

УДК 544.43

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПЛАЗМЫ ИСКРОВОГО РАЗРЯДА НА ВОДУ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ РАСТВОР И РАСТВОР ХЕНКСА

© 2018 г. И. М. Пискарев*

*Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д.В. Скобельцына,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
119234, ГСП-1, Россия, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр. 2*

**E-mail: i.m.piskarev@gmail.com*

Поступила в редакцию 08.02.2018 г.

Исследовано влияние длительности импульса тока искрового разряда в среде воздуха на состав продуктов, образующихся в жидкости, как под действием излучения плазмы, так и с участием частиц в самом разряде. Изучались продукты, образующиеся в воде, 0.9% NaCl и в растворе Хенкса. Установлено, что во всех случаях одним из первичных продуктов является азотистая кислота. Выход азотистой кислоты одинаков во всех трех растворах. С уменьшением длительности импульса тока возрастает влияние частиц, образовавшихся в самом разряде, на выход азотистой кислоты. Продукты, образовавшиеся в воде, распадаются за время до 13 суток. В числе продуктов распада идентифицированы пероксинитрит и N_2O_3 .

Ключевые слова: искровой разряд на воздухе, длительность импульса тока, азотистая кислота, вода, 0.9% NaCl, раствор Хенкса, N_2O_3 , пероксинитрит

DOI: 10.1134/S0023119318040125

ВВЕДЕНИЕ

Возможности применения плазмы в медицине широко обсуждаются [1]. Рассматривается прямое воздействие плазменной струи на основе аргона и использование вторичных активных частиц, образующихся под действием плазмы [2]. В работах [3, 4] рассмотрено образование первичных активных частиц в воде под действием излучения плазмы искрового разряда на воздухе. Плазма излучала как нагретое черное тело. Активные частицы, образующиеся в самом разряде, попадая на поверхность жидкости, также могут давать вклад в выход активных частиц, но в условиях работ [3, 4] этот вклад был мал.

Процессы, происходящие в разряде, зависят от напряженности поля в искровом промежутке. На первой стадии разряда, в момент переднего фронта импульса тока, (0.1–0.2 мкс) напряженность поля максимальна, с наибольшей вероятностью образуются возбужденные молекулы и радикалы. На второй стадии, во время спада тока (~150 мкс) разряд переходит в дуговой. Из радикалов, образовавшихся на первой стадии, образуются стабильные частицы. Сами радикалы гибнут на месте их образования. Поэтому основной вклад в образование активных частиц в воде давало излучение плазмы. С уменьшением длительности импульса сохраняется выход радикалов, образовавшихся на первой стадии, и уменьшает-

ся гибель радикалов на второй стадии разряда, когда из них образуются нейтральные частицы. Поэтому роль радикалов, образовавшихся в самом разряде, с уменьшением длительности импульса тока должна возрастать.

В состав нейтральных продуктов, образующихся в разряде на второй стадии, входят нитрозамины, идентифицированные по УФ спектрам поглощения обработанных проб воды (широкий пик с максимумом при $\lambda \sim 360$ нм) и по ИК спектрам образующихся твердых продуктов [3]. В работе [4] использовался разряд при длительности импульса тока 150 мкс. Поэтому представляет интерес рассмотреть изменение состава активных частиц при сильном уменьшении длительности импульса тока искрового разряда.

Технология генерирования активных частиц, рассмотренная в работах [3, 4], может быть использована в биологических исследованиях. Биологические объекты (в частности, клетки) гибнут в чистой воде. Исследования таких объектов проводят в физиологическом растворе (0.9% NaCl в воде) или в растворе Хенкса. Поэтому представляет интерес рассмотреть действие излучения плазмы на эти растворы. Целью настоящей работы является изучение первичных активных частиц, образующихся в воде, физиологическом растворе и растворе Хенкса под действием излучения плазмы искрового разряда на воздухе и про-

