

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
(ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ)»**

На правах рукописи

Васильева Татьяна Михайловна

**ПОЛУЧЕНИЕ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ
ПРОЦЕССОВ, СТИМУЛИРОВАННЫХ ПУЧКОВО-ПЛАЗМЕННЫМ
ВОЗДЕЙСТВИЕМ НА ВЕЩЕСТВО**

01.04.08 – физика плазмы

**диссертация на соискание ученой степени
доктора технических наук**

Москва – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	9
ГЛАВА I. ПРИМЕНЕНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМЫ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ. АНАЛИЗ ПРЕДМЕТНОЙ ОБЛАСТИ	22
1.1. Плазменные технологии, используемые для решения биомедицинских задач, и физико-химические механизмы воздействия низкотемпературной плазмы на биомакромолекулы и живые системы.....	23
1.1.1. Стерилизация и лечение воспалительных заболеваний.....	34
1.1.2. Тканевый инжиниринг.....	38
1.1.3. Применение неравновесной плазмы в хирургии и косметологии.....	40
1.1.4. Факторы плазменного воздействия, влияющие на бактериальные и эукариотические клетки.....	44
1.1.5. Коммерческие устройства для плазменной медицины.....	48
1.2. Плазменные технологии получения медицинских материалов, обладающих высокой биосовместимостью.....	49
1.2.1. Напыление покрытий под действием плазмы атмосферного давления.....	50
1.2.2. Иммерсионная ионная имплантация.....	52
1.2.3. Плазменная литография.....	54
1.3. Физико-химические процессы, протекающие при модификации полимерных материалов в неравновесной плазме.....	54
1.4. Неравновесная плазма в бионанотехнологиях.....	58
1.5. Технологическое применение электронных пучков и электронно-пучковой плазмы.....	61
1.5.1. Применение электронных пучков.....	61
1.5.2. Техника генерации электронно-пучковой плазмы.....	66
1.5.3. Применение электронно-пучковой плазмы.....	70
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	74
2.1. Использованные соединения.....	74
2.2. Подготовка образцов для пучково-плазменной обработки.....	77
2.3. Методы анализа структуры и свойств продуктов ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров.....	79
2.4. Методы анализа биологической активности продуктов ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров.....	84

2.5. Методы анализа структуры покрытий, полученных ЭПП-стимулированным синтезом.....	91
2.6. Методы анализа биологической активности покрытий, полученных ЭПП-стимулированным синтезом.....	93
ГЛАВА III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И МАТЕРИАЛОВ В ЭЛЕКТРОННО-ПУЧКОВОЙ ПЛАЗМЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМЫ В УСЛОВИЯХ ПРОВОДИВШИХСЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ.....	
3.1. Состав и общая компоновка комплекса.....	95
3.2. Генератор электронно-пучковой плазмы.....	99
3.3. Реакционная камера.....	101
3.4. Система формирования газофазного реакционного объема.....	103
3.5. Диагностический комплекс.....	104
3.6. Условия проведения экспериментов и общие свойства ЭПП различных плазмообразующих сред.....	119
ГЛАВА IV. ФОРМИРОВАНИЕ РЕАКЦИОННОЙ ЗОНЫ В ПУЧКОВО-ПЛАЗМЕННЫХ РЕАКТОРАХ.....	
4.1. Генерация ЭПП в замкнутом объеме.....	126
4.2. Инжекция электронного пучка в газ, содержащий конденсированную дисперсную фазу.....	130
4.3. Устойчивость реакционного объема.....	140
ГЛАВА V. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЭЛЕКТРОННО-ПУЧКОВОЙ ПЛАЗМЕ.....	
5.1. ЭПП-стимулированная деструкция и модификация биополимеров.....	144
5.1.1. ЭПП-стимулированная модификация синтетических дериватов α -аминокислот, содержащих пирозолидиновый цикл.....	145
5.1.2. ЭПП-стимулированная деструкция белков.....	147
5.1.3. ЭПП-стимулированный гидролиз полисахаридов.....	171
5.1.4. Модификация тонких пленок и губок полисахаридов в электронно-пучковой и гибридной плазме.....	182
5.2. Биологическая активность низкомолекулярных продуктов, полученных при ЭПП-обработке белков и полисахаридов.....	193
5.2.1. Биологические свойства продуктов ЭПП-стимулированной деструкции	

фибрина-мономера.....	193
5.2.2. Влияние продуктов плазмохимической деструкции фибрина-мономера на агрегационную способность и некоторые показатели свертывающей системы крови у экспериментальных животных.....	199
5.2.3. Биологические свойства продуктов ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана.....	202
5.2.4. Гемостатическая активность тонких пленок и губок полисахаридов, модифицированных в ЭПП и гибридной плазме.....	206
5.3. Анализ физико-химических факторов, воздействующих на биополимеры при обработке в ЭПП.....	210
ГЛАВА VI. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ЭПП-СТИМУЛИРОВАННОГО СИНТЕЗА БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ И НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ.....	227
6.1. ЭПП-стимулированный синтез оксидных покрытий на поверхности металлических материалов и изделий.....	227
6.2. Структура и состав оксидных покрытий, полученных на поверхности титановых сплавов ЭПП-стимулированным синтезом.....	231
6.3. Гидрофильные свойства и биосовместимость оксидных покрытий, полученных на поверхности титановых сплавов ЭПП-стимулированным синтезом.....	238
6.4. ЭПП-стимулированный синтез покрытий на поверхности порошков и волокон биополимеров.....	243
6.5. Плазменно-стимулированный синтез композиционных биоактивных материалов на основе биополимеров.....	247
6.6. Исследование изменений структуры веществ, использовавшихся в экспериментах, под действием ЭП и ВЧ-разряда.....	250
6.7. Получение углеродных материалов, допированных атомами неметаллов, в гибридной плазме.....	254
ГЛАВА VII. АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭПП НА МАТЕРИАЛЫ ПРИ РЕШЕНИИ ЗАДАЧ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И МАТЕРИАЛОВ.....	257
7.1. Физическая модель процессов, протекающих в пучково-плазменных реакторах.....	257
7.2. Кинетические схемы ЭПП газов, использовавшихся в экспериментах.....	261
7.3. Физико-химические процессы, происходящие в приповерхностном слое и в	

объеме материала при воздействии ЭПП.....	267
7.4. Компьютерное моделирование взаимодействия ЭПП с поверхностью образца	273
7.5. Механизмы и пусковые процессы ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров.....	287
7.6. Сравнение пучково-плазменных методов получения биоактивных соединений и материалов с технологиями, традиционно применяемыми в промышленности.....	296
7.7. Сравнение пучково-плазменных реакторов с плазмохимическими реакторами других типов.....	300
ВЫВОДЫ.....	306
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	310
ЛИТЕРАТУРА.....	315

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

APPJ - плазменная струя атмосферного давления

CVD - химическое парофазное осаждение

DBD – диэлектрический барьерный разряд

EBCT - электронно-пучковая компьютерная томография

EDS - энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия

FE-DBD - диэлектрический барьерный разряд с электродом с плавающим потенциалом

MALDI - матрично-активированная десорбция/ионизация

PAGE-электрофорез – денатурирующий электрофорез в полиакриламидном геле

PECVD - плазменно-стимулированное химическое парофазное осаждение

PII - иммерсионная ионная имплантация под действием плазмы низкого давления

ROS – активные формы кислорода

SBF - раствор, моделирующий состав межклеточной жидкости организма

SEM - сканирующая электронная микроскопия

XPS - рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

АДФ - аденозиндифосфорная кислота

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

БСА – бычий сывороточный альбумин

БУЭП – блок управления электронным пучком

ВУ – выводное устройство

ВУФ - вакуумное ультрафиолетовое излучение

ВЧ – высокочастотный

ГА – гемостатическая активность

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КПГ - контроллер подачи газов

МБК - минимальная биоцидная концентрация

МИК - минимальная ингибирующая концентрация

МКЦ – микрокристаллическая целлюлоза

ПДФ – продукты деградации фибриногена

СВЧ - сверхвысокочастотный

ФМ – фибрин-мономер

ФРЭЭ - функция распределения электронов по энергиям

ЭЛО - электронно-лучевая очистка

ЭП – электронный пучок

ЭПП – электронно-пучковая плазма

ЭППР – электронно-пучковый плазмохимический реактор

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

A_{\max} - максимальная величина падения оптической плотности богатой тромбоцитами плазмы после окончания реакции (агрегация тромбоцитов)

