучения генератора плазмы вспышечного коронного электрического разряда и плазмы искрового разряда на воздухе для генератора «Пилимин ИР-10». Спектральные данные показывают, что плазма искрового электрического разряда является слабоионизированной, основным действующим фактором служит тепловое излучение.

В спектрах поглощения проб воды, обработанных излучением плазмы генераторов «Пилимин ИР-1», «Пилимин ИР-10» и «Бриг», наблюдается широкий пик в области ~360 нм, в которой находится пик поглощения азотистой кислоты NO_2^- . Пик имеет структуру, связанную с образованием азотных соединений более сложной природы. При увеличении длительности импульса излучения увеличивается оптическая плотность при длинах волн меньше 330 нм. Высота пика 355–360 нм относительно подложки практически не меняется.

Под действием излучения ртутной лампы в воде образуются перекись водорода и ионы NH_4^+ .

Наибольшая поглощенная доза отмечена после обработки плазмой вспышечного коронного электрического разряда, наименьшая — излучением УФ-лампы ДКБ-9 и генератором «Бриг».

Под действием излучения плазмы концентрация –SH-групп в триптофане, альбумине и метгемоглобине увеличивается. Поглощенная доза, создаваемая генератором «Пилимин ИР-10», в 4,5 раза превышает дозу, создаваемую излучением УФ-лампы, т.е. эффект обусловлен конкретным механизмом реакции и не связан непосредственно с дозой.

Заключение. Основную роль в изменениях в биологических субстратах под действием разных источников плазмы играет состав активных частиц, генерируемых источником. Эти данные позволят разработать более эффективные газоразрядные устройства для биомедицинских целей и могут быть использованы для внедрения инновационных плазменных технологий в медицине.

Ключевые слова: газоразрядная плазма; газоразрядные устройства; источники излучения плазмы; плазменные технологии в медицине.

Как цитировать: Piskarev I.M., Astaf'eva K.A., Ivanova I.P. Sources of gas-discharge plasma: effect of the absorbed dose and active particle composition on physicochemical transformations in biological substrates. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(2): 90–100, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.2.10>

Для контактов: Пискарев Игорь Михайлович, e-mail: i.m.piskarev@gmail.com

English

Sources of Gas-Discharge Plasma: Effect of the Absorbed Dose and Active Particle Composition on Physicochemical Transformations in Biological Substrates

I.M. Piskarev, PhD, Leading Reseracher¹;

K.A. Astaf'eva, Junior Researcher, Department of Physicochemical Researches, Central Scientific Research Laboratory²;

I.P. Ivanova, DSc, Head of the Department of Physicochemical Researches, Central Scientific Research Laboratory²

¹Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University, 1 Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russia;

²Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

The aim of the investigation was to study the effect of the absorbed dose and composition of active particles of various gas-discharge plasma sources on physicochemical changes in biological substrates.

Materials and Methods. A generator of flash corona electrical discharge plasma, pulsed sources of plasma radiation Pilimin IR-10, Pilimin IR-1, and Brig, OUFK-01 Solnyshko quartz ultraviolet irradiator with a DKB-9 low-pressure mercury lamp served as the sources of gas-discharge plasma. The radiation dose was measured using a Fricke dosimeter. Optical density of the solutions was registered with the help of SF-102 spectrophotometer. Fluorat-02 Panorama spectrophotometer was used to study fluorescence spectra of tryptophan in the aqueous solution at 10 mg/L concentration after treatment with gas-discharge plasma sources. Concentration of sulfhydryl (–SH) groups before and after irradiation with Pilimin IR-10 and DKB-9 UV lamp was determined for aqueous solutions of albumin and methemoglobin.

Results. Emission spectra of the generator of flash corona electrical discharge plasma and spark discharge plasma in the air for Pilimin IR-10 generator have been analyzed. The spectral data show that plasma of the spark electrical discharge is weakly ionized, thermal radiation serves as the main acting factor.

A wide peak in the range of ~360 nm region, where there is a peak of nitrous acid NO₂⁻ absorption, is observed in the spectra of water samples exposed to plasma radiation of Pilimin IR-10, Pilimin IR-1, and Brig generators. The peak has a structure connected with the formation of nitrogen compounds of a more complicated nature. Increase of radiation pulse duration results in the increase of optical density at the wavelengths less than 330 nm. 355–360 nm peak height relative to the substrate does not practically change.

Under the action of the mercury lamp radiation, hydrogen peroxide and NH₄⁺ ions are generated in water.

The highest absorption dose is noted after the treatment with flash corona electrical discharge plasma, the lowest with radiation of the DKB-9 UV lamp and Brig generator.

The concentration of –SH-groups in tryptophan, albumin, and methemoglobin increases when exposed to plasma radiation. The absorbed dose generated by the Pilimin IR-10 generator exceeds 4.5 times the dose generated by the UV lamp, i.e. the effect is caused by a specific reaction mechanism and is not connected directly with the dose.

Conclusion. The main role in the alterations in biological substrates exposed to various plasma sources is played by the composition of the active particles generated by the source. These data allow the development of more effective gas-discharge devices for biomedical purposes and can be employed for implementation of innovation plasma technologies in medicine.

Key words: gas-discharge plasma; gas-discharge devices; plasma radiation sources; plasma technologies in medicine.

Введение

В последнее десятилетие активно исследуются медицинские и биологические эффекты холодной газоразрядной плазмы и излучения плазмы, а также создаются устройства на основе газоразрядных технологий [1–3]. Это генераторы плазмы и генераторы излучения плазмы различного типа, которые являются источниками активных частиц.

В генераторах плазмы используют барьерный разряд, скользящий дуговой разряд, искровой разряд и

коронный электрический разряд. Источники излучения плазмы — это электроразрядные лампы, в частности кварцевая ртутная лампа, светодиоды, лазеры УФ-диапазона, генераторы искрового разряда на воздухе [4, 5].

Первичные активные частицы плазмы образуются непосредственно в плазме, которая контактирует с обрабатываемым объектом, и напрямую реагируют с органическими веществами биологических субстратов объекта. Излучение плазмы воздействует на объект дистанционно (бесконтактно, неинвазивно), а пер-

вичные активные частицы образуются под действием излучения в субстрате и далее вступают в реакции с его веществами. Излучение плазмы — это фотоны, которые, проходя через воздух ($\lambda > 200$ нм) и попадая на объект, во-первых, прямо поглощаются и активируют реакции типа I и II с инициатором в триплетном состоянии, а во-вторых, принимают участие в образовании активных форм кислорода и азота [6–8].

Продукты, образующиеся под действием плазмы или излучения плазмы, могут быть обнаружены спектрофотометрическими и химическими методами в водных растворах органических или неорганических веществ. При отсутствии в водном растворе инициаторов и в случае невозможности прямого поглощения фотонов молекулами растворенных веществ активные формы кислорода и азота образуются под действием излучения непосредственно в воде. Именно эти активные частицы инициируют химические превращения органических субстратов [8].