дуктов, образующихся в самом разряде, при уменьшении длительности импульса тока разряда.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Использовался генератор излучения плазмы искрового разряда ИР50, аналогичный по конструкции генератору, используемому в работе [4], но величина разрядной емкости C уменьшена от 3300 до 680 пф. При величине $C = 3300$ пф длительность фронта 0.1–0.2 мкс, полная длительность импульса тока составляла ~ 150 мкс [4]. Длительность импульса определяется временем рассасывания заряда в искровом промежутке. При $C = 680$ пф в использованном нами генераторе длительность импульса тока составляла 5–6 мкс при той же длительности фронта. Емкость заряжалась через балластное сопротивление 6 МОм от источника питания $V = 11$ кв. Емкость подключена параллельно разрядному промежутку с зазором 2.5 мм, пробивное напряжение промежутка около 6 кВ. Разрядные электроды выполнены из прутка нержавеющей стали диаметром 2 мм. При включении высокого напряжения устанавливается самостоятельный искровой разряд с частотой 50 Гц. Энергия, выделяемая в разряде, составляет 0.6 Дж/с. Разрядная полость закрыта фторопластовой крышкой, в ней имеется отверстие диаметром 20 мм, через которое полость сообщается с пробой обрабатываемой жидкости. Т.е. на пробу жидкости действует как излучение плазмы, так и продукты, образующиеся в разряде. В отдельном эксперименте отверстие закрывали кварцевым стеклом толщиной 2.3 мм. В этом случае контакт пробы обрабатываемой жидкости с газом в разрядной полости был полностью исключен. Коэффициент пропускания стекла в диапазоне длин волн от 200 до 800 нм был не менее 70%, т.е. ослабление потока излучения было незначительным.

Пробы жидкости обрабатывались в чашке Петри диаметром 40 мм, объем пробы 5 мл. Расстояние от поверхности пробы до разрядных электродов составляло 30 мм. Время обработки пробы составляло от 1 до 60 мин. После обработки пробы хранили в закрытых емкостях до 13 сут. Величина pH жидкости измерялась сразу после обработки и на следующие сутки, спектр поглощения пробы измеряли сразу после обработки и через каждые 24 ч в течение 13 сут. Спектры поглощения измерялись спектрофотометром СФ-102 фирмы АКВИЛОН, Москва, Россия. Толщина кюветы 10 мм. Оптическая плотность (absorbance) $A = \lg(I_0/I)$ (Бел) измерялась относительно дистиллированной воды. Величина pH измерялась прибором Эксперт-001 фирмы ЭКОНИКС, Москва, Россия. Использовались химически чистые реактивы, стерильный раствор Хенкса, свежеприготовленный физиологический раствор (0.9% NaCl в воде), дважды дистиллированная вода pH 6.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

Одним из продуктов, образующихся в пробе обрабатываемой воды и заметных сразу после облучения, является азотистая кислота [5]. Для ее идентификации был выполнен эксперимент: сравнивались спектр поглощения пробы обработанной жидкости со спектром поглощения азотистой кислоты, образующейся в химической реакции. Результаты представлены на рис. 1. Кривая 5 – спектр поглощения пробы воды, обработанной излучением плазмы в течение 30 мин. Для получения азотистой кислоты использовались реакции:



Концентрация NaNO_2 составляла 0.69 г/л (0.01M). Растворы кислоты были с pH 2. В кислоту добавляли навеску NaNO_2 , сразу после растворения порошка измеряли спектр поглощения. Спектр поглощения 0.01M водного раствора NaNO_2 представлен на рис. 1, кривая 2, спектр поглощения азотной кислоты при pH 2 – кривая 1. Серная кислота при pH 2 в изучаемом диапазоне длин волн не дает заметный вклад в оптическую плотность. Спектр поглощения смесей сразу после приготовления: $\text{NaNO}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$ – кривая 4, $\text{NaNO}_2 + \text{HNO}_3$ – кривая 3. В обоих растворах смесей отсутствует пик ионов NO_2^- , который был в водном растворе NaNO_2 . В растворе $\text{NaNO}_2 + \text{HNO}_3$ оптическая плотность пика 300 нм, относимого к азотной кислоте (рис. 1, кривая 3) сильно уменьшилась по сравнению с исходным раствором азотной кислоты (рис.1, кривая 1).