B_{λ} - интенсивность свечения электронно-пучковой плазмы

C – концентрация вещества в пробе

d - толщина реакционной зоны

d_d – характерный размер частицы порошка

E_b – энергия электронов инжектируемого пучка

E_{b0} – начальная энергия электронов инжектируемого пучка

I_b – ток электронного пучка

j_b – плотность тока электронного пучка

M_n – среднечисловая молекулярная масса

M_w – средневесовая молекулярная масса

M_v – средневязкостная молекулярная масса

M_w/M_n – индекс полидисперсности

n_d - количество частиц порошка в единице объема реакционной зоны

n_e, n_i, n_{ex} – концентрации вторичных электронов, ионов, возбужденных частиц в плазме

N_j – концентрация частиц определенного сорта вблизи поверхности трубы

P_m – давление плазмообразующей среды

Q - мощность энерговыделения

q_j - поток частиц определенного сорта

r_0 – начальный радиус электронного пучка

T_m – температура плазмообразующей среды

T_s – температура образца (сенсора)

T_w – температура стенки титановой трубы

U_b – ускоряющее напряжение

U_p - потенциал микрозонда

α – коэффициент поглощения

ρ_g – плотность газа

$\delta\theta$ - угловое рассеяние быстрых электронов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность: Низкотемпературная плазма уже достаточно давно используется как основа различных технологий обработки материалов и получения продуктов, обладающих уникальными физико-химическими свойствами. Разработаны разнообразные плазменные установки, в которых реализуются процессы термического и плазмохимического воздействия на вещество. Наиболее широко представлены и достаточно детально изучены физико-химические процессы в плазме газовых разрядов различных частотных диапазонов, генерируемой в газах с давлениями от сотых долей Торр вплоть до атмосферного. Являясь сильнонеравновесной, особенно, при низких давлениях, и химически активной, эта плазма с успехом применяется для поверхностной обработки материалов, осаждения покрытий, плазменно-стимулированного синтеза и декомпозиции неорганических и органических соединений. Известны и недостатки газоразрядных реакторов, ограничивающие их использование. В первую очередь – это контракция газового разряда при повышении давления, что делает практически невозможным формирование больших реакционных объемов. Реакционные объемы, как правило, неоднородны: в них могут возникать зоны с высоким энерговыделением, в которых происходит значительный разогрев плазмообразующей среды и помещенных в эти объемы объектов. При интенсивной продувке газа через разряд возможна потеря устойчивости реакционного объема, а если используются электродные газоразрядные системы, то могут возникать технические проблемы, связанные с химической стойкостью самих электродов.

Расширение спектра прикладных проблем, для решения которых низкотемпературная сильнонеравновесная плазма представляется перспективной (а в настоящее время одним из главных направлений являются плазменная медицина и биология) в первую очередь, делает актуальной задачу создания плазмохимических подходов и технологий, свободных от перечисленных недостатков и ограничений.

В настоящей диссертационной работе исследуются способы получения биоактивных соединений и материалов на основе процессов, стимулированных воздействием на вещества (био)органической и неорганической природы электронно-пучковой плазмы (ЭПП). Принципиальным отличием ЭПП от плазмы газовых разрядов является принцип ее генерации: ЭПП возбуждается инъекцией электронного пучка (ЭП) в плотную газообразную среду. Параметры облака ЭПП, формирующегося в результате взаимодействия ЭП с плазмообразующей средой, определяются характеристиками электронного пучка (силой тока пучка и ускоряющим напряжением пушки), давлением и

химическим составом плазмообразующей среды, а также конструктивными особенностями узлов плазмохимического реактора. По сравнению с плазмой газовых разрядов ЭПП имеет целый ряд преимуществ, а именно:

- ЭП может быть инжектирован в практически любую газообразную среду, поскольку процесс инъекции пучка не накладывает каких-либо принципиальных ограничений на химический состав плазмообразующей среды, а пучково-плазменные системы, являясь безэлектродными, позволяют организовать рабочий процесс без контакта плазмы с элементами конструкции реакционной камеры.
- При повышении давления плазмообразующего газа реакционный объем не только не контрагирует, но, наоборот, его поперечные размеры увеличиваются за счет более интенсивного рассеяния ЭП. Это, в частности, позволяет избежать возникновения зон с высокой плотностью энерговыделения, в которых температура среды может существенно повышаться.
- ЭПП может генерироваться как в свободном газовом объеме, так и внутри какого-либо контейнера, что открывает возможности создания реакторов с различной геометрией реакционной камеры и позволяет селективно обрабатывать внутренние поверхности полых изделий.
- Специальным подбором условий генерации удается получать плазму заданной температуры, значение которой может варьироваться в очень широком диапазоне (от комнатной до 1000 К и выше). Даже при низких температурах ЭПП обладает высокой химической активностью, что особенно важно для плазменных технологий обработки не допускающих нагрева материалов (например, органических или биоорганических полимеров).
- В реакционный объем можно вносить компактные твердые тела, в нем можно также диспергировать порошки различных веществ и распылять жидкости. В последнем случае следует говорить о генерации ЭПП аэрозолей.
- Реакционным объемом легко управлять посредством практически безинерционным сканированием пучка после его вывода в плотную среду. Это позволяет, в частности, регулировать объемную плотность энерговыделения добиваться достаточно высокой однородности воздействия на материалы в процессе их обработки.
- ЭП может быть инжектирован не только в неподвижный газ, но и в газовый поток. При этом удастся сформировать устойчивые плазменные струи с контролируемым пространственным распределением их параметров.

- При инъекции ЭП в плазму, возбужденную каким-либо другим источником, генерируется так называемая комбинированная или, как ее часто называют, гибридная плазма (ГП). Наиболее интересной с точки зрения приложений является комбинация ЭПП с газоразрядной плазмой.

Несомненным достоинством пучково-плазменных технологий является и то, что получаемые продукты оказываются стерильными и часто не нуждаются в дополнительной очистке от микроорганизмов и их биопленок. Эффективность стерилизации обеспечивается сочетанным действием активных радикалов, интенсивно нарабатываемых в пучковой плазме, а также быстрых электронов и рентгеновского излучения, генерируемого при их торможении в плотной среде.

Совокупность физико-химических процессов, протекающих в ЭПП, делают ее уникальным инструментом воздействия на материалы с целью модификации их свойств. В столкновениях быстрых электронов с молекулами газа ЭП рассеивается, а их энергия постепенно уменьшается вплоть до тепловой. Энерговыделение ЭП в газе стимулирует разнообразные элементарные процессы, главными из которых являются ионизация и возбуждение газа. Образующиеся при этом частицы вступают в плазмохимические реакции, кинетика которых определяется как родом взаимодействующих частиц, так и температурой плазмообразующей среды.

Даже в простейших плазмообразующих средах (например, в инертных газах) состав тяжелых частиц ЭПП сложен: в ней присутствуют нейтральные, заряженные и возбужденные частицы, являющиеся продуктами плазмохимических реакций, а также электроны первичного пучка и вторичные электроны. В широком диапазоне условий генерации ЭПП является сильнонеравновесной: продукты молекулярных превращений присутствуют в ней в сверхнеравновесных концентрациях, а распределение электронов по энергиям не является максвелловским. Превышение энергии электронов над энергией химически активных тяжелых частиц делает невозможным независимое изучение химических превращений и физических процессов в плазме.

Если ЭП инжектируется в газ, содержащий диспергированный порошок или когда в плазменный объем вносится компактное твердое тело, описанная выше модель взаимодействия ЭП со средой существенно усложняется. В таких задачах необходимо учитывать процессы на поверхности конденсированной фазы, стимулированные электронной бомбардировкой, и плазмохимические реакции на поверхности твердого тела. Следует также отметить, что свойства приповерхностной плазмы могут отличаться от свойств ЭПП, генерируемой в свободном газовом объеме. Многообразие активных частиц, взаимодействующих с поверхностью обрабатываемого материала, делает

гетерогенные процессы принципиально многоканальными, причем вклады отдельных каналов могут быть неаддитивны.