Биомедицинские устройства на основе газоразрядных технологий [4, 9] отличаются мощностью разряда, длительностью импульсов, потоком фотонов, составом образующихся активных частиц и т.д. Биологические эффекты (например, цитотоксический эффект и другие) под действием разных источников плазмы выражены в большей или меньшей степени. При этом остаются открытыми и неизученными роль дозы (энергии, поглощаемой образцом) и конкретные особенности реакций, инициируемых образующимися частицами. Анализ влияния поглощенной дозы на биологические субстраты от различных источников излучения позволит оптимизировать характеристики излучения, более направленно влиять на химический или биохимический процесс и разработать эффективные инновационные технологии на основе газоразрядной плазмы для медицины.

Для оценки роли дозы и состава активных частиц в конкретных реакциях необходимы анализ состава образующихся активных частиц, механизмов реакций, инициируемых частицами разного типа, доз излучения (энергия, выделившаяся в образце), а также сравнение биохимических эффектов после воздействия газоразрядной плазмы и излучением плазмы.

Цель исследования — изучение влияния поглощенной дозы и состава активных частиц различных источников газоразрядной плазмы на физико-химические превращения в биологических субстратах.

Материалы и методы

Источники активных частиц

Генератор плазмы вспышечного коронного электрического разряда. Генератор (рис. 1) представляет собой стеклянный сосуд диаметром 90 мм и объемом 0,5 л, который закрыт фторопластовой крышкой. Через крышку по краям сосуда вводятся 7 разрядных электродов из нержавеющей стали диаметром 2 мм. В центре крышки вводится земляной

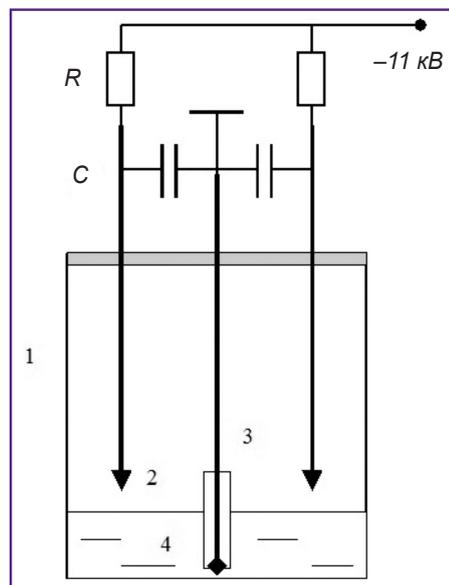


Рис. 1. Схема генератора плазмы вспышечного коронного электрического разряда:

1 — реакционный сосуд; 2 — разрядные электроды; 3 — земляной электрод; 4 — обрабатываемая жидкость

электрод из того же материала. Разрядные электроды располагаются на расстоянии 6,1–6,2 мм от поверхности обрабатываемой жидкости. Земляной электрод вводится до самого дна сосуда. Электрод помещен в фторопластовую трубку и имеет контакт с жидкостью только на дне сосуда. Объем жидкости — 49 мл, его величина определяется необходимостью обеспечить заданное расстояние между разрядными электродами и поверхностью жидкости. Толщина слоя жидкости — 10 мм.

Каждый разрядный электрод соединен с землей через емкость $C=30$ пФ. На них через резистор $R=20$ МОм подается высокое напряжение 11 кВ отрицательной полярности. В этих условиях на электроде возникает вспышечный коронный электрический разряд [10]. Частота повторения импульсов ~ 100 кГц, амплитуда импульса тока — до 2 мА, средний ток разряда на каждый электрод — 70 мкА. Под действием электронов, эмитируемых коронным разрядом, возникает так называемый электронный ветер — поток электронов от острия электрода до поверхности воды. Электроны сталкиваются с молекулами газа, передают им импульс. В результате возникает направленное движение ионизированного газа в сторону жидкости. Электронный ветер переносит активные частицы, образовавшиеся в области разряда, к поверхности жидкости. В жидкости напротив каждого электрода образуется ямка. Импульсный характер разряда и электронный ветер обеспечивают перемешивание слоя жидкости почти на всю глубину [10]. При этом важно, чтобы земляной электрод имел контакт с жид-

костью только на дне сосуда. В противном случае перемешивание будет очень слабое.

Таким образом, при использовании генератора плазмы вспышечного коронного электрического разряда активные частицы образуются в области разряда и переносятся электронным ветром к поверхности жидкости. На поверхности активные частицы взаимодействуют с субстратом, продукты взаимодействия смешиваются со всей жидкостью.

Генераторы импульсного излучения плазмы «Пилимин ИР-10», «Пилимин ИР-1». В этих генераторах (НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына МГУ им. М.В. Ломоносова) энергия накапливается в конденсаторе и выделяется в разрядном промежутке [11, 12] (рис. 2). Конденсатор C заряжается от источника высокого напряжения 11 кВ через балластное сопротивление R . Пробивное напряжение разрядного промежутка, к которому подключен конденсатор, — 6 кВ. Когда напряжение на конденсаторе станет больше 6 кВ, происходит пробой, возникает искровой разряд. Когда конденсатор полностью разрядится, разряд прекращается и конденсатор начинает снова заряжаться. В генераторе «Пилимин ИР-10» $C=3,3$ нФ, $R=10$ МОм, длительность импульса разряда — 150 мкс, частота повторения импульсов — 10 Гц. Энергия, выделяемая в разряде за один импульс, составляет 0,059 Дж, в секунду — 0,59 Дж. В генераторе «Пилимин ИР-1» величина $C=0,1$ мкФ, $R=3$ МОм, длительность импульса — 1500 мкс, частота повторения импульсов — 1 Гц. Энергия, выделяемая в разряде за 1 импульс, составляет 1,8 Дж. Длительность переднего фронта импульса обоих генераторов ~50 нс.

Импульсный источник излучения плазмы «Бриг» [13]. В генераторе «Бриг» (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров Нижегородской области) (рис. 3) высокое напряжение на конденсатор $C=0,1$ мкФ подается от зарядного устройства HV . При достижении заданного напряжения 10 кВ зарядное устройство отключается. С заданной частотой 1 Гц замыкается управляемый

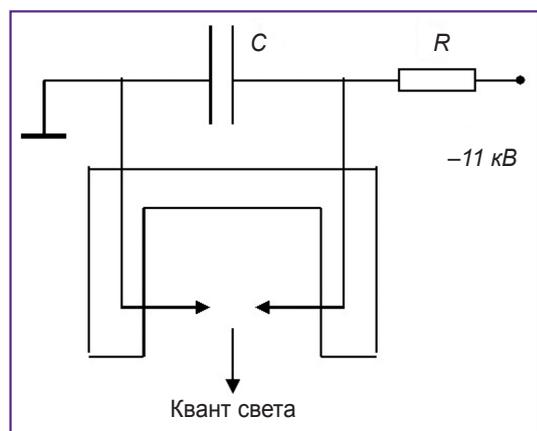


Рис. 2. Схема разрядного контура генераторов излучения плазмы «Пилимин ИР-1» и «Пилимин ИР-10»

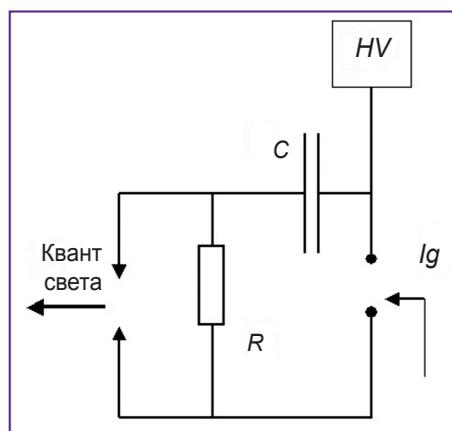


Рис. 3. Схема разрядного контура генератора излучения плазмы «Бриг»

вакуумный разрядник Ig . Конденсатор разряжается через сопротивление $R=75$ Ом. При замыкании разрядника формируется импульс напряжения с амплитудой 10 кВ, передним фронтом 50 нс и длительностью до 4 мкс, который прикладывается к искровому промежутку. Частота повторения импульсов — 1 Гц. В искровом промежутке выделяется энергия 5 Дж.