Исходные значения pH азотной и серной кислоты составляли 2. После введения порошка NaNO_2 значения pH составили: для реакции 1 – $\text{pH } 2.45 \pm 0.05$, для реакции 2 – $\text{pH } 2.4 \pm 0.05$. Константа диссоциации для азотистой кислоты $pK_a = 3.4$. При кислотности среды, образующейся в реакциях 1 и 2 (pH 2.4), азотистая кислота находится в растворе преимущественно в виде нейтральных молекул, поэтому ее спектр можно наблюдать. Азотистая кислота нестабильна, она распадается, и через четыре дня после введения в кислоты порошка NaNO_2 значения pH кислот возвращаются к уровню pH 2.

Совпадение линий поглощения в районе 330–390 нм для пробы воды после облучения и азотистой кислоты, образующейся в реакциях 1 и 2, позволяет утверждать, что первичным продуктом, образующимся под действием плазмы искрового разряда, является азотистая кислота. Оптические плотности исследуемых растворов (вода, 0.9% NaCl и раствор Хенкса) после 20 мин обработки излучением генератора ИР50 представлены на рис. 2. Видно, что оптическая плотность азотистой кислоты относительно базовой

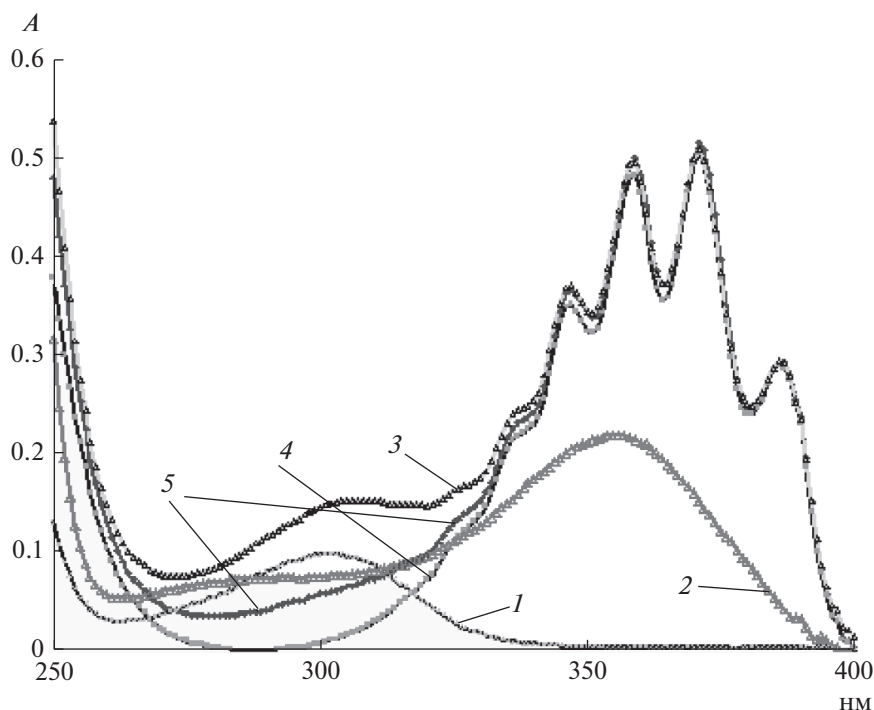


Рис. 1. Идентификация азотистой кислоты. *A* – оптическая плотность растворов (Бел). 1 – HNO_3 , pH 2; 2 – NaNO_2 – 0.01 M; 3 – $\text{NaNO}_2 + \text{HNO}_3$; 4 – $\text{NaNO}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$ (pH 2); 5 – вода, ИП50, 30 мин.

