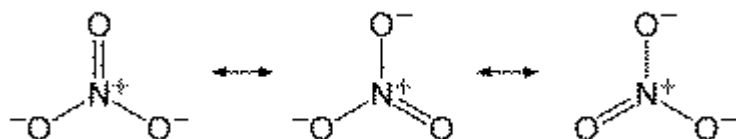


Образование пероксинитрита под действием излучения плазмы искрового разряда на воздухе.

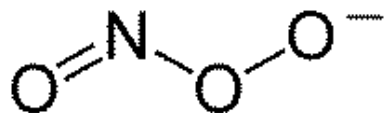
Профессор Иванова И.П. , вед. н. сотр. Пискарев И.М., мл. н. сотр. Трофимова С.В., аспирант Ичеткина А.А., аспирант Бурхина О.Е.

Что такое пероксинитрит

Ионы NO_3^-



Пероксинитрит



Экспериментальная установка

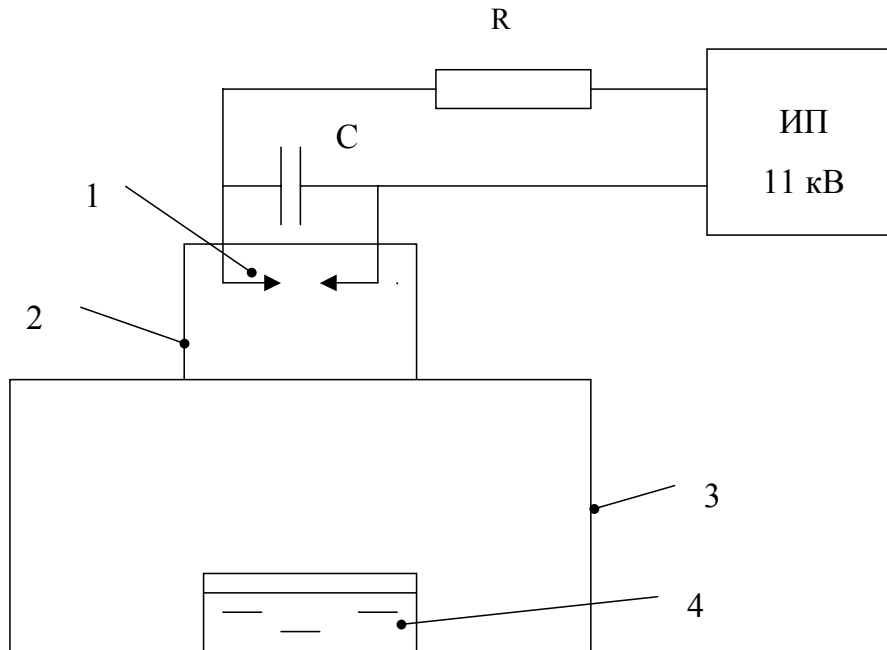
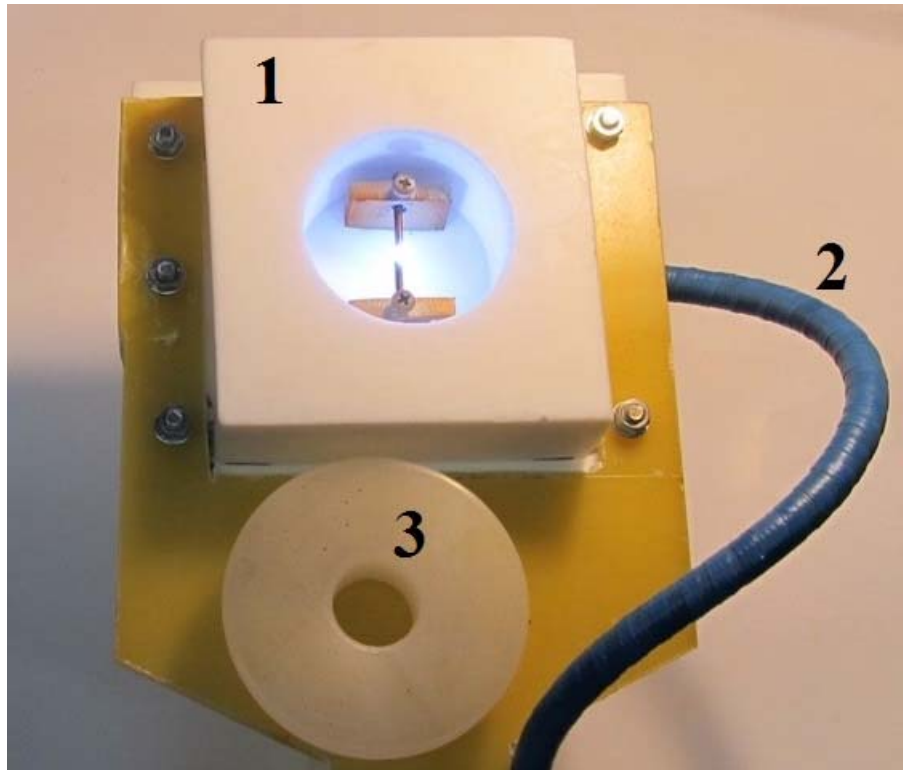