Энергия, выделяющаяся при торможении ЭП в газе и твердом теле, в конечном счете, переходит в тепло или излучается. Нагрев плазмообразующей среды влияет не только на кинетику плазмохимических реакций, но и на условия распространения пучка, в частности на плотность газа. Генерация оптического и тормозного излучения в ЭПП может также оказывать существенное влияние на продукты в реакционном объеме, стимулируя, например, фотохимические и радиационно-химические реакции на поверхности твердого тела. Таким образом, ЭПП представляет собой сложный объект физико-химического исследования, а корректное описание процессов, происходящих в ЭПП, требует самосогласованного решения целого ряда задач: электронно- и молекулярно-кинетических, тепловых, электрофизических и газодинамических, а также плазмохимических превращений, происходящих в неравновесных условиях. В рамках проведенного исследования были разработаны алгоритмы управления характеристиками реакционного объема, которые обеспечивают оптимальные условия пучково-плазменного воздействия на исходные соединения и материалы с целью придания им требуемых биологических свойств. Также была проведена оценка вклада реализуемых в ЭПП факторов (высокоэнергетические электроны ЭП, тормозное рентгеновское излучение, плазменно-стимулированные химические реакции, нагрев газа и тела, внесенного в реакционный объем) в модификацию обрабатываемых материалов. Большое внимание было уделено анализу факторов, способных привести к потере устойчивости реакционного объема, и разработке способов подавления неустойчивостей различной физической природы, которые могут возникнуть в пучково-плазменных реакторах.

Научная новизна исследования: Все перечисленные преимущества пучково-плазменных систем наиболее полно проявляются при решении задач, связанных с медико-биологическими приложениями низкотемпературной плазмы. При использовании ЭПП в качестве инструмента целенаправленной модификации сложных биоматериалов и биополимеров возможно реализовать всю совокупность протекающих в ней физико-химических процессов и получать биоактивные соединения с уникальными свойствами, а также гибридные материалы, в композиционный состав которых входят неорганические (металлы, углерод), органические и биоорганические (синтетические и природные биополимеры, аминокислоты и т.д.) компоненты. Процессы, происходящие под действием ЭПП на поверхности и в объеме материала, вызывают изменения его химического состава

и структуры (что обычно сопровождается изменением гидрофильно-гидрофобных свойств) и могут стимулировать появление биологической активности материала.

Однако к моменту начала работы над настоящей диссертацией процессы, стимулированные пучково-плазменным воздействием на вещество, как основа технологий создания материалов и изделий биомедицинского назначения не рассматривались, и вплоть до настоящего времени исследования в этой области проводятся преимущественно с плазмой газовых разрядов. Именно это обстоятельство определяет научную новизну диссертационной работы и полученных результатов, а также отличает ее от известных работ, связанных с исследованием свойств и технологическими приложениями ЭПП (см. раздел «Обзор литературы»).

В работе впервые исследованы физико-химические механизмы взаимодействия ЭПП с биоматериалами и установлены закономерности, связывающие параметры пучково-плазменного воздействия с физико-химическими и биологическими свойствами образующихся продуктов плазмохимических реакций. На основе выявленных закономерностей разработаны методы оптимального управления процессом получения биоактивных низкомолекулярных соединений на основе белков и полисахаридов, получения эффективных гемостатиков, синтеза композиционных и гибридных материалов и покрытий с улучшенной биосовместимостью, а также комплексов «биополимер-низкомолекулярное органическое лекарственное соединение».

Впервые методами ЭПП-стимулированного гидролиза получены активные агенты для фармакологии, сельского хозяйства, пищевой промышленности: новые низкомолекулярные соединения (пептиды и хитоолигосахариды), обладающие антиагрегационной активностью, а также бактерицидными и антимикотическими свойствами.

Впервые с помощью пучково-плазменного воздействия получены эффективные гемостатические материалы на основе тонких пленок и губок полисахаридов.

Впервые показана возможность ЭПП-стимулированного синтеза биоактивных оксидных покрытий на металлических (изготовленных из титановых сплавов) материалах.

Впервые в гибридной плазме, генерированной путем инъекции ЭП в область ВЧ-разряда, получены композиционные материалы, которые содержат в своем составе полисахариды и белок, являющийся естественным активатором свертывания крови, а также комплексы «биополимер-низкомолекулярное лекарственное вещество», которые могут обеспечивать адресную доставку лекарственных соединений к тканям и клеткам организма человека.

Впервые в гибридной плазме получены углеродные материалы (графен), допированные атомами азота и серы, пригодные для изготовления на их основе различных сенсоров.

На основе выявленных закономерностей предложены способы, которые используют совместное воздействие факторов различной физико-химической природы, реализующихся в ЭПП, при получении материалов со специальными биологическими свойствами. Предложены способы управления процессом пучково-плазменной обработки, и технические решения которые обеспечивают:

- устойчивость реакционного объема в реакторах с плазмой, содержащей конденсированную дисперсную фазу;
- управление температурным режимом пучково-плазменной обработки за счет самосогласованного управления процессом по трем параметрам (сила тока пучка, давление плазмообразующего газа, угол начальной расходимости пучка);
- управление пространственным распределением энерговыделения по реакционному объему для различных плазмообразующих сред (инертные газы, кислород, азот, аммиак, пары воды, твердые аэрозоли) при обработке термолабильных органических соединений и материалов в различных формах (компактные твердые тела, мелкодисперсные порошки, пленки, губчатые структуры и др.).

Практическая значимость: Сравнение характеристик ЭПП, получаемой в типичных режимах работы пучково-плазменного реактора, и плазмы газовых разрядов, обычно применяемых для решения биомедицинских задач, позволило выявить области применения предложенных технологий, в которых они либо не имеют конкурентов, либо имеют существенные преимущества.

Оптимизацией параметров пучково-плазменного воздействия за счет самосогласованного подбора параметров электронного пучка и плазмообразующей среды с учетом специфики обрабатываемого материала, предложенные способы получения биоактивных соединений характеризуются высоким выходом (до 90%) полезных продуктов. При этом процесс их получения не сопровождается образованием опасных и или токсичных побочных продуктов, а также, в отличие от традиционной «мокрой» химии, выбросами и сливами, загрязняющими окружающую среду.

Полученные в работе новые низкомолекулярные продукты, образующиеся при деструкции фибрин-мономера и хитозана в ЭПП, могут быть использованы в качестве

основы для создания новых лекарственных препаратов, регулирующих тромбоцитарную агрегацию, а также представляют интерес в плане потенциальной возможности их применения в качестве антимикотического и антибактериального компонента в составе различных медицинских препаратов, таких как гели, мази и присыпки. ЭПП-стимулированный синтез TiO_2 является многообещающим способом получения биоактивных покрытий на поверхности титановых медицинских ортопедических и дентальных имплантатов. На основе гибридных материалов могут быть созданы новые многокомпонентные структуры и покрытия, обладающие высокой биосовместимостью с тканями организма и/или сочетанным биологическим действием (например, антибактериальным и гемостатическим), способностью к дозированному высвобождению активного вещества в кровь и межклеточное пространство, а также комплексы, позволяющие осуществлять целенаправленную доставку лекарственного препарата в зону фармакологической заинтересованности.

Полученные при выполнении работы результаты допускают и предполагают межотраслевой перенос, поскольку пучково-плазменная модификация дисперсных и пористых материалов может быть применена в смежных областях техники и технологий:

- химические технологии и катализ (производство каталитических и газоразделительных мембран, сорбентов);
- сельское хозяйство (создание активных фунгицидных агентов, биостимуляторов роста и индукторов болезнестойчивости растений, фитопротекторов, биологически активных добавок к кормам сельскохозяйственных животных, сорбентов для аквакультуры);
- пищевая промышленность (пищевые добавки, компоненты для упаковки продуктов);
- биотехнологии (получение высокоэффективных субстратов для микроорганизмов);
- разработка материалов для систем специального назначения (материалы, применяемые в аэрокосмической технике и в системах обеспечения жизнедеятельности людей и поддержания работоспособности аппаратуры в условиях неблагоприятного внешнего воздействия и др.);
- нанотехнологии (создания высокочувствительных газовых, фото-, хемо- и биосенсоров для ранней диагностики заболеваний, химического анализа и детекции токсических веществ).