линии для всех трех растворов одинакова. Спектры проб для раствора Хенкса (кривая 3) и 0.9% NaCl (кривая 2) неотличимы. В физиологическом растворе и растворе Хенкса образуются продукты, которые не идентифицируются по спектру, но увеличивают оптическую плотность во всем диапазоне 250–400 нм по сравнению со спектрами поглощения обработанной воды (рис. 2, кривая 1). Здесь же приведены спектры проб через 24 ч после обработки (кривые 4, 5, 6). Спектры воды и 0.9% NaCl практически неотличимы (кривые 5, 6). Во всех пробах через 24 ч появляется пик при $\lambda \sim 300$ нм и особенность при $\lambda \sim 260$ нм.

Зависимость pH растворов от времени обработки представлена в таблице. Для чистой воды и физиологического раствора значение pH быстро падает до уровня $\text{pH} \leq 3.4$, так что азотистая кислота в виде группы уровней 330–390 нм видна сразу.

В растворе Хенкса при малых временах обработки (до 4 мин) pH меняется медленнее, при $t = 4$ мин pH 4.36. При такой кислотности азотистая кислота присутствует в растворе преимущественно в виде ионов NO_2^- . Это иллюстрируется рис. 3, где приводятся спектры поглощения растворов Хенкса, обработанных 4 мин, кривая 4, (pH 4.36) и 6 мин, кривая 3 (pH 3.62). После 4 мин обработки азотистая кислота может быть идентифицирована по пику ~ 360 нм, кривая 4 (ионы NO_2^-). С увеличением времени обработки и

уменьшением pH (кривая 3) проявляется структура, связанная с молекулами HNO_2 .

В случае, когда разрядная полость имеет контакт с обрабатываемой жидкостью, частицы, образующиеся в самом разряде, будут попадать в жидкость. Чтобы сравнить образование активных частиц под действием только излучения и совместного действия излучения и продуктов из области разряда, проба воды обрабатывалась 5 ч через кварцевое стекло. Спектр пробы приведен на рис. 3, кривая 1. Там же для сравнения приведен спектр пробы воды, обработанной 10 мин без кварцевого стекла (кривая 2). Видно, что азотистая кислота образуется в обоих случаях, но с кварцевым стеклом за 5 ч обработки в основном накапливается азотная кислота (пик 300 нм) кривая 1.

Спектры проб воды, обработанных ИП50 в течение 1 ч, за время после обработки от 1 до 13 суток приведены на рис. 4. На следующий день после обработки следов азотистой кислоты уже не остается. В первый день появляется пик ~ 300 нм, который можно отнести к азотной кислоте или пероксинитриту. Этот пик увеличивается со временем хранения, достигает максимума на 7–8 день и практически пропадает на 13-й день (рис. 4, кривая 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Механизм образования продуктов под действием излучения плазмы искрового разряда на

Значения кислотности растворов сразу после обработки и на следующие сутки. Ошибка всех измерений ± 0.02 ед. рН

Время обработки, мин	Сразу после обработки			На следующий день		
	вода	Хенкс	0.9% NaCl	вода	Хенкс	0.9% NaCl
0	6.5	7.3	7.1	6.5	7.3	7.1
1	4.13	6.94	4.29	4.22	7.28	4.72
2	3.66	6.54	3.65	3.73	7.32	3.86
3	3.31	5.96	3.32	3.24	6.60	3.36
4	3.05	4.36	3.13	2.92	4.60	3.06
6	2.89	3.62	2.88	2.66	3.74	2.73
8	2.81	3.32	2.74	2.51	3.26	2.52
10	2.67	3.21	2.67	2.42	3.08	2.44
15	2.49	2.86	2.48	2.27	2.54	2.26
20	2.44	2.65	2.36	2.22	2.36	2.13
25	2.31	2.55	2.28	2.04	2.36	2.03
30	2.31	2.61	2.33	2.05	2.27	2.09

воздухе был рассмотрен в работе [6]. Показано, что образуются азотная и азотистая кислота, причем выход азотной кислоты существенно больше, чем азотистой. Это согласуется с результатами данной работы (рис. 3, кривая 1). При большой длительности импульса тока (150 мкс) активные