Кварцевый ультрафиолетовый облучатель ОУФК-01 «Солнышко». В облучателе (НПП «Солнышко», Россия) используется ртутная лампа низкого давления ДКБ-9 мощностью 9 Вт. Лампа работает в непрерывном режиме, дает монохроматическое излучение с длиной волны 253,7 нм. Поток фотонов составляет, согласно паспортным данным, $I_0=5,4 \cdot 10^{-8}$ моль(см²·с)⁻¹ на расстоянии 3 см от поверхности лампы.

Дозиметр Фрикке. Он представляет собой водный раствор соли Мора (2 г/л) ($[Fe^{2+}]=5,1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) в 0,4 М серной кислоте и 50 мг/л NaCl. Дозиметр применяется традиционно для изучения ионизирующего излучения. В реакциях с активными частицами, образующимися под действием ионизирующего излучения, двухвалентное железо окисляется до трехвалентного. Концентрация образующегося трехвалентного железа измеряется по оптической плотности полосы $\lambda=304$ нм, $\epsilon=2100$ л(моль·см)⁻¹ [14]. Если известна средняя энергия, необходимая для образования частицы-окислителя, то по оптической плотности полосы $\lambda=304$ нм можно определить энергию, поглощенную раствором, т.е. концентрация образовавшегося трехвалентного железа пропорциональна энергии, выделившейся в растворе. Оптическую плотность растворов регистрировали спектрофотометром СФ-102 («Аквион», Россия), толщина кварцевой кюветы — 10 мм.

Измерение флюоресценции. Измерения спектров флюоресценции проводили на спектрофотометре «ФЛЮОРАТ-02 ПАНОРАМА» («Люмэкс», Россия). Регистрировали спектры флюоресценции триптофана. Для триптофана длина волны возбуждения — 288 нм, длина волны регистрации — 350 нм, которые

были определены экспериментально. Известно, что флюорофоры могут тушить свою флюоресценцию [15], поэтому концентрацию триптофана определяли также экспериментально. Для этого измеряли зависимость флюоресценции от концентрации триптофана. При малых концентрациях флюоресценция линейно возрастает, достигает насыщения и начинает убывать. Для работы выбрана концентрация, соответствующая средней части начального линейного участка зависимости, которая составляла около 0,05 ммоль/л.

Определение концентрации –SH-групп. В работе использовали реактив Эллмана: 5,5-дитиобис-(2-нитробензойная кислота), или DTNB [15], а также фосфатный буфер: 0,1 М Na₂HPO₄, pH=8; денатурирующий буфер: 7 М мочевины в 0,1 М Na₂HPO₄, pH=8–8,5; раствор реактива Эллмана: (4 мг DTNB)/(1 мл фосфатного буфера); 5% водный раствор альбумина (7,7·10⁻⁴ М) как образец.

Измерения проводили следующим образом. Сначала к 3 мл денатурирующего буфера добавляли 100 мкл раствора Эллмана и 100 мкл исследуемой пробы. Перемешивали, инкубировали в течение 5 мин и фотометрировали против раствора денатурирующего буфера при λ=412 нм (D_{sample}). Оптическую плотность определяли спектрофотометрически с помощью прибора СФ-102, толщина кюветы — 10 мм. Далее измеряли оптическую плотность при той же длине волны для контрольного раствора: 3 мл денатурирующего раствора, 100 мкл фосфатного буфера и 100 мкл раствора Эллмана (D_{DTNB}). Оптическая плотность, соответствующая количеству –SH-групп в исследуемой пробе, составляла: $D_{\text{SH}} = D_{\text{sample}} - D_{\text{DTNB}}$. Концентрацию –SH-групп после обработки излучением генератора «Пилимин ИР-10» и УФ-лампы определяли для альбумина (50 г/л) и метгемоглобина (1,4 г/л) исходя из коэффициента экстинкции 13 700 М⁻¹·см⁻¹ [16].

Анализ состава активных частиц. Анализ проводили по спектрам излучения разряда, специфическим реакциям в растворе и по спектрам поглощения проб дистиллированной воды, обработанных плазмой и источниками излучения. Спектры излучения генераторов измеряли мини-спектрометром с волоконным входом FSD10 (ООО «Научно-технический центр волоконно-оптических устройств», Россия). Для определения концентрации перекиси водорода в пробу вводили треххлористый титан, который приготавливали растворением 0,3 г металлического титана в 50 мл концентрированной соляной кислоты. В пробу обработанной воды (4 мл) добавляли 0,1 мл раствора треххлористого титана. Обработывали пробу воды в двух чашках Петри суммарным объемом 18 мл. Для идентификации перекиси в обработанную пробу добавляли треххлористый титан. С перекисью водорода он образует комплекс, имеющий максимум в спектре поглощения при λ=410 нм. Калибровку спектра осуществляли по растворам перекиси водорода известной концентрации, в которые добавляли TiCl₃. Содержание ионов NH₄⁺ опре-

деляли с помощью реактива Несслера. Калибровку методики осуществляли по растворам солей аммония известной концентрации.

Обработку проб воды плазмой вспышечного коронного электрического разряда проводили в реакторе (см. рис. 1), объем пробы — 49 мл; в остальных случаях — в чашке Петри диаметром 40 мм, объем раствора — 5 мл. Измерения спектров флюоресценции выполняли на спектрофотометре «ФЛЮОРАТ-02 ПАНОРАМА». Спектры поглощения и оптические плотности растворов при определенной длине волны регистрировали спектрофотометром СФ-102, толщина кварцевой кюветы — 10 мм. Использовали химически чистые реактивы и дистиллированную воду, pH=5,5. Величину pH измеряли прибором «Эксперт-001» («Эконикс», Россия).

Результаты эксперимента

Состав активных частиц газоразрядных устройств. Для оценки состава активных частиц, генерируемых каждым источником, измеряли спектры излучения плазмы в диапазоне длин волн 180–1000 нм и спектры поглощения проб дистиллированной воды, обработанной плазмой или излучением плазмы, в диапазоне длин волн 250–400 нм.