В частности, в настоящее время на основе созданного пучково-плазменного реактора в интересах ОАО «Корпорация Росхимзащита» ведется разработка технологии производства высокоэффективных сорбентов и регенераторов дыхательных смесей для

индивидуальных и коллективных систем жизнеобеспечения военнослужащих и гражданского населения. Внедрение данной технологии позволит в значительной мере решить задачу импортозамещения при производстве компонентов систем защиты органов дыхания.

На разных этапах выполнения работа была поддержана:

- грантом Министерства образования и науки РФ и Американского фонда гражданских исследований и развития (CRDF) "Электронно-пучковая плазма – метод целенаправленной модификации биоорганических молекул" (грант № Y5-P-11-03);
- грантом Президента Российской Федерации в поддержку молодых кандидатов наук "Экспериментальное доказательство возможности применения неравновесной электронно-пучковой плазмы (ЭПП) для придания новых свойств биоорганическим молекулам" (грант МК-2635.2008.2);
- стипендией Регионального общественного фонда содействия отечественной медицине;
- грантами Российского фонда фундаментальных исследований, в том числе грантом №12-08-31246-мол_a «Экспериментальное исследование модификации биополимеров и плазменно-стимулированного синтеза биоактивных соединений в плазмохимических реакторах гибридного типа», в рамках конкурса инициативных научных проектов, выполняемых молодыми учеными.

Цели исследования

1. Сформулировать базовые принципы технологических процессов получения биоактивных соединений и материалов при комбинированном пучково-плазменном воздействии на вещество, а также разработать научные основы конструирования пучково-плазменных реакторов. Выявить закономерности, связывающие условия пучково-плазменной обработки исходных неорганических веществ и органических соединений с биологическими свойствами получающихся при этом продуктов.
2. Обосновать преимущества методов пучково-плазменного воздействия на вещество применительно к технологиям производства материалов и изделий медико-биологического назначения; разработать лабораторные образцы плазмохимических реакторов, реализующие эти методы. Разработать способы получения биоактивных соединений и материалов на основе процессов, стимулированных пучково-плазменным воздействием на вещества различной природы.

Задачи исследования:

1. Обосновать и отработать конструкторские и схемные решения пучково-плазменных реакторов, реализующих следующие процессы:
 - управляемая деструкция сложных биоорганических молекул с целью получения биоактивных низкомолекулярных соединений;
 - целенаправленная модификация и функционализация поверхности неорганических и биополимерных материалов с целью управления их гидрофильно-гидрофобными свойствами и биологической активностью;
 - плазменно-стимулированный синтез биоактивных покрытий на поверхности металлических изделий;
 - плазменно-стимулированное осаждение покрытий с целью формирования биоактивных комплексов и получения гибридных материалов.
 - допирование углеродных материалов (в том числе, графена) атомами неметаллов с целью получения полупроводников с разным типом проводимости для создания на их основе биосенсоров.
2. Установить связь физико-химических свойств продуктов, полученных в результате пучково-плазменной обработки металлов, полимеров и биополимеров, углеродных материалов с параметрами, характеризующими условия обработки; исследовать приобретенные ими специфические биологические свойства. Для этого:
 - Определить зависимость параметров строения молекул белков и полисахаридов от условий обработки; выявить вклад различных факторов, воздействующих на вещество при его обработке в ЭПП (облучение быстрыми электронами, тяжелыми частицами плазмы, тормозным рентгеновским излучением, а также эффекты, связанные с накоплением экспозиционной дозы облучения); изучить физико-химические и биологические свойства получаемых продуктов.
 - Исследовать влияние температуры, химического состава и давления плазмообразующего газа, энергии, а также параметров ЭП, на структуру и химический состав поверхностных слоев, синтезированных на поверхности металлических изделий в ЭПП различных газов; провести анализ гидрофильно-гидрофобных свойств и биологической активности полученных покрытий.
3. Разработать методы управления плазменно-стимулированными процессами получения биоактивных соединений и материалов посредством:
 - изменения режимов работы генератора плазмы;
 - варьирования длительности обработки;

- оптимизации условий формирования реакционного объема.
4. Провести экспериментальную верификацию ряда известных методов компьютерного моделирования физико-химических и тепловых процессов, протекающих в пучково-плазменных реакторах с газфазными и гетерогенными реакционными зонами.

Апробация работы: Результаты диссертационной работы были представлены на следующих конференциях, симпозиумах и научных семинарах:

- 1) Международный симпозиум по теоретической и прикладной плазмохимии (Иваново, 2005, 2008, 2011; Плес 2014), 2) Chemical Nanotechnology Talks VI. Processing and Fictionalization: Materials Properties, Devices, and Applications (Frankfurt am Main, Germany, 2005), 3) Workshop & Summer School on Plasma Physics (Kiten, Bulgaria, 2005, 2006), 4) International Symposium on Plasma Chemistry (Bochum, Germany, 2009; Antwerp, Belgium, 2015), 5) 43th Japanese peptide symposium/4th Peptide Engineering Meeting (Yokohama, Japan, 2006), 6) European Bioperspectives (Cologne, Germany, 2007), 7) 44th Japanese peptide symposium (Toyama, Japan, 2007), 8) 5th IEEE International Conference on Plasma Science (Karlsruhe, Germany, 2008), 9) 24th Summer School and International Symposium on the Physics of Ionized Gases (Novi Sad, Serbia, 2008), 10) International Conference on Materials for Advanced Technologies 2009 (Singapore, 2009), 11) IV Всероссийская конференция (с международным участием) "Химия поверхности и нанотехнология" (Санкт-Петербург-Хилово, Россия, 2009), 12) 20th European Conference on the Atomic and Molecular Physics of Ionized Gases (ESCAMPIG XX) (Novi Sad, Serbia, 2010), 13) 3rd International Conference on Plasma Medicine (ICPM-3) (Greifswald, Germany, 2010), 14) XXXVIII Международная (Звенигородская) конференция по физике плазмы и управляемому термоядерному синтезу (Звенигород, Россия, 2011), 15) Latin American Workshop on plasma physics (Mar del Plata, Argentina, 2011; San-Jose, Costa Rika, 2014), 16) Международная конференция «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» (Мурманск, 2012, Пермь, 2014), 17) International Conference "Plasma Physics and Plasma Technology" (Minsk, Belarus, 2012, 2015), 18) 6th International Conference on Advanced Materials and Nanotechnology (Auckland, New Zealand, 2013), 19) 12th International Conference of the European Chitin Society and the 13th International Conference on Chitin and Chitosan, Munster, Germany, 2015, 20) Семинар "Получение, исследование и применение низкотемпературной плазмы" имени профессора Л.С. Полака (Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва, 2011, 2014), 21) Семинар ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Объединенного Института Высоких температур РАН, Московского

физико-технический института «Электронно-пучковая плазма в медико-биологических приложениях» (Москва, 2010), 22) Семинар ОИВТ РАН под руководством академика В.Е. Фортова (ОИВТ РАН, Москва, 2015).

Структура и объем диссертации: Диссертационная работа объемом 349 страниц состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 4 глав экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов. Работа содержит 57 таблиц и 120 рисунков. Список литературы включает 122 отечественных и 321 иностранных работ.

Публикации: Список работ, опубликованных по теме диссертационной работы, приведен в отдельном разделе. Всего по теме диссертации опубликовано 50 печатных работ, из которых 26 статей в российских и зарубежных журналах и периодически издающихся сборниках, в том числе 17 работ опубликовано в журналах из перечня ВАК РФ.

Результаты работы были включены в главу монографии Practical Applications in Biomedical Engineering (Eds. A.O. Andrade, A.A. Pereira, E.L.M. Naves, A.B. Soares, InTech, 2012, P. 285-310) и в раздел Materials production with Beam Plasmas в Encyclopedia of Plasma Technology (Ed. J.L. Shohet, Taylor & Francis, 2016).