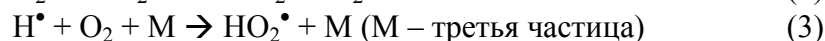
Рисунок 1. Схема генератора искрового разряда и камеры для обработки образцов. 1 – искровой разрядник; 2 – корпус разрядника; 3 – камера обработки; 4 – емкость для жидкой пробы.

Вид разряда



Образование пероксинитрита

Механизм образования активных частиц под действием вспышки УФ-излучения через возбуждённые состояния молекул воды:

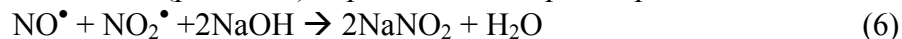


В акте образования активной частицы участвуют два фотона (две возбужденные молекулы воды). Первичные продукты (возбужденные молекулы воды), образующиеся под действием вспышки фотонов, ввиду их высокой мгновенной концентрации при импульсном разряде, взаимодействуют между собой.

Согласно модели процесса, под действием излучения плазмы пероксинитрит образуется в реакции:



В нейтральной и кислой среде ($\text{pH} < 6.8$) пероксинитрит существует в виде пероксиазотистой кислоты ONOOH ($\text{pK}_a = 6.8$). При введении в раствор щелочи появляется конкурирующая реакция:



Эта реакция осуществляется с большой скоростью и используется как один из основных способов получения азотистокислового натрия.

Накопление пероксинитрита

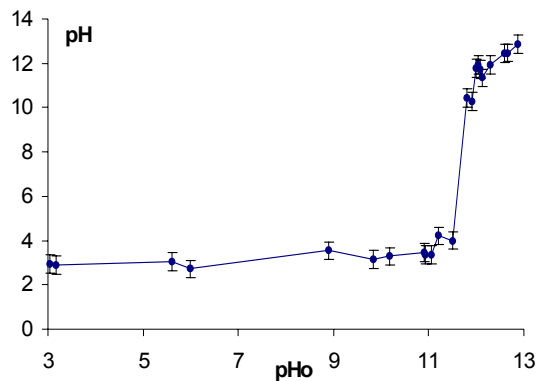


Рисунок 1. Зависимость pH жидкости сразу после обработки излучением газоразрядной плазмы в течение 30 минут от исходного значения pH_0 раствора до обработки.

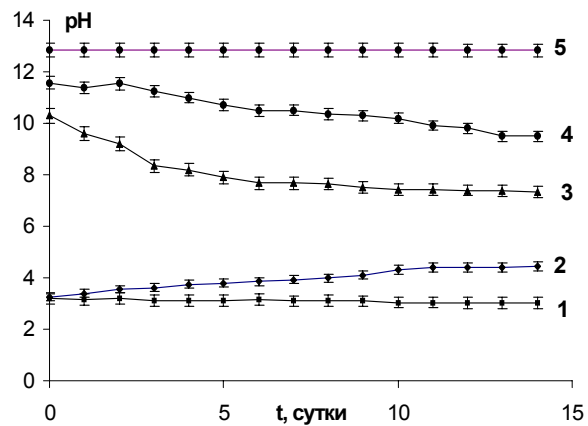
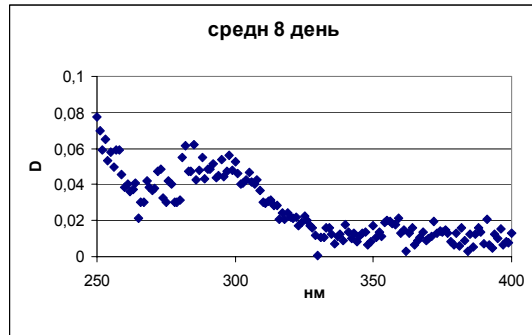


