

УДК 57.043; 57.088

ИСТОЧНИК ИЗЛУЧЕНИЯ ПЛАЗМЫ НА ОСНОВЕ ИСКРОВОГО РАЗРЯДА НА ВОЗДУХЕ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**¹Пискарев И.М., ^{2,3}Иванова И.П., ^{2,3}Трофимова С.В.**¹Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, e-mail: i.m.piskarev@gmail.com;²Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород;³Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского – Национальный исследовательский университет, Нижний Новгород

Разработан источник УФ-излучения плазмы электрического искрового разряда на воздухе. Энергия разряда 0,059 Дж, частота повторения импульсов 10 Гц. Исследован состав первичных активных частиц и измерены их выходы. Основными активными частицами являются радикалы HO_2^* , выход $(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$ моль(л с)⁻¹ и пероксинитрит, выход $(5,8 \pm 1,6) \cdot 10^{-7}$ моль(л с)⁻¹. В нейтральной и кислой среде образуется пероксиазотистая кислота. За счет импульсного характера УФ-излучения в воде образуется комплекс, состоящий из пероксинитрита и пероксиазотистой кислоты, время жизни которого до 14 суток. При распаде комплекса образуется пероксинитрит. Под действием излучения плазмы изучалось восстановление стабильного радикала ДФПГ*, окисление тиоловых групп SH и восстановление дисульфидных групп SS в белках. Большое время жизни комплекса позволяет ему диффундировать в клетки и осуществлять сильный спорицидный эффект.

Ключевые слова: излучение плазмы, искровой разряд, радикалы HO_2^* , пероксинитрит, пероксиазотистая кислота

PLASMA RADIATION SOURCE BASED ON SPARK DISCHARGE IN AIR FOR BIOMEDICAL INVESTIGATIONS**¹Piskarev I.M., ^{2,3}Ivanova I.P., ^{2,3}Trofimova S.V.**¹Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosow Moscow State University, Moscow, e-mail: i.m.piskarev@gmail.com;²Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod;³N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod – National Research University, Nizhny Novgorod

UV-radiation source of spark electric discharge plasma in air was developed. The energy of discharge was 0,059 J, pulse repetition rate was 10 Hz. The composition of primary active particles was investigated and their yields were measured. The main active species are radicals HO_2^* , yield equals to $(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$ mol(l s)⁻¹ and peroxyxynitrite, yields is $(5,8 \pm 1,6) \cdot 10^{-7}$ mol(l s)⁻¹. The peroxyxynitrous acid was produced in neutral and acid media. A pulse mode of UV-radiation is cause to produce in water a complex, which consist of peroxyxynitrite and peroxyxynitrous acid, the lifetime of a complex is up to 14 days. The peroxyxynitrite is produced after this complex decay. Under action of plasma radiation the reduction of free stable radical DPPH*, the oxidation of thiol groups SH and reduction of disulfide SS groups in proteins were investigated. The large lifetime of a complex allow him to diffuse in sells and realize strong sporicide effect.

Keyword: plasma radiation, spark discharge, radicals HO_2^* , peroxyxynitrite, peroxyxynitrous acid

В последние десятилетия в практике биомедицинских исследований широко используется холодная плазма. Активные факторы плазмы – радикалы, ионы и электроны из области разряда, которые с потоком газа попадают на поверхность объекта [1]. Излучение холодной плазмы в таких устройствах играет определенную роль, но не является решающим. Последние достижения в области генерирования и применения холодной плазмы в биологии и медицине анализируются в обзоре [2].

При обработке холодной плазмой активные частицы плазмы не проникают вглубь объекта, а контактируют только с поверхностью. Когда газоразрядной плазмой обрабатывается жидкость, распространение активных частиц внутрь возможно только при перемешивании. Излучение плазмы,

в отличие от частиц плазмы, может проникать в жидкость на значительную глубину и благодаря вторичным реакциям создавать там определенную концентрацию активных частиц, если жидкость прозрачна для излучения плазмы. Поэтому разработка источника излучения плазмы с возможностью создания внутри биологического объекта концентрации активных частиц и локальной активацией свободно-радикальных процессов, например, в опухолевом узле является актуальной.