Генератор плазмы вспышечного коронного электрического разряда. Известно, что основными активными частицами, образующимися при вспышечном коронном электрическом разряде на воздухе, являются радикалы OH^{*}, HO₂^{*}, NO^{*}, озон и перекись водорода [17]. На спектре излучения плазмы вспышечного коронного электрического разряда (рис. 4, а) видно, что оно сосредоточено в интервале длин волн 280–380 нм. В этой области высвечиваются радикалы OH^{*}, HO₂^{*} и NO^{*}. Время их жизни — 10⁻⁷–10⁻⁹ с. В УФ-С-области 200–280 нм излучения нет.

Короткоживущие радикалы, попавшие в обрабатываемую воду с электронным ветром, гибнут во взаимодействиях между собой. Продуктом распада радикалов OH^{*}, HO₂^{*}, озона и перекиси водорода является вода. Единственным стабильным продуктом, который может образоваться после распада радикалов NO^{*}, являются ионы NO₃⁻. Для обнаружения продуктов, образовавшихся в воде, проба воды объемом 49 мл обрабатывалась вспышечным коронным электрическим разрядом в течение 1 ч. В спектре поглощения обработанного раствора (рис. 5) пик поглощения наблюдается при длине волны ~300 нм. При этой длине волны поглощаются ионы NO₃⁻. Коэффициент экстинкции этого пика определен нами путем измерения спектра поглощения 0,01 М раствора NaNO₃: ε=7 л(моль·см)⁻¹. Оптическая плотность А полосы с λ=300 нм составляет 0,013±0,001 ед. опт. пл. Она соответствует концентрации [NO₃⁻]=(1,86±0,15)·10⁻³ моль/л. Измеренное значение кислотности пробы pH=2,8±0,1. Концентрация ионов NO₃⁻ соответствует измеренной кислотности пробы.

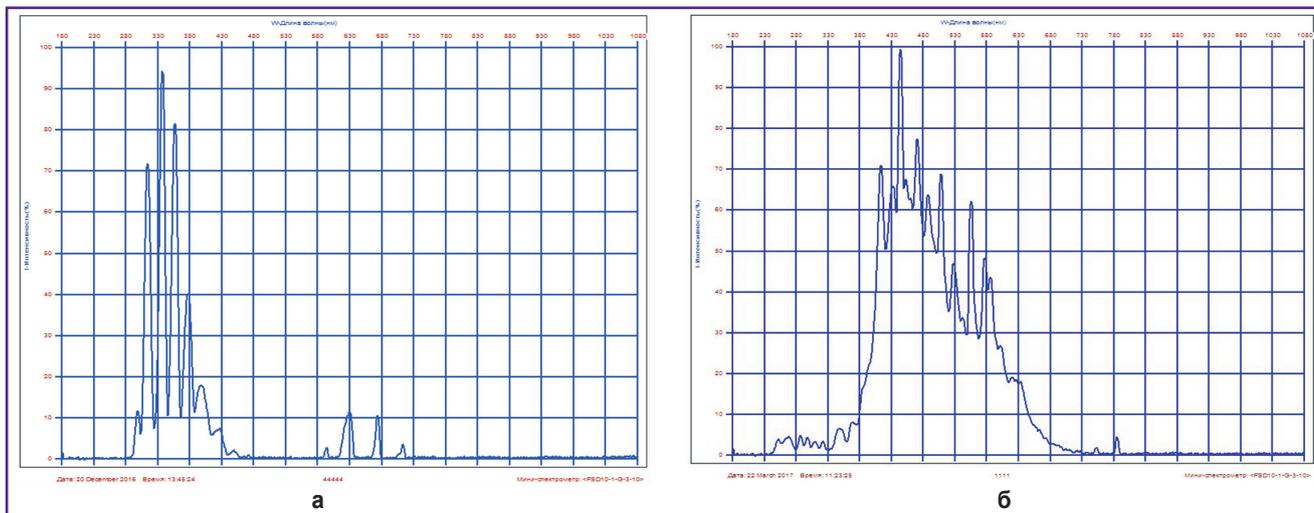


Рис. 4. Спектры излучения:

а — генератор плазмы вспышечного коронного электрического разряда; **б** — генератор излучения плазмы искрового разряда «Пилимин ИР-10»; при измерении спектров усиление в канале регистрации было отрегулировано так, чтобы максимальная интенсивность линии была близка к 100%

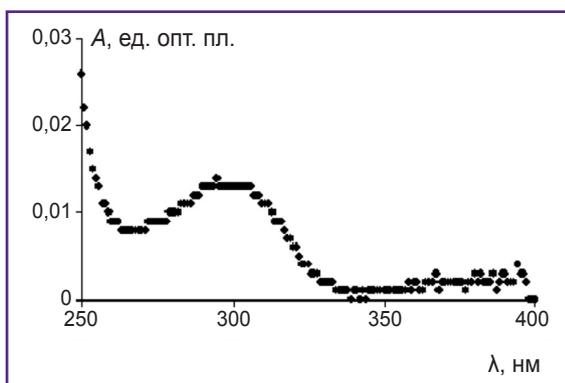


Рис. 5. Спектр поглощения дистиллированной воды, обработанной плазмой вспышечного коронного электрического разряда в течение 1 ч

Излучение ртутной лампы низкого давления ДКБ-9 облучателя ОУФК-01 «Солнышко».

В чистой дистиллированной воде отсутствуют сенсбилизаторы, и вероятность прямого поглощения фотонов при $\lambda=253,7$ нм очень мала. Поэтому единственным механизмом взаимодействия фотонов с водой является образование радикалов $\text{HO}_2\cdot$, впервые обнаруженное в работе [11]. Эти радикалы, взаимодействуя между собой, образуют перекись водорода. Полученные спектры поглощения раствора чистой перекиси водорода, спектр поглощения пробы сразу после облучения лампой в течение 5 ч и той же обработанной УФ-излучением пробы после добавления в нее треххлористого титана (рис. 6) позволяют определить концентрацию перекиси водорода в пробе воды, обработанной излучением ртутной лампы в течение 5 ч: $[\text{H}_2\text{O}_2]= (0,006\pm 0,001)\%$ или $2\cdot 10^{-3}$ моль/л. Выход пере-

киси водорода под действием излучения лампы ДКБ-9 составляет $(1,0\pm 0,2)\cdot 10^{-7}$ моль(л·с) $^{-1}$.

Оптическая плотность воды, обработанной УФ-излучением в течение 5 ч, в диапазоне длин волн 250–400 нм (рис. 6, кривая 2), значительно больше оптической плотности раствора чистой перекиси водорода (рис. 6, кривая 1), хотя концентрация чистой перекиси в этой пробе выше. Это означает, что под действием УФ-излучения лампы образуются и другие соединения. В реакции с реактивом Несслера были обнаружены ионы NH_4^+ . Их концентрация — около 10^{-4} г/л.