Рисунок 2. Зависимость pH растворов сразу после обработки излучением газоразрядной плазмы и в процессе хранения в течение 14 дней после обработки при комнатной температуре.

Спектры пероксинитрита

в)



б)



а)

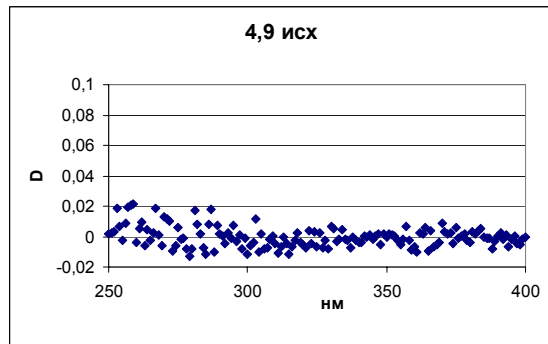
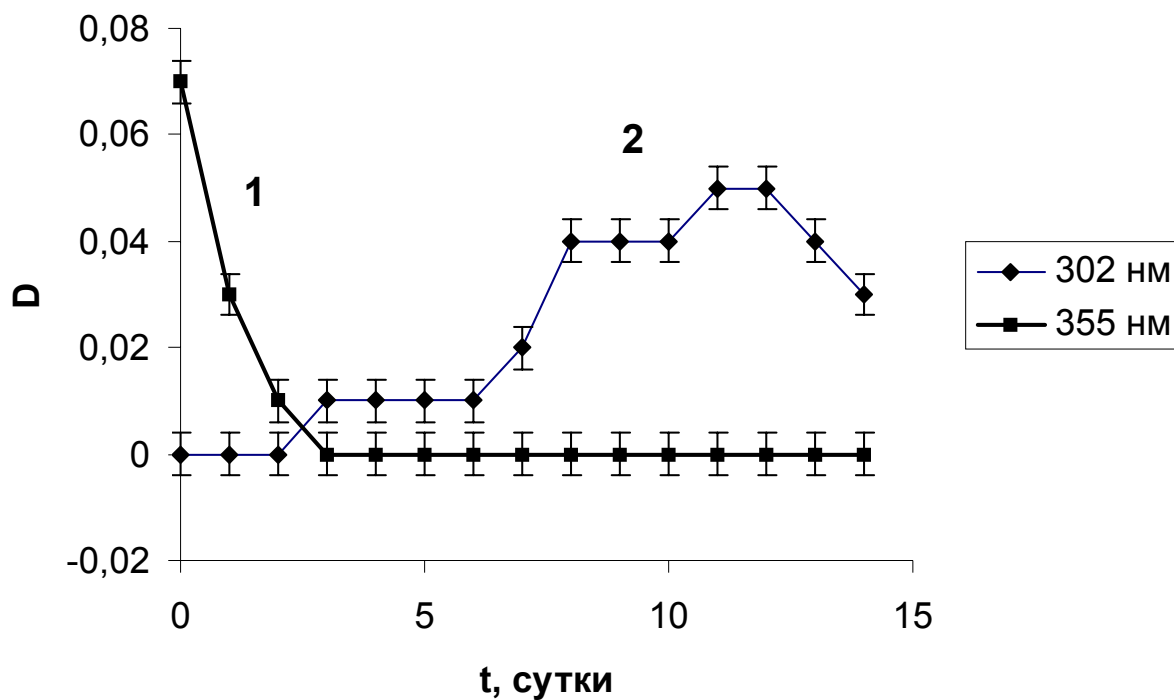


Рисунок 3. Оптическая плотность слабокислого раствора ($pH_0 = 4.9$). Толщина кюветы 10 мм: а) исходный раствор $pH_0 = 4.9$; б) сразу после обработки излучением газоразрядной плазмы в течение 30 минут, $pH = 2.72$; в) после хранения при комнатной температуре в течение 8 суток, $pH = 2.68$.