частицы, образовавшиеся за время переднего фронта (0.1–0.2 мкс) гибли на месте образования во время второй стадии разряда, когда напряженность поля мала и новые частицы не образуются. При уменьшении длительности импульса тока в ~ 30 раз (от 150 до 5–6 мкс) и сохранения парамет-

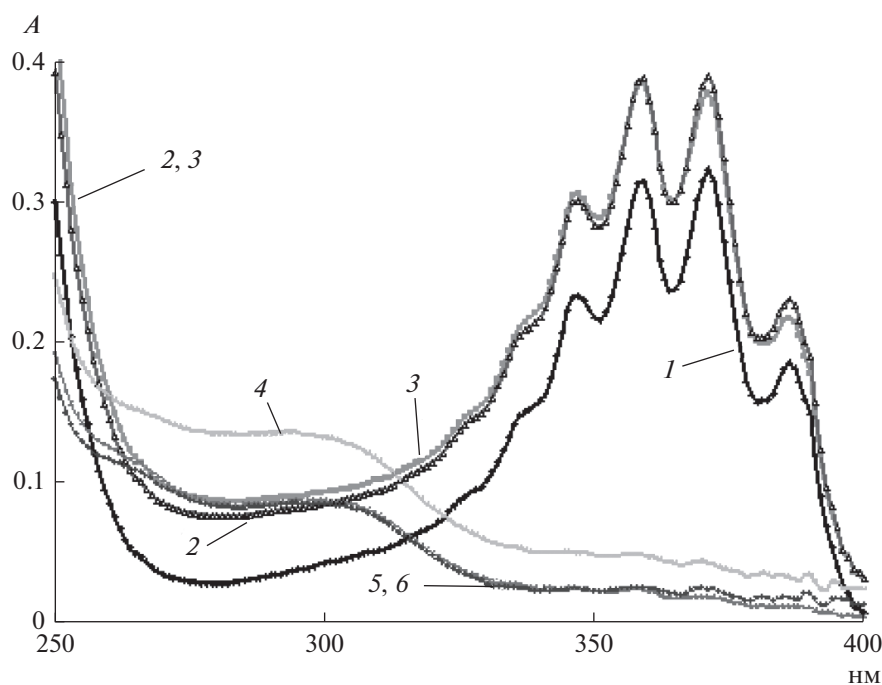


Рис. 2. Спектр поглощения проб, обработанных излучением плазмы генератора ИР50 в течение 20 мин (A – оптическая плотность, Бел). Сразу после обработки: 1 – вода, 2 – 0.9% NaCl, 3 – раствор Хенкса; через 24 ч: 4 – раствор Хенкса, 5, 6 – вода и 0.9% раствор NaCl.