С использованием результатов диссертационной работы был подготовлен раздел «Плазмохимия» в составе учебной дисциплины «Пучково-плазменные технологии». В настоящее время в рамках программы повышения конкурентоспособности ведущих университетов РФ (Программа 5-100) англоязычная версия этого раздела была выделена в самостоятельную дисциплину.

Положения, выносимые на защиту: На защиту выносятся:

1. Экспериментальные комплексы на базе плазмохимических реакторов, предназначенных для отработки пучково-плазменных технологий получения биоактивных соединений и материалов.
2. Методы экспериментального исследования процессов получения материалов и изделий медико-биологического назначения в плазмохимических реакторах, основанных на использовании электронно-пучковой и комбинированной плазмы.

3. Способы управления пучково-плазменными реакторами различных модификаций, обеспечивающие получение материалов и изделий с заданными медико-биологическими свойствами.
4. Экспериментально установленные закономерности, связывающие параметры молекулярного строения и структуры продуктов, получаемых в плазмохимических реакциях, стимулированных электронно-пучковой плазмой, с параметрами пучково-плазменного воздействия.
5. Физические и плазмохимические модели неравновесных процессов взаимодействия электронно-пучковой плазмы с материалами, приводящих к изменению их биологических свойств, а также результаты экспериментального исследования этих процессов.
6. Способы получения ингибиторов агрегации тромбоцитов крови человека за счет деструкции сложных биоорганических полимеров (белков) в электронно-пучковой плазме.
7. Способы получения низкомолекулярных водорастворимых хитоолигосахаридов, обладающих антибактериальным, фунгицидным и фитостимулирующим действием, за счет плазменно-стимулированной деструкции полисахаридов. Способы получения гемостатиков пучково-плазменной модификацией пленок и пористых структур полисахаридов.
8. Способы получения покрытий, обладающих высокой биосовместимостью, на металлических поверхностях за счет плазменно-стимулированного синтеза оксидов.
9. Способы получения биоактивных гибридных материалов в процессах плазменно-стимулированного осаждения органических низкомолекулярных лекарственных соединений на поверхность порошков биополимеров.
10. Способы допирования графена и углеродных нанотрубок атомами биогенных элементов в комбинированной плазме с целью получения конструкционных материалов для биосенсоров.

Вклад автора. Исследования, составляющие основу диссертационной работы, проведены при личном участии автора как исполнителя или научного руководителя. Автору принадлежат идеи постановки экспериментов, им получена значительная часть экспериментальных данных, выполнен их анализ и обобщение, сформулированы выводы и рекомендации по практическому использованию результатов исследования.

Соискателем были спланированы и лично проведены эксперименты по плазменно-стимулированному синтезу биосовместимых покрытий из оксида титана на поверхности изделий сложной геометрии, управляемой деградации белков и полисахаридов, получению супрамолекулярных комплексов в гибридной плазме. Соискателем были предложены и реализованы методы управления физико-химическими процессами в пучково-плазменных реакторах посредством самосогласованного подбора характеристик электронного пучка и плазмообразующей среды с учетом специфики обрабатываемого материала. Автором также предложены подходы к оптимизации параметров, определяющих свойства реакционного объема, и длительности обработки.

Соискателем были предложены и разработаны конструкторские и схемные решения экспериментальных установок, использовавшихся для исследования физико-химических и тепловых процессов, протекающих в пучково-плазменных реакторах с газофазными и гетерогенными реакционными зонами, и которые могут рассматриваться как прототипы промышленных реакторов, предназначенных для производства биоактивных соединений и материалов различного назначения.

Экспериментальная верификация предложенных Н.Л. Александровым кинетических схем процессов, протекающих в ЭПП различных газов, и разработанных С.Л. Лысенко методов компьютерного моделирования ЭПП выполнена автором лично.

Химические и структурные анализы обработанных в ЭПП материалов были выполнены в центре по применению нанотехнологий в энергетике и электроснабжении космических систем ГНЦ ФГУП «Исследовательский центр им. М.В. Келдыша», Физико-техническом институте НАН Белоруссии, центре коллективного пользования научным оборудованием «Арктика» САФУ, испытательном центре ГНУ Всероссийского научно-исследовательского и технологического института птицеводства, ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ, ФГУБН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН под научным руководством автора.

В работах, опубликованных по теме диссертации, автором был внесен основной вклад в постановку задачи, подготовку и проведение экспериментов, обработку и интерпретацию их результатов, а также подготовку текстов публикаций. 9 публикаций выполнены и подготовлены без соавторов.

ГЛАВА I. ПРИМЕНЕНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМЫ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ. АНАЛИЗ ПРЕДМЕТНОЙ ОБЛАСТИ

В настоящее время неравновесная низкотемпературная плазма нашла широкое применение в химической технологии, технологии обработки металлов и получения разнообразных покрытий, а также других областях науки и техники, что связано с уникальными особенностями такой плазмы: высоким уровнем энергии электронов и концентрацией химически активных возбужденных и заряженных частиц при низкой температуре газа. Перечисленные особенности неравновесной низкотемпературной плазмы и протекающих в ней плазмохимических реакций обусловлены тем, что в отличие от традиционных химических процессов они проводятся в системах открытых в термодинамическом смысле: для получения плазмы необходимы внешние источники энергии и часть ее расходуется на осуществление (инициирование) химических процессов [1.1.0].

При инициировании плазмохимических реакций можно выделить три этапа:

- энергия от внешнего источника передается в газ через электронную компоненту плазмы;
- электронный газ передает полученную энергию тяжелым частицам в процессах нагрева, возбуждения внутренних степеней свободы атомов и молекул, ионизации, диссоциации. При этом происходит перераспределение энергии внешнего источника между тяжелыми частицами, и создаются химически активные частицы;
- собственно химические превращения в полученной химически активной среде.

Таким образом, процессы в химически активной плазме связаны с присутствием трех групп частиц: заряженных, возбужденных и нейтральных невозбужденных (исходные вещества, атомы, радикалы, продукты промежуточных реакций), и роль электронной компоненты плазмы в инициировании реакций является определяющей.

Процесс передачи энергии от внешнего источника на внутренние степени свободы тяжелых частиц зависит от характеристик электронной компоненты плазмы, а именно, функции распределения электронов по энергиям (ФРЭЭ) и их концентрации. Эти характеристики определяют скорость образования атомов и радикалов и, соответственно, скорость образования продуктов. В свою очередь ФРЭЭ зависит от напряженности электрического поля в плазме и каналов потерь энергии электронами в столкновениях с тяжелыми частицами, набор которых определяет плазмообразующий газ. Напряженность электрического поля в плазме самостоятельных разрядов определяется уравнением баланса заряженных частиц, т.е. вновь химическим составом газовой среды через

механизм ионизации и ионный состав плазмы. Из этого видно, что физические и химические явления самосогласованы, т.е. изменение любого из параметров плазмы (в число которых включены и химические характеристики) ведет к изменению остальных [1.1.0].

Неравновесность физико-химических процессов, происходящих в низкотемпературной плазме, позволяет осуществлять химические превращения материала, недостижимые традиционными химическими методами. В последнее время активно исследуется возможность применения неравновесной низкотемпературной плазмы для решения биомедицинских задач. Основными направлениями использования плазмохимических методов в биологии и медицине являются:

1) Стерилизация и деконтаминация медицинского оборудования (хирургических инструментов, катетеров, шовных и упаковочных материалов и т.д.), кожных покровов и раневых поверхностей, а также продуктов питания и сточных вод.

2) Повышение биосовместимости имплантатов и материалов, применяемых в медицинской практике, биотехнологии и работе с клеточными культурами.

3) Создание новых композитных материалов, обладающих новыми биологическими свойствами, потенциально интересными для медицинских и биологических приложений.

4) Плазменная хирургия: разработка новых нетрадиционных способов воздействия на живые ткани организма (плазменный скальпель, плазменная игла), которые могут применяться при обработке ран и остановке кровотечения во время хирургического вмешательства, ускорения клеточной регенерации.

5) Использование плазменных технологий для получения наноматериалов и нанобиосенсоров.

Следует отметить, что так или иначе все эффекты плазменной обработки материалов и биообъектов связаны с изменением физико-химических свойств их поверхности. Поэтому одной из проблем, тесно связанной с оптимизацией плазменного воздействия, является проблема установления количественной связи между физико-химическими и технологическими эффектами.