Обычно, при разработке приборов для медицины, конструкторы детально исследуют физику процесса, приводящего к генерации плазмы, изучают ее состав, создают макет прибора, и уже затем рассматривают биомедицинские возможности конкретного вида плазмы. Авторы данной работы

поступили наоборот: исходя из имеющихся технических возможностей, был найден режим генерации плазмы, при котором под действием излучения плазмы в воде достигается максимальный химический эффект [3], что обеспечивало оптимальные условия воздействия на объект.

В настоящей работе даются характеристики генератора и краткий обзор результатов, полученных авторами ранее при анализе физико-химических процессов, происходящих под действием излучения плазмы искрового электрического разряда на воздухе. Основное внимание уделено образованию сильного окислителя – пероксинитрита и комплекса, состоящего из пероксинитрита и пероксиазотистой кислоты и окислительно-восстановительным реакциям под действием этих частиц.

Источник излучения

Использовался генератор излучения плазмы искрового разряда ИР-10, описанный в работе [4]. Частота повторения импульсов составляла 10 Гц. Длительность переднего фронта импульса 50 нс. Полная длительность импульса 100 мкс. Энергия, выделяемая в импульсе, $5,9 \cdot 10^{-2}$ Дж. Плотность потока энергии фотонов УФ-С диапазона

за время длительности импульса (100 мкс, 10 Гц) на расстоянии 1 см от электродов (импульсная мощность) составляет 2 Дж/см^2 , средняя мощность излучения на том же расстоянии равна $(2 \pm 0,3) \cdot 10^{-3} \text{ Дж см}^{-2} \text{ с}^{-1}$. Максимум спектра излучения лежит при $\lambda = 220 \text{ нм}$. По мере остывания искрового шнура максимум спектра излучения смещается в сторону более длинных волн и проходит весь УФ и видимый диапазон до 800 нм. Основными реакционно-способными частицами являются радикалы $\text{HO}_2^\bullet$ и пероксинитрит ONOO^- . Перекись водорода и озон образуются, их стационарная концентрация $\sim 10^{-6}$ моль/л [5], но они являются существенно менее активными продуктами, и при такой концентрации не могут играть заметную роль. Характеристики основных активных частиц приведены в табл. 1.

Гидроксильные радикалы могут образовываться во вторичных реакциях. Их выход измерялся непосредственно, но они не были обнаружены [4]. Прямое образование гидроксильных радикалов за счет диссоциации воды $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^\bullet + \text{OH}^\bullet$ невозможно на основании закона сохранения энергии, так как для осуществления этого процесса энергии фотонов с длиной волны 200–280 нм недостаточно.

Таблица 1

Начальные выходы и стационарные концентрации основных продуктов, образующихся в дистиллированной воде под действием излучения плазмы импульсного искрового электрического разряда на воздухе генератора ИР-10

Продукт	Начальный выход, моль (л с) ⁻¹ , эксперимент [4]	Стационарная концентрация, моль/л, расчет [5]
$\text{HO}_2^\bullet$	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	$5,97 \cdot 10^{-7}$
$\text{O}^\bullet$	$2 \cdot 10^{-6} *$	$4,43 \cdot 10^{-11}$
N_2O	$1,1 \cdot 10^{-6} *$	$2,48 \cdot 10^{-5}$
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$	$(5,8 \pm 1,6) \cdot 10^{-7}$	Накапливается
ONOO^-	Не определен	$1,53 \cdot 10^{-6}$ ($\text{pH}_0 = 7$)
NH_4^+	$(1,7 \pm 0,5) \cdot 10^{-10}$	Накапливается
H_2O_2	Не определен	$1,66 \cdot 10^{-6}$
O_3	Не определен	$1,03 \cdot 10^{-6}$
$\text{OH}^\bullet$	Не определен	$3,91 \cdot 10^{-9}$

Примечание. * выход оценен исходя из измеренного значения выхода $\text{HO}_2^\bullet$ и предполагаемой схемы образования продуктов.