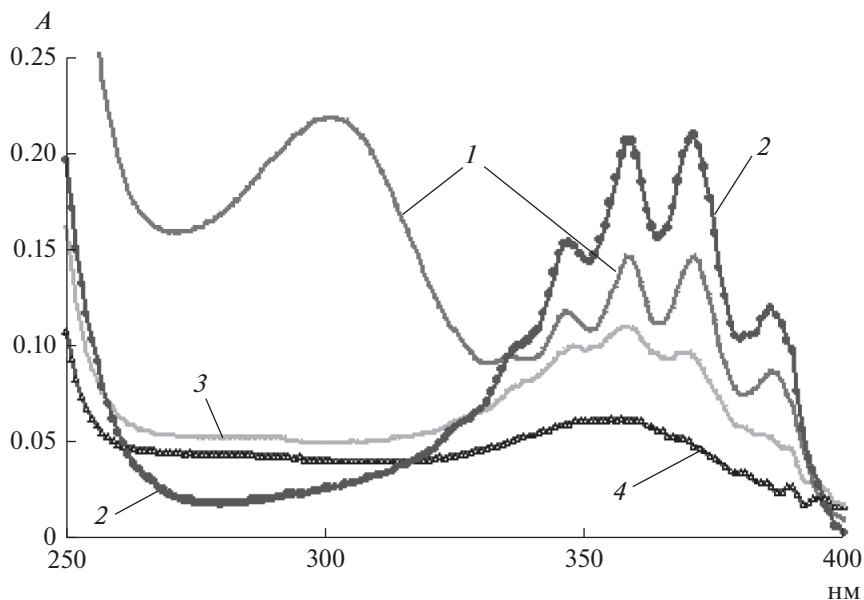


Рис. 3. Спектры поглощения проб воды (A – оптическая плотность, Бел), обработанных излучением плазмы искрового разряда генератора ИР50: 1 – обработка воды через кварцевое стекло в течение 5 ч; 2, 3, 4 – обработка без стекла: 2 – вода, обработка 10 мин, pH 2.67; 3 – раствор Хенкса, обработка 6 мин, pH 3.62; 4 – раствор Хенкса, обработка 4 мин, pH 4.36.

ров фронта вероятность гибели активных частиц уменьшается, и они начинают давать значительный вклад в образование первичных продуктов. Согласно механизму Зельдовича, в искровом разряде образуются радикалы NO^{\bullet} . Поскольку в во-

де под действием излучения плазмы образуются радикалы HO_2^{\bullet} [4], то радикалы NO^{\bullet} , попавшие в воду, будут доокисляться:

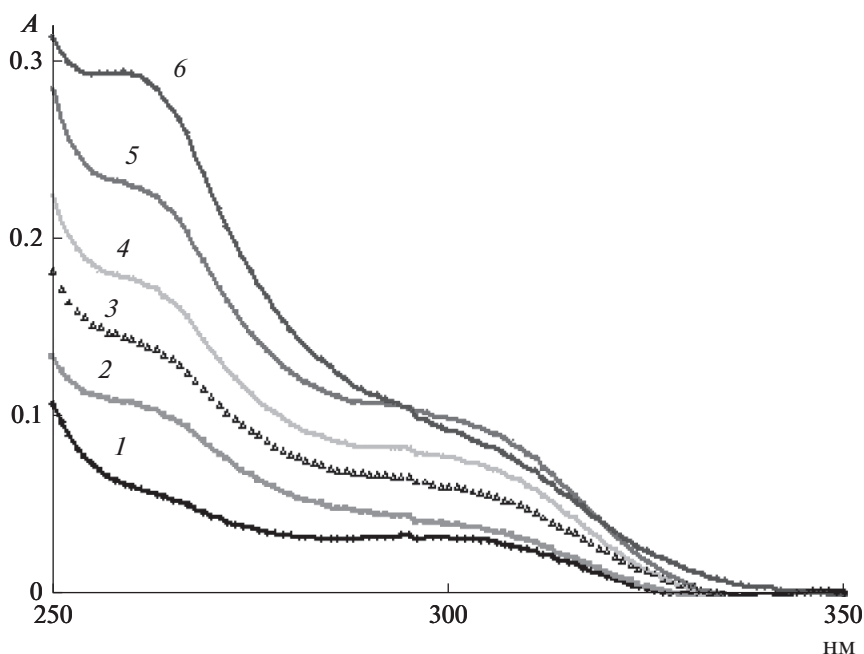
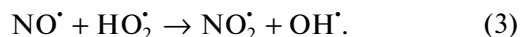


Рис. 4. Спектры поглощения проб воды, обработанных генератором ИР50 в течение 1 ч. Измерения выполнены через интервалы времени после обработки: 1 – 1, 2 – 3, 3 – 6, 4 – 7, 5 – 8, 6 – 13 дней.