Оптическая плотность



Изменения оптической плотности полосы 355 нм (1) и 302 нм (2) сразу после обработки ($t = 0$) и после хранения растворов при комнатной температуре до 14 суток.

Реакция с ДФПГ

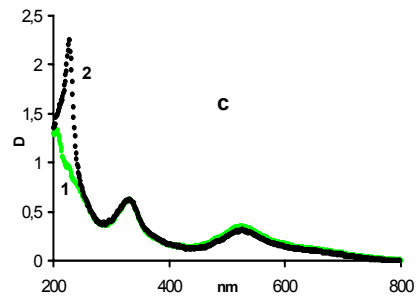
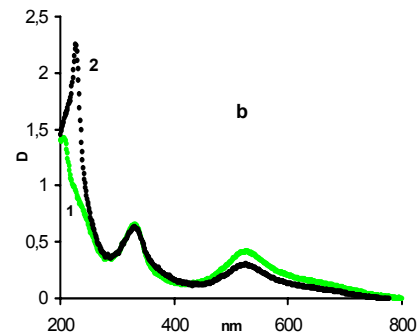
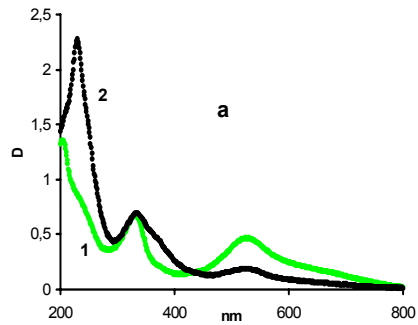


Figure 2. Absorption spectra for ethanol DPPH⁺ solution, mixed with distill water 1:1, curves 1, and for the same ethanol DPPH⁺ solution, mixed with treated water 1:1, curves 2: a – immediately after treatment, day 0; b – day 3 after treatment; c – day 13 after treatment. Spectra were measured in 3 min after mixing.

Образование комплекса

Основными реакционно-способными частицами являются радикалы HO_2^\bullet и пероксинитрит ONOO^- . Перекись водорода и озон образуются, их стационарная концентрация $\sim 10^{-6}$ моль/л [7], но они являются существенно менее активными продуктами, и при такой концентрации не могут играть заметную роль. При высокой мгновенной плотности излучения в момент вспышки разряда возможно образование продуктов, состоящих из HOONO и ONOO^- . Возможность образования таких продуктов обсуждалась в работе [10]. Тогда процесс можно представить себе следующим образом. В момент вспышки излучения образуется вещество X , которое продолжает взаимодействовать с продуктами, накопленными во время воздействия излучения плазмы, в частности, с продуктами распада ионов NO_2^- , и превращается в вещество X_1 ($X \rightarrow X_1$), которое со временем распадается с образованием пероксинитрита: $X_1 \rightarrow \text{ONOO}^-$. Вещество X_1 само не поглощает свет в УФ и видимом диапазоне. Спектр, характерный для пероксинитрита, появляется на 4 день наблюдения, достигает максимума на 10 день после обработки и снижается до уровня фона (оптической плотности, которую могут давать ионы NO_3^-) на 14 день наблюдения.