Образование активных частиц под действием излучения плазмы газового искрового разряда происходит именно в жидкости. Эксперименты, выполненные в работе [6] с перекрыванием пучка простым и кварцевым стеклом, которое закрывало прямой контакт жидкой и газовой фазы, а также с непрозрачным для света поглотителем, устанавливаемым выше по-

верхности жидкости так, чтобы не препятствовать попаданию в жидкость частиц из газовой фазы, показали следующее. 1) Активные частицы образуются в самой жидкости под действием излучения с длиной волны 200–280 нм. 2) Никакие активные частицы из газовой фазы, которые образуются в самом разряде, на поверхность жидкости не попадают. Активные частицы,

образующиеся в момент разряда в зазоре между электродами, при их высокой концентрации гибнут во взаимодействиях между собой [3]. Образующиеся при этом вторичные продукты являются стабильными соединениями, проявляющими малую активность. Среди таких продуктов в работе [6] методами ИК-спектроскопии обнаружены органические соединения и соединения азота (в частности, нитрозамины).

Отсутствие заметного влияния газовой фазы на выход активных частиц объясняется тем, что в газе теряется пренебрежимо малая доля энергии излучения, практически вся энергия поглощается в жидкости.

Механизм воздействия излучения газоразрядной плазмы на субстрат

Первичными активными частицами, образующимися под действием импульса излучения в воде, являются радикалы $\text{HO}_2^\bullet$ и пероксинитрит ONOO^- [4]. Радикал $\text{HO}_2^\bullet$ является окислителем. Пероксинитрит быстро распадается, его время жизни в нейтральной среде ~ 1.2 с. Продуктами его распада могут быть ионы NO_2^- и NO_3^- . Ионы NO_2^- могут проявлять как окислительные, так и восстановительные свойства. При изомеризации пероксинитрита $\text{ONOO}^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ степень окисления азота меняется, она равна +3 для пероксинитрита и +5 для иона NO_3^- . Следовательно, при изомеризации пероксинитрита может происходить восстановление. Таким образом, излучение плазмы может инициировать как окисление (в том числе цепное окисление радикалами $\text{HO}_2^\bullet$), так и восстановление. Восстановительными свойствами кроме ионов NO_2^- обладает пероксиазотистая кислота OONO . Для нее $\text{pK}_a = 6.8$ и она существует в нейтральной и кислой среде. Сам пероксинитрит обладает преимущественно окислительными свойствами.

Если в растворе присутствуют органические соединения (биологическая проба), то первичные активные частицы взаимодействуют в первую очередь с ними. При этом они сразу расходуются и вторичные активные частицы не образуются. Вторичные активные частицы начинают образовываться только после того, как вещества, реагирующие с первичными частицами, будут израсходованы. Это проявляется в следующем. При обработке дистиллированной воды ее pH после обработки за время больше 1 минуты заметно уменьшается, и продолжает быстро уменьшаться со временем обработки. Когда в растворе присутствуют вещества, например, если обрабатывает-

ся излучением плазмы раствор Хенкса или альбумина, первые минуты pH практически не меняется, потом pH начинает уменьшаться, но уменьшение много медленнее, чем в чистой воде.

Образование долгоживущего комплекса ($\text{ONOOH} \dots \text{ONOO}^\bullet$)