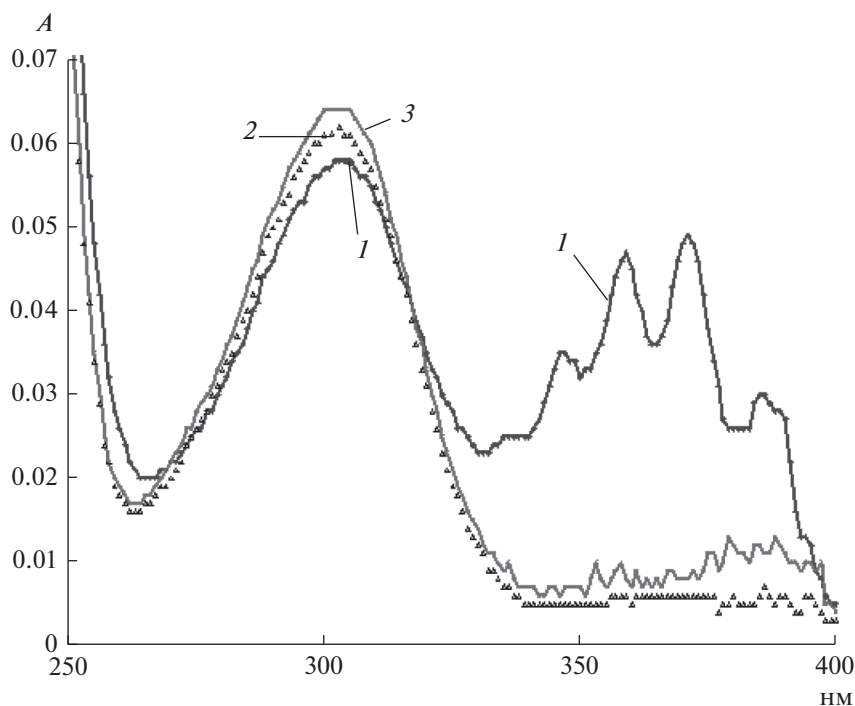
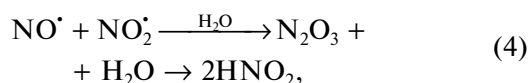


Рис. 5. Спектры раствора H_2SO_4 (рН 2), в который добавлен порошок NaNO_2 (0.69 г/л), выдержанного в течение: 1 – 2; 2 – 6; 3 – 10 дней.

После этого образуется азотистая кислота:



Таким образом, первичным продуктом, образующимся в воде при контакте с продуктами, образующимися в газовой фазе, будет азотистая кислота. Это подтверждается рис. 3 при сравнении кривых 1 и 2, где видно, что после обработки только излучением плазмы (кривая 1) оптическая плотность пика азотной кислоты (~ 300 нм) почти такая же, как пиков, относящихся к азотистой кислоте (330–390 нм). В то время, как после обработки открытым разрядом оптическая плотность пиков азотистой кислоты $A \sim 0.22$, а пика азотной кислоты не видно совсем (рис. 3, кривая 2).

Кроме азотистой кислоты под действием излучения и при взаимодействии с продуктами разряда в жидкости образуются не идентифицированные по спектру продукты, дающие поглощение в области 250–330 нм (рис. 1, кривая 5). Когда образуется только азотистая кислота, в частности, в реакции 2, оптическая плотность в этой области намного меньше, а при длинах волн 280–330 нм она равна нулю (рис. 1, кривая 4). Образование частиц, не идентифицируемых сразу, проявляется при их распаде в течение длительного времени.

Пробы воды, обработанные 1 ч генератором ИР50, наблюдались в течение 13 суток. Спектр пробы воды сразу после обработки в течение 30 мин представлен на рис. 1, кривая 5, за час обработки форма спектра сохранялась, но оптическая плотность увеличивалась в два раза. Через 24 ч пики азотистой кислоты пропадают, появляется пик при $\lambda \sim 300$ нм (рисунок 4, кривая 1). Со временем хранения оптическая плотность в диапазоне 250–330 нм увеличивается. Появляется и становится со временем более заметным пик 260 нм. Пик 300 нм увеличивается и достигает максимума на 7–8 день после обработки (рис. 4, кривые 4 и 5). Через 13 дней пик 300 нм почти исчезает, но достигает максимума оптическая плотность пика 260 нм. Пик 260 нм может быть связан с растворением в воде газа N_2O_3 , являющегося продуктом распада азотистой и пероксиазотистой кислот [7, 8]. Для проверки этого предположения контейнеры с пробами, хранившимися 8 и 13 суток, открывали и измеряли спектр поглощения на следующие сутки. Пик 260 нм в обеих пробах после этого пропал. Следовательно, он связан с газообразным продуктом.