Спектры излучения плазмы и поглощения проб **Спектры излучения плазмы.** В работе использовались три источника излучения газоразрядной плаз-

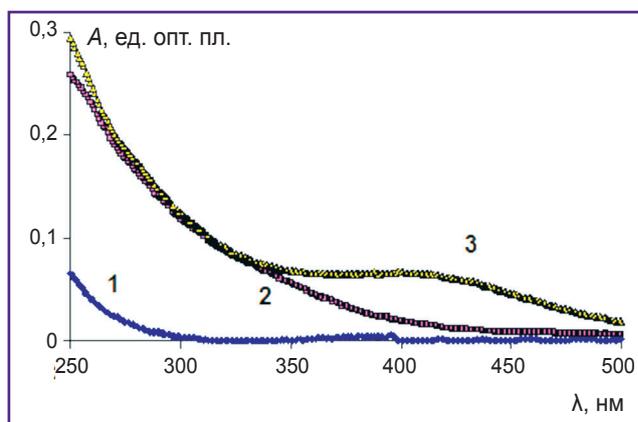


Рис. 6. Идентификация перекиси водорода в пробе воды, обработанной УФ-излучением ртутной лампы:

1 — чистая перекись водорода концентрацией 0,01%; 2 — проба воды, обработанная УФ-излучением в течение 5 ч; 3 — проба, обработанная в течение 5 ч с добавкой 0,1 мл TiCl_3

мы: «Пилимин ИР-10», «Пилимин ИР-1» и «Бриг», которые отличаются длительностью импульса разряда и энергией, выделяемой в импульсе. Во всех источниках действующим фактором является тепловое излучение нагретого электрическим разрядом плазменного шнура. Спектр теплового излучения начинается от нижней границы пропускания воздуха в ультрафиолетовой области ($\lambda=200$ нм) и перекрывает весь спектр видимого излучения.

Электрический разряд, во время которого могут генерироваться химически активные частицы, можно разбить на две фазы. Первая фаза — передний фронт разряда. В это время напряженность электрического поля в зазоре между электродами максимальна. Разность потенциалов между электродами — порядка 6 кВ. Велика вероятность возникновения высоковозбужденных частиц (радикалов). Вторая фаза — прохождение основного импульса тока. В это время искровой канал представляет собой нагретый проводник. Разность потенциалов между электродами — порядка 100 В. Электрическое поле в канале разряда минимально. Образовавшиеся в первой фазе активные частицы расходуются во взаимодействиях между собой, поэтому на этой стадии искровой канал является источником химически активных частиц (радикалов), а во второй фазе — источником УФ-излучения нагретого черного тела и стабильных продуктов химических превращений. Стабильные продукты попадают на обрабатываемый объект. Таким образом, объект (в эксперименте — вода) подвергается действию излучения плазмы, и именно в объект (воду) попадают продукты, образовавшиеся во второй фазе разряда.

Спектр излучения плазмы искрового разряда на воздухе для генератора «Пилимин ИР-10» представлен на рис. 4, б. Основные линии излучения сосредоточены в области длин волн 380–550 нм. Здесь находятся линии возбуждения молекул N_2 и O_2 . В области, где могут располагаться линии возбуждения ионов и радикалов (280–380 нм), пиков нет. В УФ-С-области 200–280 нм наблюдается широкий пик теплового излучения. Таким образом, спектральные данные показывают, что плазма искрового электрического разряда является слабоионизированной, ионы и радикалы в ней не образуются. Основным действующим фактором является тепловое излучение.

Излучение разряда в видимой области 380–550 нм, обусловленное распадом возбужденных молекул O_2 и N_2 , является малоактивным. В УФ-С-области 200–280 нм плазма разряда излучает как нагретое черное тело. Сравнить интенсивности линий в разных участках спектра на основании рис. 4, б не представляется возможным, так как в видимой области линии узкие, энергия излучения сосредоточена в узких спектральных областях и поэтому амплитуда пиков велика. В УФ-С-области, где излучение нагретого черного тела имеет сплошной спектр, концентрация энергии в узком спектральном диапазоне может быть суще-

ственно меньше, в то время как суммарная энергия, переносимая излучением, — больше. Поэтому амплитуда оказывается маленькой. В этих условиях, когда ширина линий разная, сравнивать энергию излучения в разных спектральных диапазонах на основании амплитуды линий излучения некорректно.

Спектры поглощения проб обработанной воды. Для оценки состава продуктов, образующихся в воде под действием излучения плазмы, пробы воды 5 мл облучали генераторами «Пилимин ИР-1», «Пилимин ИР-10» и «Бриг». Причем для генератора «Пилимин ИР-10» облучение проводилось как с открытой разрядной полостью, так и с закрытой кварцевым стеклом, пропускающим только УФ-излучение, но не пропускающим продукты, образующиеся при электрическом разряде. Спектры поглощения измеряли в диапазоне длин волн 250–400 нм непосредственно сразу после облучения и на следующие сутки (рис. 7).

Во всех спектрах наблюдается широкий пик в области ~360 нм — здесь находится пик поглощения азотистой кислоты NO_2 . Это позволяет предположить, что основным первичным продуктом, образующимся под действием излучения каждого источника, является азотистая кислота. Структура пика связана с образованием азотных соединений более сложной природы. Они не могут быть отнесены к нитрозаминам, которые в этой спектральной области дают один широкий пик с максимумом 355–360 нм. Азотистая кислота нестабильна, поэтому амплитуда пика 360 нм быстро уменьшается и через сутки пик пропадает. Но на следующий день становится более заметным пик ~300 нм, в который делают вклад ионы азотной кислоты NO_3 . Отсюда можно заключить, что под действием излучения газоразрядной плазмы в воде образуется нестабильная азотистая кислота, которая превращается в азотную. Следует обратить внимание, что под действием излучения ртутной лампы ($\lambda=253,7$ нм) соединения, дающие пик поглощения в области 360 нм, не образуются (см. рис. 6).

Соединения, дающие поглощение в области, меньшей 330 нм, образуются в самом разряде и попадают в воду за счет диффузии. Об этом свидетельствует сильное уменьшение оптической плотности в области длин волн меньше 330 нм в случае, когда разрядная полость закрыта кварцевым стеклом (рис. 7, в и 7, г). Выход соединений, дающих вклад в оптическую плотность при $\lambda < 330$ нм, увеличивается с возрастанием длительности импульса разряда. Длительность импульса, наибольшая для генератора «Пилимин ИР-1» (1500 мкс), существенно меньше для генератора «Пилимин ИР-10» (150 мкс) и наименьшая — для генератора «Бриг» (4 мкс). Это можно объяснить увеличением выхода продуктов, образующихся во второй фазе разряда с повышением длительности импульса.