Вывод

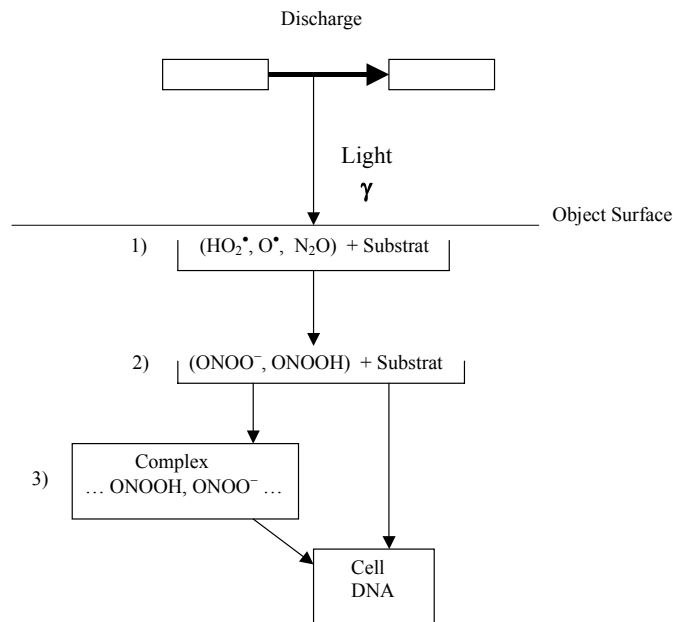
Образованием долгоживущего вещества, распадающегося на пероксинитрит, можно объяснить наблюдавшийся в работе авторов доклада спорадичный эффект после обработки прибором ИР-10 взвеси спор микромицетов. Споры микромицетов покрыты непрозрачной для света пептидогликановой оболочкой, через которую не может проникать не только УФ-излучение, но и активные короткоживущие частицы, которые гибнут, не успев пройти через многослойную оболочку. В то время, как соединения, живущие до 14 суток, успеют проникнуть внутрь споры, распасться на пероксинитрит, который вызывает необратимые повреждения молекул ДНК, в результате чего споры не прорастают и наблюдается 100% спорадичный эффект.

Установлено, что под действием излучения плазмы импульсного искрового разряда на воздухе образуется связанная форма пероксинитрита, распад которой становится заметным на 4 – 5 сутки после обработки и продолжается до 14 суток. Количество образовавшегося за 14 суток после действия излучения пероксинитрита зависит от pH_0 и составляет от $(1 \pm 0.3) 10^{-3}$ моль/л при $pH_0 = 6.5$ до $(2.6 \pm 0.5) 10^{-3}$ моль/л при $pH_0 = 11.9$. В щелочной среде конкурируют процессы образования пероксинитрита и ионов NO_2^- . С ростом pH доля пероксинитрита уменьшается, и при $pH = 12.86$ он не образуется совсем.

Суммарное уменьшение pH нейтрального раствора сразу после обработки и за 14 суток выдержки соответствует образованию и распаду пероксинитрита концентрацией $(2 \pm 0.1) 10^{-3}$ моль/л. Это существенно больше наблюдаемой мгновенной концентрации пероксинитрита, которая по данным измерения спектров поглощения, составляет $(1.7 \pm 0.5) 10^{-5}$ моль/л и по реакции с $DPNH^{\bullet}$ составляет $(1 \pm 0.3) 10^{-5}$ моль/л. Поэтому можно предположить, что пероксинитрит образуется в связанной форме, которая затем начинает медленно распадаться на пероксинитрит и пероксиазотистую кислоту.

Механизм действия излучения

Процесс воздействия излучения плазмы на биологическую пробу можно представить следующим образом.



Излучение плазмы проникает вглубь объекта через его поверхность. В воде образуются первичные активные частицы (HO_2^* , O^* , N_2O), уровень 1. В первую очередь эти частицы расходятся во взаимодействиях с субстратом. Когда вещества, участвующие в этих реакциях, израсходуются, то первичные частицы будут оставаться. Из них образуются вторичные частицы, уровень 2. Пероксинитрит и пероксиазотистая кислота тоже будут в первую очередь взаимодействовать с субстратом. Импульсный характер излучения создает большую мгновенную концентрацию активных частиц, что является причиной образования комплекса, содержащего $ONOOH$ и $ONOO^-$, уровень 3. Сам комплекс малоактивен, время его жизни до 14 суток. Он распадается с образованием $ONOOH$ и $ONOO^-$ в свободном состоянии. Когда скорость реакций с субстратом сильно уменьшится, долгоживущие активные частицы (пероксинитрит, пероксиазотистая кислота и комплекс, включающий эти частицы) смогут проникать в клетку и там взаимодействовать с ДНК, разрушая ее.

Если растворенных веществ и клеток в воде нет, то уровни 1 и 2 соединяются, сразу образуются продукты 3-го уровня.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