В случае, когда образуется только азотистая кислота (реакция 2), ее распад происходит по-другому. На рис. 5 представлены спектры поглощения продуктов реакции 2 за время до 10 суток. Следует подчеркнуть, что сама азотистая кислота в этом случае распадается гораздо медленнее. Она

заметна в спектре на вторые сутки (рис. 5, кривая 1), в то время, как пики азотистой кислоты пропадают в спектрах проб обработанной воды, физиологического раствора и раствора Хенкса через 24 ч (рис. 3, кривые 4, 5, 6). Пик 300 нм в реакции 2 со временем хранения проб немного увеличивается (рис. 5, кривые 1, 2 и 3). Это, видимо, связано с превращением остатков азотистой кислоты в азотную. Пик 260 нм в продуктах реакции 2 не появляется совсем.

В работе [4] предположено образование комплекса, который медленно распадается, и одним из продуктов распада является пероксинитрит. Пик ~300 нм в основном связан с пероксинитритом. Подтверждением этому является тот результат, что пик ~300 нм пропадает за время порядка 13 суток (рис. 4). Пик азотной кислоты, образующейся при распаде азотистой, не пропадает за то же время и имеет тенденцию к увеличению (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что с уменьшением длительности импульса тока сильно увеличивается роль активных частиц, образующихся в самом разряде, в формировании первичных продуктов, возникающих в жидкости. Не образуются нитрозамины. Основным первичным продуктом, идентифицируемым по спектру поглощения, является азотистая кислота. Выход азотистой кислоты под действием открытого источника излучения плазмы в воде, физиологическом растворе и растворе Хенкса одинаков.

Образование под действием искрового разряда долгоживущих продуктов в жидкости позволяет им проникать через кожу [9] и приводить к заметным изменениям в биологических объектах [10–12].

Предполагается, что воздействие плазмы может селективно вызывать гибель раковых клеток, хотя механизм этого процесса пока не ясен [13]. Поэтому излучение плазмы искрового разряда на воздухе и продуктов, образующихся в самом разряде, после детального анализа механизмов его воздействия, может применяться в биомедицинских исследованиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Laroussi M., Lu X., Keidar M. // Journal of Applied Physics. 2017. V. 122. 020901 (19pp).
2. Van Boxtel W., Van Paal J., Gorbaney Yu., Vanuytsel S., Smits E., Dewilde S., Bogaerts A. // Scientific Reports. 2017. V.7. 16478. (15pp).
3. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В., Аристова Н.А. // ХВЭ. 2012. Т. 46. № 5. С. 406.
4. Piskarev I.M. // Research Journal of Pharmaceutical, biological and chemical science. 2016. V. 7. P. 1171.
5. Bongartz A., Kames J., Welter F., Schurath U. // J. Phys. Chem. 1991. V. 95. P. 1076.
6. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В. // ХВЭ. 2013. Т. 47. № 2. С. 152.
7. Markovits G.Y., Schwartz S.E., Newman L. // Inorg. Chem. 1981. V. 20. P. 445.
8. Лобачев В.Л., Рудаков Е.С. // Успехи Химии. 2006. Т. 75(5). С. 422.
9. Пискарев И.М., Астафьева К.А., Иванова И.П. // Биофизика. 2017. Т. 62. Вып. 4. С. 674.
10. Архипова Е.В., Иванова И.П. // СТМ (Sovremennyye tehnologii v medicine). 2013. Т. 5 № 1. С. 27.
11. Иванова И.П., Заславская М.И. // СТМ. 2009. Т. 1. С. 26.
12. Астафьева К.А., Иванова И.П. // СТМ. 2017. Т. 9. № 1. С. 115.
13. Murphy W., Carroll C., Keidar M. // J. Phys. D: Appl. Phys. 2014. V. 47. 472001 (6 pp).