Импульсный характер излучения обеспечивает высокую концентрацию активных частиц в обрабатываемом растворе, поэтому оказалось возможным образование комплекса ($\text{ONOOH} \dots \text{ONOO}^-$) [7]. Спектрофотометрически комплекс не обнаруживается, но его можно обнаружить по продукту его распада: пероксинитриту. Пероксинитрит имеет полосу поглощения при $\lambda = 301$ нм, коэффициент экстинкции $\varepsilon = 1670$ л(моль см) $^{-1}$. Сразу после обработки и в течение 3 суток после линии 301 нм не обнаруживается. Она начинает появляться на четвертый день после обработки, оптическая плотность достигает максимума на 8–10 день и линия пропадает через 14 дней. Максимальная мгновенная концентрация пероксинитрита составляет $[\text{ONOO}^-] = (2 \pm 1) \cdot 10^{-5}$ моль/л [7]. Сразу после обработки и в течение 14 суток после наблюдается уменьшение pH раствора от нейтрального до pH ~ 2.5 . Это можно объяснить распадом пероксинитрита $\text{ONOO}^- \rightarrow \text{NO}_3^-$. Исходя из изменения pH концентрация пероксинитрита, образующегося сразу после обработки и за 14 суток после, составляет $[\text{ONOO}^-] = (1.8 \pm 0.4) \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Образование комплекса ($\text{ONOOH} \dots \text{ONOO}^-$) изучалось в дистиллированной воде ($\text{pH}_0 = 5.9$) под действием излучения плазмы искрового разряда на воздухе в работе [8]. Использована реакция спиртового раствора стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ $^\bullet$) с пробой воды, обработанной излучением плазмы. Жидкость, обработанная излучением плазмы, после облучения смешивалась со спиртовым раствором ДФПГ $^\bullet$ в соотношении 1:1. Измеряли спектр поглощения смеси в диапазоне длин волн 200–800 нм. Наблюдали изменения оптической плотности линий при длинах волн 330–360 нм и 520 нм. Реакция облученной воды с ДФПГ $^\bullet$ не может быть инициирована пероксинитритом. Из-за пространственных затруднений стабильный радикал не может взаимодействовать со сложными соединениями, какими являются активные формы кислорода. Он является плохим индикатором активных форм кислорода. Основной канал расходования ДФПГ $^\bullet$ – взаимодействие с самым легким атомом – водородом. Пероксиазотистая

кислота, которая образуется при распаде комплекса ($\text{ONOOH} \dots \text{ONOO}^-$), может быть донором водорода, поэтому реакция с ДФПГ* позволяет оценить ее концентрацию. Появление пероксиазотистой кислоты идентифицировано на 4-й день после обработки излучением, и она пропадает на 13-й день. Максимальная мгновенная концентрация пероксиазотистой кислоты достигается на 5 – 7 день и составляет $[\text{ONOOH}] = (1.5 \pm 0.5) \cdot 10^{-5}$ моль/л. Таким образом, образование комплекса, включающего пероксинитрит и пероксиазотистую кислоту, подтверждается двумя независимыми методиками. Общими методиками получены примерно одинаковые концентрации пероксинитрита и перокси-

азотистой кислоты $\sim 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л и время жизни комплекса 13 – 14 дней.

Возможности применения источника излучения

Полученные в работах, цитируемых выше, характеристики источника излучения плазмы искрового разряда на воздухе позволяют анализировать процессы, происходящие под действием излучения. Дополнительную информацию о характере процессов можно получать, сравнивая воздействие разных источников излучения. В работе [9] проведено сравнение характеристик излучения генератора ИР-10 и ртутной лампы низкого давления ДБК-9. Характеристики приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Характеристика источников УФ-излучения ИР-10 и ДБК-9

Искровой разряд, ИР-10		Ртутная лампа низкого давления ДБК-9	
Энергия в импульсе	$5,9 \cdot 10^{-2}$ Дж	Мощность лампы	9 Дж/с
Частота повторения импульсов	10 Гц	Режим работы	Непрерывный
Максимум сплошного спектра излучения	220 нм	Длина волны излучения	253,7 нм
Плотность фотонов на расстоянии 1 см от электродов *	$1,26 \cdot 10^{-10}$ моль(см ² с) ⁻¹	Плотность фотонов на расстоянии 3 см от лампы *	$5,4 \cdot 10^{-8}$ моль(см ² с) ⁻¹
Плотность потока энергии на расстоянии 1 см от электродов *	$(2 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$ Дж(см ² с) ⁻¹	Плотность потока энергии на расстоянии 3 см от лампы (по паспорту) *	$2,6 \cdot 10^{-2}$ Дж(см ² с) ⁻¹

Примечание. * указано расстояние от источника излучения до места, где установлен образец.