1.1 Плазменные технологии, используемые для решения биомедицинских задач, и физико-химические механизмы воздействия низкотемпературной плазмы на биомакромолекулы и живые системы

Для решения биомедицинских задач показана возможность использования неравновесной низкотемпературной плазмы различных видов разрядов: дугового, коронного

(постоянного или переменного тока), тлеющего (от низкочастотных до имеющих частоту несколько МГц), плазменных струй атмосферного давления (частота до нескольких ГГц), СВЧ-разрядов и др. Многие из перечисленных разрядов могут быть уменьшены до размера в несколько сотен микрометров. Такие разряды получили название микроплазмы или микроразрядов.

Наиболее часто применяется плазма газовых разрядов различных частотных диапазонов и при различных давлениях (вплоть до атмосферного). Для генерации такой плазмы создан целый ряд устройств, которые используются в биологии и медицине: плазменная игла, плазменный факел тлеющего разряда атмосферного давления, диэлектрический барьерный разряд, диэлектрический барьерный разряд с плавающим электродом, плазменные и микроплазменные струи, наносекундная плазменная пушка [1.1.1].

Дуговыми называют разряды, как правило, самоподдерживающиеся, в которых катодное падение потенциала имеет относительно низкую величину (~ 10 эВ). Причиной малой величины катодного падения является то, что катоды дуг испускают электроны в результате термоэлектронной, автоэлектронной или термоавтоэлектронной эмиссии. Дуговым разрядам свойственны большие токи ($\sim 1-10^6$ А) и плотности тока на катоде ($\sim 10^2-10^7$ А/см²) и низкие напряжения горения дуг (десятки вольт) [1.1.2].

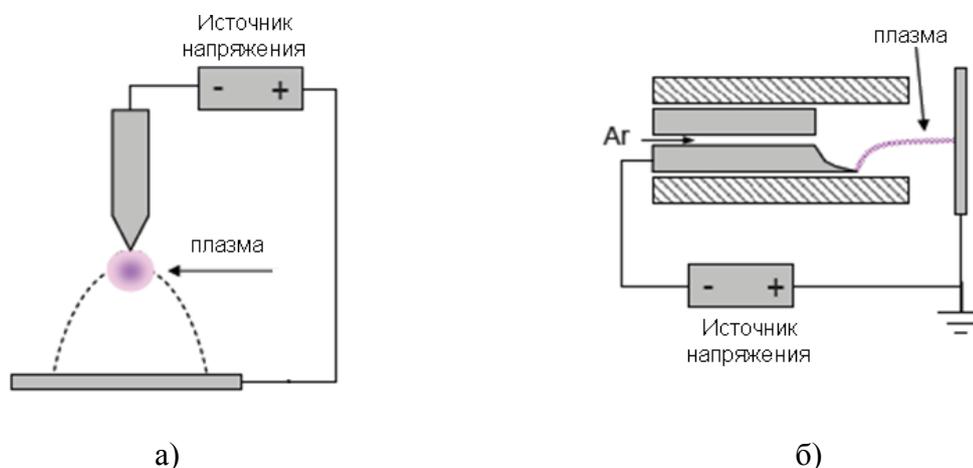


Рис. 1.1.1. Конфигурация генерации отрицательного коронного разряда постоянного тока: а) генерация плазмы на острие конце отрицательного электрода; б) тонкий канал плазмы, формирующийся между заостренным отрицательным и заземленным электродами в потоке аргона [1.1.1].

Дуговой разряд применяют для плазменного напыления пористых покрытий со сложной микроструктурой, которая способствует срастанию эндопротеза с костной тканью (см. раздел 1.2.1). Использование дугового разряда непосредственно в медицине и биологии крайне ограничено, вследствие его температурного воздействия на клетки и

ткани. В настоящее время в медицине плазма дугового разряда применяется для рассечения тканей с одновременной остановкой кровотечения при проведении различных хирургических операций (см. раздел 1.1.3).

Коронный разряд возникает в сильном неоднородном поле при сравнительно высоких давлениях (порядка атмосферного) вокруг заостренного электрода (заостренные края, концы или тонкие провода), где напряженность электрического поля достаточно высока для ускорения случайно образующихся электронов до энергий близких к потенциалу ионизации атомов или молекул окружающего газа. Таким образом, ионизация газа и сопутствующее свечение преимущественно локализуется около заостренного электрода.

Типичной геометрией для коронного разряда является заостренный изогнутый электрод, расположенный напротив плоского электрода (Рис. 1.1.1). Также возможна цилиндрическая конфигурация. Коронный разряд может управляться постоянным или переменным током, а сам заостренный электрод может иметь как отрицательный, так и положительный потенциал. В приложении к биомедицинским задачам чаще всего используют отрицательные коронные разряды постоянного тока [1.1.1, 1.1.2].

R. Bussiahn и соавторы (2010) разработали установку, генерирующую с определенной частотой отрицательный коронный разряд постоянного тока в очень малом объеме. В данном устройстве через заостренный полый игольчатый электрод, на который подавалось напряжение 1-14 кВ отрицательной полярности, продувался аргон со скоростью 0,5 стандартных $\text{см}^3 \times \text{мин}^{-1}$. В результате между катодом и анодом, в качестве которого выступал обрабатываемый биологический образец, генерировалась плазма с температурой газа ~ 300 К. Данный разряд создавал наносекундные импульсы с частотой $\sim 1,8$ кГц и амплитудой несколько сотен мА. Радиус и длина коронного разряда составляли 30 мкм и 1,5 см соответственно [1.1.3].

Разработано устройство, генерирующее усиленный коронный разряд, в котором преодолеваются ограничения плотности плазмы, возникающие вследствие заряда пространства в случае классического коронного разряда. Плотность плазмы усиленного коронного разряда может достигать порядка 10^{11} ионов/ см^3 [1.1.4].

Глеющий разряд – самоподдерживающийся разряд с холодным катодом, испускающим электроны в результате вторичной эмиссии, главным образом под действием положительных ионов. Разряд такого типа можно наблюдать в стеклянной трубке с впаянными у концов плоскими металлическими электродами. Глеющему разряду присущи отличительные особенности: небольшая сила тока (10^{-6} - 10^{-1} А в трубках с сечением порядка 1 см^2), довольно высокое напряжение (сотни и тысячи вольт)

характерное пространственное распределение интенсивности светящихся и темных областей.

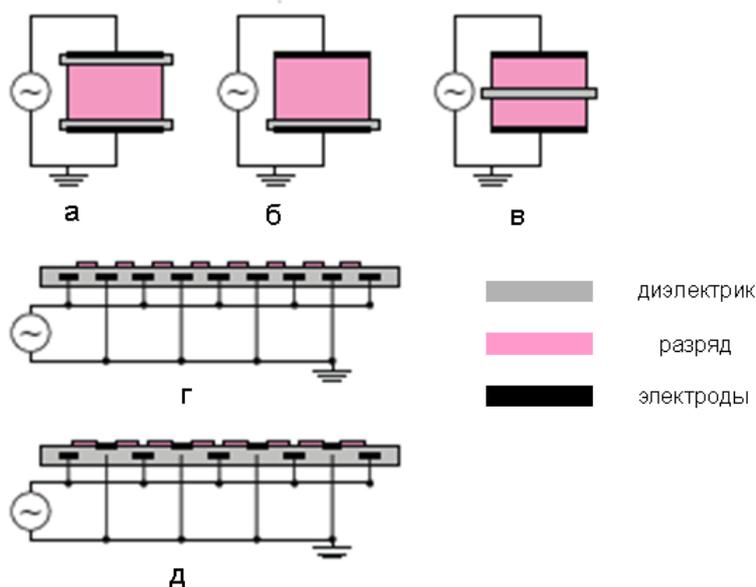


Рис. 1.1.2. Расположение электродов в диэлектрическом барьерном разряде: а) планарное с диэлектриком на обоих электродах; б) планарное с диэлектриком на одном электроде; в) планарное с диэлектриком в разрядном промежутке; г) копланарное с электродами, помещенными в слой диэлектрика; д) приповерхностный разряд, один из электродов помещен в диэлектрик [1.1.1].