Измерения поглощенной дозы. Поглощенная доза определялась дозиметром Фрикке. Концентрация

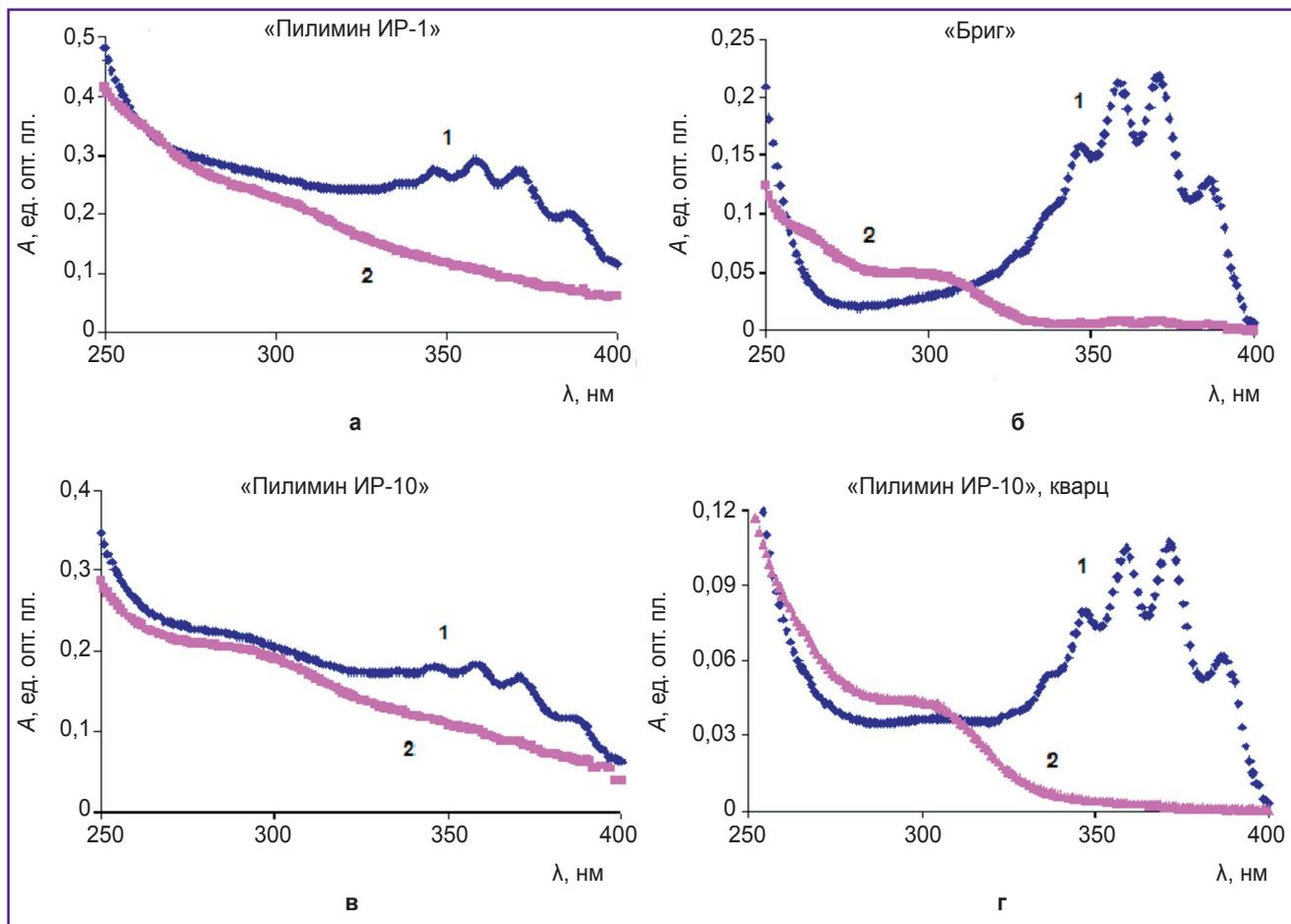


Рис. 7. Спектры поглощения проб воды, обработанных излучением плазмы искрового разряда разных приборов: а — «Пилимин ИР-1»; б — «Бриг»; в — «Пилимин ИР-10», открытая разрядная полость; г — «Пилимин ИР-10», разрядная полость, закрытая кварцевым стеклом; 1 — спектр сразу после обработки; 2 — спектр через сутки после обработки

трехвалентного железа, образовавшегося в растворе двухвалентного железа после воздействия каждого из рассматриваемых источников активных частиц, представлена на рис. 8. Кривые показывают, что во всех случаях зависимость $[Fe^{3+}]$ от времени обработки — линейная.

По оптической плотности полосы 304 нм можно определить количество окислителей, прореагировавших с двухвалентным железом и окисливших его до трехвалентного. Количество окислителей пропорционально энергии, выделившейся в водном растворе под действием излучения. Поэтому выход ионов трехвалентного железа пропорционален поглощенной раствором энергии излучения (дозе излучения). Наибольшая доза создается в пробе, обработанной плазмой вспышечного коронного электрического разряда, наименьшая — излучением УФ-лампы ДКБ-9 и генератором «Бриг».

Химические превращения под действием генераторов плазмы и источников излучения плазмы

Разрушение триптофана. Установлено, что под

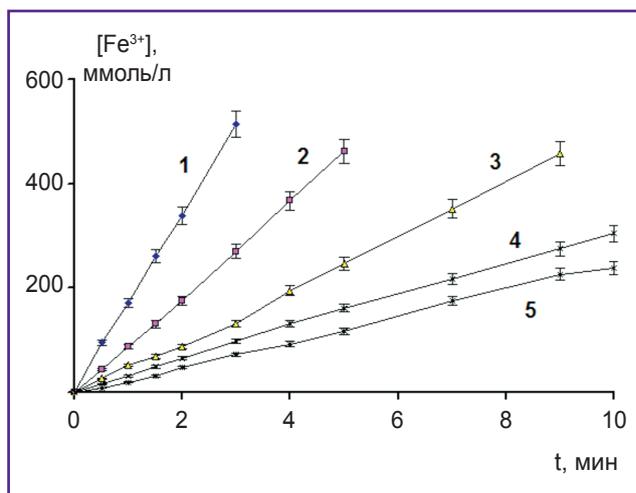


Рис. 8. Концентрация трехвалентного железа после обработки раствора Фрикке разными источниками:

1 — плазма вспышечного коронного разряда; 2 — генератор «Пилимин ИР-10»; 3 — «Пилимин ИР-1»; 4 — «Бриг»; 5 — УФ-лампа ДКБ-9

действием газоразрядных устройств, используемых в работе, триптофан разрушается. При разрушении триптофана уменьшается его флюоресценция. Исследовано уменьшение флюоресценции триптофана после обработки разными источниками активных частиц. Зависимость флюоресценции от времени обработки представлена на рис. 9. Видно, что наиболее сильное уменьшение флюоресценции происходит под действием плазмы вспышечного коронного электрического разряда, наиболее слабое — под действием излучения УФ-лампы и генератора «Бриг».

Сравнение рисунков 8 и 9 показало, что степень разрушения триптофана коррелирует с величиной поглощенной дозы. Отсюда можно сделать вывод, что процесс разрушения обусловлен поглощенной дозой.

Восстановление –SH-групп. Рассмотрим процесс, в котором эффект определяется свойствами конкретных частиц. Было исследовано восстановление –SH-групп под действием излучения генератора «Пилимин ИР-10» и УФ-лампы ДКБ-9 для растворов метгемоглобина и альбумина.