Таблица 3

Начальные выходы активных частиц (эксперимент)

Продукт	Искровой разряд ИР-10	Ртутная лампа низкого давления ДБК-9
$\text{HO}_2^\bullet$	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$ моль(л с) ⁻¹	$(1,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-6}$ моль(л с) ⁻¹
$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	$(5,8 \pm 1,6) \cdot 10^{-7}$ моль(л с) ⁻¹	$(3,4 \pm 1) \cdot 10^{-9}$ моль(л с) ⁻¹
NH_4^+	$(1,7 \pm 0,5) \cdot 10^{-10}$ моль(л с) ⁻¹	$(2,5 \pm 1,5) \cdot 10^{-8}$ моль(л с) ⁻¹

Из таблиц видно, что интенсивность УФ-излучения ртутной лампы примерно в 400 раз больше интенсивности излучения ИР-10. Однако выход радикалов $\text{HO}_2^\bullet$ для обоих источников практически одинаков. Выход кислотных остатков (которые образуются при распаде пероксинитрита и пероксиазотистой кислоты) под действием ИР-10 на два порядка больше, чем для ртутной лампы.

Сравнение выходов тиоловых SH- групп, образующихся при облучении альбумина, позволило идентифицировать механизм

их образования [10]. Под действием ИР-10 происходит восстановление дисульфидных SS групп пероксиазотистой кислотой, а под действием излучения УФ-лампы восстановление происходит через возбуждение инициатора, которым является содержащийся в альбумине триптофан.

Заключение

Описаны характеристики источника излучения плазмы искрового разряда на воздухе. Особенностью такого источника является возможность образовывать под

действием излучения в обрабатываемом объекте комплекс, состоящий из пероксинитрита и пероксиазотистой кислоты. Время жизни комплекса до 14 суток. Большое время жизни комплекса позволяет высокоактивным частицам проникать внутрь клетки и производить сильный цитотоксический эффект.

Простота конструкции генератора ИР-10 и малая потребляемая энергия при большом выходе активных частиц позволяет рассчитывать, что рассмотренный источник излучения найдет широкое применение в практике медико-биологических исследований.

Список литературы

1. Dobrynin D., Fridman G., Friedman G., Fridman A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue // *New J. Phys.* – 2009. Vol. 11 – 115020.
2. Park G. Y., Park S.J., Choi M.Y., Koo I.G., Byun J.H., Hong J.W., Sim J.Y., Collins G.J., Lee J.K. // *Plasma Sources Science and Technology.* – 2012. Vol. 21(4), – P. 043001.
3. Пискарев И.М. Условия инициирования активными частицами из газовой фазы реакций в жидкости // *Журнал физической химии.* – 1998. Т.72, №11 – С. 1976–1978.
4. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В., Аристова Н.А. // *Химия высоких энергий.* – 2012. – Т.46(5) – С. 406–411.
5. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В. Химические эффекты самостоятельного искрового разряда. Моделирование процессов в жидкости // *Химия высоких энергий.* – 2013. – Т.47(2) – С. 152–156.
6. Иванова И.П., Трофимова С.В., Карпель Вель Лейтнер Н., Аристова Н.А., Архипова Е.В., Бурхина О.Е., Сысоева В.А., Пискарев И.М. // *Современные технологии в медицине.* – 2012. – №2. – С. 20–30.
7. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В., Ичеткина А.А., Бурхина О.Е. // *Химия высоких энергий.* – 2014. – Т. 48(2) – С. 253–256.
8. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В., Ичеткина А.А., Бурхина О.Е. // *Химия высоких энергий.* – 2014. – Т. 48(5) – С. 402–405.
9. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В. Сравнение химических эффектов УФ-излучения искрового разряда на воздухе и ртутной лампы низкого давления // *Химия высоких энергий.* – 2013. – Т. 47(2) – С. 376–380.
10. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В., Бурхина О.Е. // *Химия высоких энергий.* – 2015. – Т. 49(1) – в печати.