Разновидностями тлеющего разряда являются *диэлектрический и резистивный барьерные разряды*, которые характеризуются наличием слоя диэлектрика по крайней мере на одном электроде или в межэлектродном пространстве. Классической конфигурацией *диэлектрического барьерного разряда (DBD)* (Рис. 1.1.2.а) является объемный барьерный разряд, где два электрода, на одном из которых находится изолирующий материал, ограничивающий ток разряда. В качестве одного из электродов может выступать сам биологический объект, что дает возможность его прямой обработки. Расстояние между электродами может варьироваться от микрометров до нескольких сантиметров в зависимости от используемого газа и прикладываемого напряжения. Типичными для DBD условиями генерации являются: напряжение в несколько кВ, частота в несколько МГц и энерговыход порядка нескольких Вт/дм² площади электродов. При высоких входных мощностях температура газа может достигать 150 °С.

Специальными конфигурациями барьерного разряда являются так называемый приповерхностный барьерный разряд и копланарный разряд. В поверхностном барьерном разряде оба электрода непосредственно контактируют с диэлектриком, и плазма формируется вокруг электродов на поверхности диэлектрика. В случае копланарного барьерного разряда оба электрода вмонтированы в слой диэлектрика (Рис. 1.1.2.г).

Одной из трудностей, возникающих при использовании тлеющего разряда, является его филаментация при давлениях, превышающих единицы Торр, что приводит к снижению эффективности воздействия на вещество. В ряде работ описаны устройства, позволяющие генерировать стабильный однородный тлеющий разряд при давлениях порядка одной атмосферы [1.1.5]. Примером такого устройства служит созданный Т.С. Montie и соавторами (2000) реактор для генерации однородного тлеющего разряда при давлении одна атмосфера, не требующий вакуумной системы. Данный реактор состоял из рабочей камеры с размерами 40×35×35 см, в которой находились электроды, покрытые стеклянными или пластмассовыми изоляторами. На электроды подавался электрический ток с частотой 1-20 кГц. Классическим вариантом являлось устройство, в котором обрабатываемые образцы находились на одном из электродов. В другой конфигурации реактор состоял из нескольких плазменных панелей, генерирующих приповерхностный разряд [1.1.6].

К. Becker и соавторы разработали систему, в которой диэлектрические капилляры покрывают один или оба электрода устройства, генерирующего разряд, и которая получила название капиллярный плазменный электрод. Таким образом, формируется микроплазма, имеющая объем менее 1 мм³. В данной системе плазменные потоки, генерируемые каждым капилляром в отдельности, объединяются и формируют однородное плазменное облако, которое в отличие от многих плазм атмосферного давления не имеет тенденции к филаментации и преобразования в дуговой разряд. В качестве плазмообразующих газов в данной системе использовали гелий и смеси гелий-азот и гелий-воздух [1.1.7].

С. Cheng с соавторами (2006) разработал генератор плазмы атмосферного давления, снабженный низкочастотным (6-20 кГц) источником переменного тока. Температура плазмы в таком генераторе составляет 25-30 °С, что является более приемлемым при обработке объектов, чувствительных к нагреву [1.1.8].

Устройство для генерации резистивного барьерного разряда основано на конфигурации диэлектрического барьерного разряда. В установках данного типа плазма генерируется между двумя плоскими находящимися друг от друга на расстоянии пластинами, одна из которых покрыта высоко резистивным материалом. Высоко резистивный материал играет роль распределенного балласта, который ограничивает ток плазменного разряда и предотвращает его трансформацию в дугу [1.1.9, 1.1.10]. Преимуществом резистивного барьерного разряда перед диэлектрическим является возможность использования источника постоянного или низкочастотного (60 Гц) тока для

поддержания разряда и возможность генерировать большие объемы холодной плазмы при атмосферном давлении [1.1.9, 1.1.10].

Для удобства обработки различных объектов (продуктов питания и оборудования, используемого для их производства, упаковок, чашек Петри, медицинских инструментов и т.д.) разрабатываются специальные конфигурации устройств, генерирующих тлеющий разряд. Например, М. Polak и соавторы (2010) создали устройство, которое создает диэлектрический барьерный разряд в длинной (5 м) тонкой (внутренний диаметр 2 мм) гибкой трубке [1.1.11] (Рис. 1.1.3).

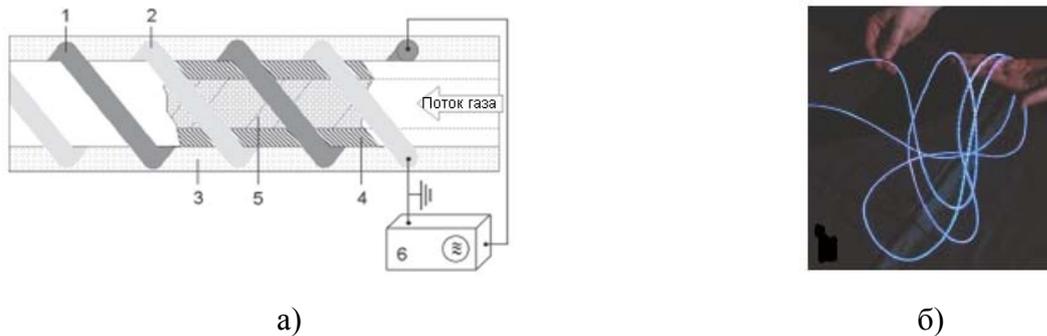


Рис. 1.1.3. а) схема биполярного спирального устройства для генерации диэлектрического барьерного разряда внутри длинной трубы: 1 – ВЧ-электрод, 2 – заземленный электрод, 3 – внешняя трубка, 4 – внутренняя трубка, 5 – газовый разряд, 6 – ВЧ-генератор; б) фотография устройства с плоскими проволочными электродами [1.1.11]

Одним из наиболее часто применяемых в биомедицине устройств, генерирующих плазму, является *плазменная струя атмосферного давления (APPJ)* – холодная плазма емкостного ВЧ-разряда с частотой 13,56 МГц или 27,12 МГц.

Устройство для генерации плазмы [1.1.12, 1.1.13] (Рис. 1.1.4.г) состоит из двух коаксиальных электродов (внешний – заземленный и внутренний, на который подается переменный электрический ток), расстояние между которыми составляет несколько миллиметров. В зависимости от вида плазмообразующего газа и расстояния между электродами прикладываемое напряжение варьируется от 100 В до 1 кВ, что соответствует потребляемой мощности до 50 Вт.

Между электродами с высокой скоростью (~ 43 м/с) протекает плазмообразующий газ [1.1.14]. Свободные электроны ускоряются полем и взаимодействуют с молекулами газа. При неупругом взаимодействии электронов с молекулами газа образуются различные химически активные частицы, которые покидают выходное отверстие с высокой скоростью и реагируют со стерилизуемой поверхностью, находящейся на расстоянии нескольких сантиметров от места вывода струи из устройства. Температура в процессе обработки определяется высокой скоростью потока газа и низким энергопотреблением и

обычно составляет ~ 350 К, однако в некоторых устройствах такого рода она может быть и существенно выше [1.1.12].