После обработки пробы метгемоглобина в течение 30 мин излучением генератора «Пилимин ИР-10» содержание –SH-групп в одной молекуле метгемоглобина увеличилось с 7 до $9,6 \pm 0,8$, а после обработки УФ-излучением в течение того же времени — до $10,1 \pm 0,8$.

В альбумине до обработки содержится в среднем $0,20 \pm 0,03$ –SH-групп на одну молекулу. После обработки излучением генератора «Пилимин ИР-10» в течение 30 мин их содержание увеличивается до $0,36 \pm 0,04$, а после обработки УФ-излучением за то же время — до $1,5 \pm 0,1$. Таким образом, выход восста-

новленных –SH-групп намного больше под действием УФ-излучения, хотя поглощенная доза, создаваемая генератором «Пилимин ИР-10», в 4,5 раза превышает поглощенную дозу, создаваемую излучением УФ-лампы. Это означает, что в данном случае эффект определяется конкретным механизмом реакции и не связан непосредственно с дозой.

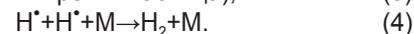
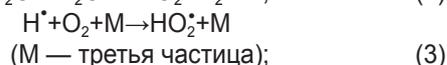
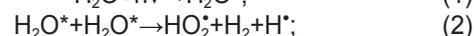
Обсуждение

Проведенные исследования позволяют описать основные характеристики (состав) активных частиц, образующихся под действием разных газоразрядных источников.

В таблице суммируются характеристики устройств, использованных в работе, и продуктов, образующихся под действием этих устройств в воде. Результаты приводятся как на основе данных, полученных в нашем исследовании, так и данных цитируемых литературных источников.

Состав и выходы окислителей, образующихся во вспышечном коронном электрическом разряде на воздухе, исследованы в работах [10, 17]. В наших экспериментах выходы частиц на 100 эВ энергии, выделившейся в разряде, составляют: озон — 130 молекул, радикалы OH^\bullet — 20 радикалов, соединения азота — 5 молекул.

Механизм образования активных частиц под действием УФ-С-излучения был предложен в работе [11] и подробно рассмотрен в работе [8]. В случае импульсного источника излучения электрического разряда при большой мгновенной плотности излучения, возникающего во время импульса разряда, возможен следующий механизм образования активных частиц под действием вспышки УФ-С-излучения через возбужденные состояния молекул воды [8]:



Под действием фотонов образуются возбужденные молекулы воды (реакция 1), которые ввиду их высокой мгновенной плотности взаимодействуют между собой (реакция 2). Энергия, расходуемая в одном акте взаимодействия на образование активных частиц (реакция 2), существенно больше той, которая расходуется при воздействии одного фотона. В случае реакции 2 в акте образования активной частицы участвуют два фотона. Для непрерывного пучка фотонов это условие не выполняется. Вероятность взаимодействия возбужденных молекул воды H_2O^* между собой для непрерывного пучка будет мала ввиду малой мгновенной концентрации возбужденных молекул воды, и выход реакций (2), (3), (4) будет меньше.

В воде присутствуют растворенные газы: азот и кис-

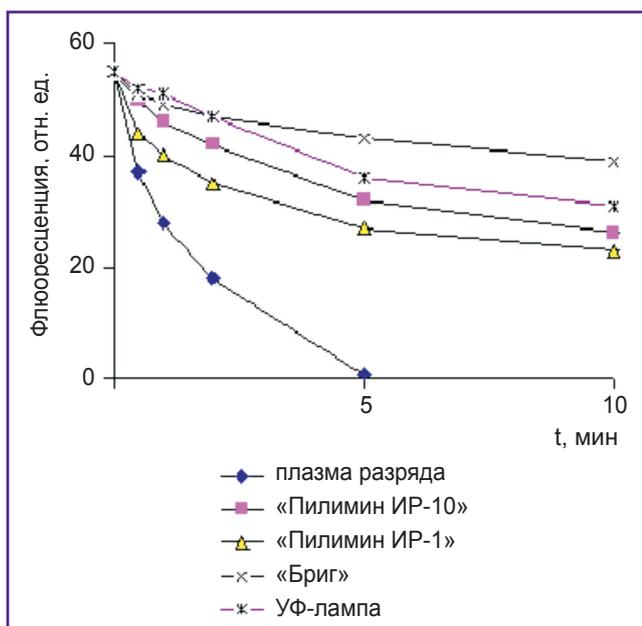
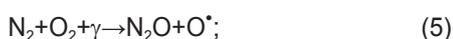


Рис. 9. Зависимость флюоресценции триптофана от времени обработки источниками активных частиц

Характеристика газоразрядных устройств, активных частиц и продуктов, образующихся в воде

Характеристика	Тип генератора				
	Плазма	«Пилимин ИР-10»	«Пилимин ИР-1»	«Бриг»	Ртутная УФ-лампа
Тип разряда	Вспышечный коронный	Искровой	Искровой	Искровой	Дуговой
Мощность разряда, Вт	7	0,59	1,8	5	9
Объем пробы, мл	49	5	5	5	5
Длительность импульса, мкс	0,2	150	1500	4	Непрерывное излучение
Частота повторения, Гц	100 000	10	1	1	Непрерывное излучение
Средний поток фотонов, моль(см ² ·с) ⁻¹	Фотонов нет	(1,26±0,20)·10 ⁻¹⁰	Не определяли	Не определяли	5,4·10 ⁻⁸
Поток фотонов в импульсе, моль(см ² ·с) ⁻¹	Не определяли	(1,2±0,2)·10 ⁻⁷	Не определяли	Не определяли	Не определяли
Первичные частицы	ОН [•] , O ₃	НО ₂ [•] , O [•] , N ₂ O	НО ₂ [•] , O [•] , N ₂ O	НО ₂ [•] , O [•] , N ₂ O	НО ₂ [•]
Вторичные частицы	НО ₂ [•] , NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	H ₂ O ₂ , NH ₄ ⁺
Скорость окисления Fe ²⁺ , моль(л·с) ⁻¹	(2,8±0,3)·10 ⁻⁶	(1,5±0,2)·10 ⁻⁶	(8,0±1,0)·10 ⁻⁷	(5,0±1,0)·10 ⁻⁷	(4,0±0,5)·10 ⁻⁷
Выход радикалов ОН [•] , моль(л·с) ⁻¹	(2,1±0,3)·10 ⁻⁶	Нет	Нет	Нет	Нет
Выход озона, моль(л·с) ⁻¹	(1,3±0,2)·10 ⁻⁵	Нет	Нет	Нет	Нет
Выход радикалов НО ₂ [•] , моль(л·с) ⁻¹	Не определяли	(1,2±0,3)·10 ⁻⁶	Не определяли	Не определяли	(1,1±0,5)·10 ⁻⁶
Выход NH ₄ ⁺ , моль/л·с	Нет	(1,7±0,5)·10 ⁻¹⁰	Не определяли	Не определяли	(2,5±1,5)·10 ⁻⁸
Выход NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻ , моль(л·с) ⁻¹	(5,2±0,4)·10 ⁻⁷	(5,8±1,6)·10 ⁻⁷	Не определяли	Не определяли	Нет
Концентрация комплекса [...ONOOH...ONOO ⁻], моль/л	Нет	(2,5±0,5)·10 ⁻³	Не определяли	Не определяли	Нет

лород. Энергии УФ-фотона с λ<250 нм достаточно для осуществления следующих процессов:



Далее взаимодействие молекул N₂O и радикалов НО₂[•] приводит к образованию азотистой и азотной кислоты [8]. Под действием излучения ртутной лампы λ=253,7 нм процессы (5) и (6) невозможны.

Таким образом, мы предполагаем, что первичными активными частицами, образующимися в воде под действием импульсного УФ-С-излучения генераторов «Пилимин ИР-1», «Пилимин ИР-10» и «Бриг», являются радикалы НО₂[•], атомы О[•] и молекулы N₂O. Взаимодействие радикалов НО₂[•] может привести к образованию перекиси водорода, однако эти радикалы расходуются в основном в реакциях с азотсодержащими соединениями. Поэтому выход перекиси водорода под действием источников импульсного излучения оказывается мал, меньше предела чувствительности используемой нами методики определения перекиси водорода.

Под действием излучения ртутной лампы азотсодержащие соединения не образуются, поэтому в воде, обработанной излучением ртутной лампы, обнаружена перекись водорода.

В работе [18] было идентифицировано образование комплекса [...ONOOH ... ONOO⁻], распадающегося в течение примерно 2 нед на пероксинитрит и перок-

сиазотистую кислоту, которые нестабильны и быстро распадаются до азотной кислоты. Структура пика в области 360 нм может быть связана с этим комплексом. Азотистая кислота и нитрозамины дают широкую линию поглощения и не могут давать наблюдаемую структуру.

Закключение

Основную роль в превращениях в биологических субстратах под действием источников газоразрядной плазмы играет состав генерируемых активных частиц. Знание результатов воздействия разных источников излучения и роли отдельных частиц в биохимических превращениях позволит разработать более эффективные газоразрядные устройства для биомедицинских целей и может быть использовано для внедрения инновационных плазменных технологий в медицине.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Fridman A. *Plasma chemistry*. Cambridge University Press; 2008, <https://doi.org/10.1017/cbo9780511546075>.
2. Laroussi M. Low-temperature plasmas for medicine?

- IEEE Transactions on Plasma Science* 2009; 37(6): 714–725, <https://doi.org/10.1109/tps.2009.2017267>.
3. Baldanov B.B., Semenov A.P., Ranzhurov T.V., Nikolaev E.O., Gomboeva S.V. Action of plasma jets of a low-current spark discharge on microorganisms (*Escherichia coli*). *Technical Physics* 2015; 60(11): 1729–1731, <https://doi.org/10.1134/s1063784215110043>.
4. Astafyeva K.A., Ivanova I.P. Analysis of cytotoxic effects of medical gas-discharge devices. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(1): 115–122, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.15>.
5. Arkhipova E.V., Ivanova I.P. The effect of non-coherent impulse radiation on functional status of mononuclear cells in experiment. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2013; 5(1): 27–31.
6. Rohatgi-Mukherjee K.K. *Fundamentals of photochemistry*. Publisher New Age International. New Delhi; 2013; 386 p.
7. Pattison D.I., Davies M.J. Actions of ultraviolet light on cellular structures. In: *Cancer: cell structures, carcinogens and genomic instability*. Birkhäuser-Verlag; 2006; p. 131–157, https://doi.org/10.1007/3-7643-7378-4_6.
8. Piskarev I.M. Active factors of low ionised plasma radiation produced in air spark discharge. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2016; 7(4): 1171–1189.
9. Иванова И.П., Заславская М.И. Бицидный эффект некогерентного импульсного излучения искрового разряда в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. *Современные технологии в медицине* 2009; 1: 28–31. Ivanova I.P., Zaslavskaya M.I. Biocyclic effect of the spark discharge non-coherent impulse radiation in experiments *in vitro* and *in vivo*. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2009; 1: 28–31.
10. Piskarev I.M. Choice of conditions of an electrical discharge for generating chemically active particles for the decomposition of impurities in water. *Technical Physics* 1999; 44(1): 53–58, <https://doi.org/10.1134/1.1259251>.
11. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Karpel Vel Leitner N., Aristova N.A., Arkhipova E.V., Burkhina O.E., Sysoeva V.A., Piskaryov I.M. The analysis of active products of spark discharge plasma radiation determining biological effects in tissues. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2012; 2: 20–30.
12. Piskarev I.M., Astafyeva K.A., Ivanova I.P. The effect of pulse UV plasma irradiation of liquid through rat skin. *Biophysics* 2017; 62(4): 547–552, <https://doi.org/10.1134/s0006350917040170>.
13. Спиоров Г.М., Лукьянов Н.Б., Шлепкин С.И., Волков А.А., Моисеенко А.Н., Маркевцев И.М., Иванова И.П., Заславская М.И. Устройство для воздействия на биообъект. Патент РФ 2358773. 2009. Spirov G.M., Luk'yanov N.B., Shlepkin S.I., Volkov A.A., Moiseenko A.N., Markevtsev I.M., Ivanova I.P., Zaslavskaya M.I. *Ustroystvo dlya vozdeystviya na bioob'ekt* [Bio-object exposure device]. Patent RU 2358773. 2009.
14. Пикаев А.К. Дозиметрия в радиационной химии. М: Наука; 1975. 147 с. Pikaev A.K. *Dozimetriya v radiatsionnoy khimii* [Dosimetry for radiation chemistry]. Moscow: Nauka; 1975; 147 p.
15. Пискарев И.М., Иванова И.П., Самodelкин А.Г., Иващенко М.Н. Иницирование и исследование свободно-радикальных процессов в биологических экспериментах. Н. Новгород: ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА; 2016; 140 с. Piskarev I.M., Ivanova I.P., Samodelkin A.G., Ivashchenko M.N. *Iniitsirovanie i issledovanie svobodno-radikal'nykh protsessov v biologicheskikh eksperimentakh* [Initiation and investigation of free-radical processes in biological experiments]. Nizhny Novgorod: FGBOU VO Nizhegorodskaya GSKhA; 2016; 140 p.
16. Aitken A., Learmonth M. Estimation of disulfide bonds using Ellman's reagent. In: *The protein protocols handbook*. Walker J.M. (edsitor). Humana Press; 2002; p. 595–596, <https://doi.org/10.1385/1-59259-169-8:595>.
17. Пискарев И.М. Реакции в воздухе и азоте в плазме коронного разряда между поверхностью воды и электродом. Журнал физической химии 2001; 75(11): 1997–2001. Piskarev I.M. Reaction in corona discharge plasma between water surface and electrode in air and nitrogen. *Russian Journal of Applied Chemistry* 2001; 75(11): 1997–2001.
18. Piskarev I.M. Production under plasma radiation of a long living complex that decays to peroxynitrite and peroxynitrous acid. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2015; 6(6): 1136–1149.