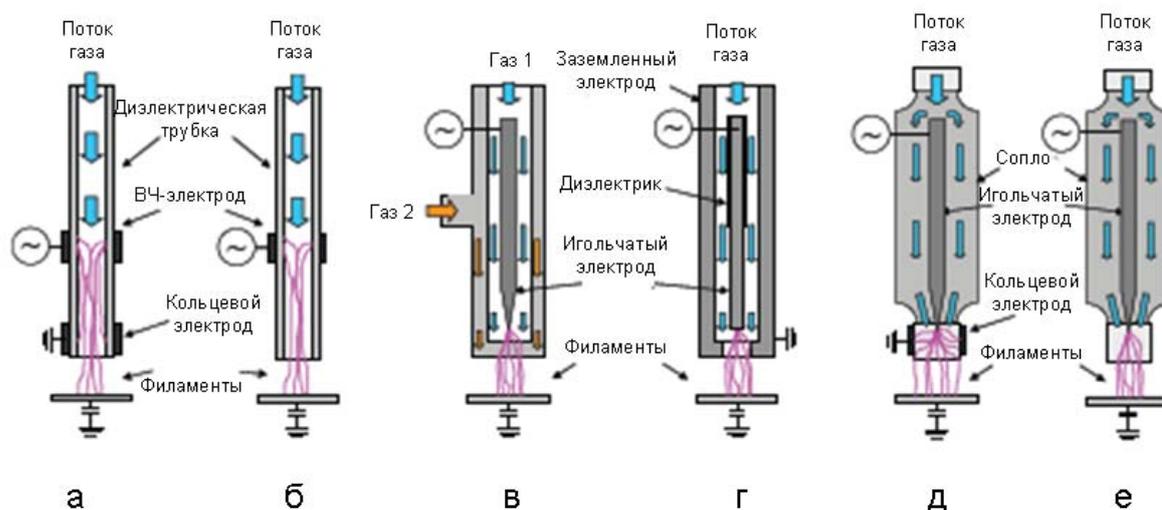


Рис. 1.1.4. Конструкции устройств, генерирующих плазменную струю: а) с кольцевым заземленным электродом; б) без кольцевого заземленного электрода; в) комбинация двух трубок, где по внутренней трубке протекает плазмообразующий инертный газ, а по внешней – газ-прекурсор; г) с двумя коаксиальными электродами и слоем диэлектрика между ними; д) с внутренним ВЧ-управляемым игольчатым электродом и кольцевым заземленным электродом; е) с внутренним ВЧ-управляемым игольчатым электродом и без кольцевого заземленного электрода [1.1.1].

Для стабильной работы плазменной струи и генерации гомогенного разряда при атмосферном давлении необходимо использовать инертный плазмообразующий газ (обычно гелий). Для продуцирования химически активных частиц в инертный газ добавляют небольшие количества (около 3%) других газов, например, кислорода. Для эффективной стерилизации наиболее важно образование метастабильных частиц (например, синглетного кислорода $O_2(^1\Delta_g)$), время существования которых достигает ~ 10 - 100 мс (в то время как ионы и электроны быстро рекомбинируют). Таким образом, метастабильные частицы могут достигать поверхности, находящейся на расстоянии нескольких сантиметров от выходного отверстия [1.1.12].

J.P. Lim и соавторы (2007) разработали устройство для генерации плазменной струи атмосферного давления с коаксиальной конфигурацией электродов. Внутренний электрод имел ступенчатую форму и был частично покрыт слоем диэлектрика в своей верхней части. Длина электродов составляла 12 см, а диаметр варьировался от 1,2 см (без диэлектрического покрытия) до 1,41 см (со слоем диэлектрика). Устройство управлялось ВЧ-генератором с частотой 13,56 МГц и входящей мощностью 130 Вт. В качестве

плазмообразующих газов использовались гелий или аргон с 0,25% примесью кислорода, которые продувались со скоростью 10 стандартных $\text{см}^3 \times \text{мин}^{-1}$ [1.1.15].

Специальная конструкция плазменной струи для антибактериальной обработки раневой поверхности была разработана G. Daeschlein и соавторами (2010) [1.1.16]. В данном устройстве электрод булавочного типа с диаметром 1 мм помещался в кварцевую трубку с внутренним диаметром 1,6 мм. Плазмообразующим газом являлся аргон, который продувался через устройство со скоростью до 8 л/мин. Частота и напряжение используемого ВЧ-генератора составляли 1,5 МГц и 1-5 кВ, соответственно. В зависимости от поданного напряжения и скорости продувки газа плазменная струя имела длину до 12 мм и температуру в центре разряда около 50 °С. В другой работе данное устройство было адаптировано для обеззараживания внешней поверхности медицинских катетеров [1.1.1]: конец кварцевой трубки имел Т-образную форму, что давало возможность окружать катетер плазменным облаком со всех сторон. Разряд генерировали в следующих условия: частота 27,12 МГц, мощность 20 Вт, плазмообразующий газ – аргон с 0,25% примесью воздуха, продуваемый со скоростью 20 стандартных $\text{см}^3 \times \text{мин}^{-1}$.

В Троицком институте инновационных и термоядерных исследований (ГНЦ РФ ТРИНИТИ) разработана установка плазменная струя, позволяющая проводить обработку материалов в холодной (с температурой близкой к комнатной) неравновесной плазме в потоке воздуха. Низкотемпературная плазменная струя генерировалась при пропускании потока воздуха со скоростью 30-70 м/с через зону стационарного тлеющего разряда, который создавали на выходе воздушного потока из газоразрядной камеры в межэлектродных промежутках. На электроды подавалось напряжение 15-35 кВ, а конструкция электродной системы была оптимизирована так, чтобы обеспечить высокую скорость выведения плазмы тлеющего разряда из газоразрядной камеры [1.1.17].

Устройство, получившее название *плазменная игла*, было разработано E. Stoffels и соавторами [1.1.18]. Плазменная игла состоит из заостренного металлического стержня (диаметр 0,3 мм), находящегося в пластиковой трубке. На конец стержня подают напряжение с частотой 13,05 МГц [1.1.19, 1.1.20]. Для предотвращения возникновения разряда по всей длине стержня его помещают в стеклянную оболочку. Через пластиковую трубку проходит поток гелия со скоростью 2 л/мин. В ряде работ в качестве плазмообразующей среды был использован аргон [1.1.1]. Скорость газового потока регулируется контролером (Рис. 1.1.4.е).

На конце иглы плазмообразующий газ смешивается с окружающим воздухом с образованием химически активных частиц. Количество воздуха регулируется с помощью изменения положения пластиковой трубки. Типичный размер плазменного разряда

составляет 2 мм в диаметре, что позволяет оказывать точечные прицельные воздействия на обрабатываемую поверхность. Отличием плазменной иглы от плазменной струи заключается в том, что в плазменной игле противоэлектродом является сама обрабатываемая поверхность, в то время как в плазменной струе заземленный электрод располагается вокруг диэлектрической трубки.

Также как и в других типах плазмы атмосферного давления, плазменная игла продуцирует коротко живущие (время жизни $< 0,5$ мс) химически активные частицы (OH^\bullet , O^\bullet и HO_2^\bullet , O_3 , H_2O_2 , NO , NO_x , N_2^+ , ONOO^- , N_2 и метастабильный He), которые доставляются к обрабатываемой поверхности потоком газа [1.1.21], а также УФ-излучение с длиной волны 300-400 нм [1.1.19]. Плотность радикалов в плазме составляет 10^{19} м^{-3} [1.1.20].

Эффективное бактерицидное действие плазменной иглы было показано во многих работах [1.1.21, 1.1.22, 1.1.23, 1.1.24]. Одним из наиболее перспективных направлений использования плазменной иглы является обработка зубов, пораженных кариесом [1.1.21, 1.1.24].

В отличие от барьерных разрядов *плазма СВЧ-разрядов* является безэлектродной. Генерация такой плазмы базируется на поглощении СВЧ электронами, которые в результате приобретают кинетическую энергию, достаточную для ионизации молекул газа при неупругих столкновениях. Температура электронов в центре сформированного разряда достигает 2×10^4 К, и плотность электронов - $3 \times 10^{21} \text{ м}^{-3}$ [1.1.25].

СВЧ-излучение генерируется магнетроном и направляется в реакционную камеру по волноводам или коаксиальным кабелям. Типичная частота СВЧ-генераторов составляет 2,45 ГГц, а потребляемая мощность находится в диапазоне от нескольких ватт до киловатт. Волновод соединен непосредственно с резонатором или специальной насадкой. Данные устройства были разработаны специально для того, чтобы индуцировать максимальную неоднородность поля в центре резонатора или конце насадки. В зависимости от потребляемой мощности температура нейтрального газа варьируется от комнатной до нескольких тысяч К [1.1.14]. При снижении мощности до 85 Вт и менее газ имеет комнатную температуру (300 К) и такое устройство может быть использовано для обработки биообъектов.

На рис. 1.1.5. представлены устройства для генерации СВЧ-разрядов.

Плазменный факел (рис. 1.1.5а), часто применяющийся для деконтаминации, описан в работах [1.1.26-1.1.28]. Т. Sato et. al. (2005) использовали подобную конструкцию, в которой СВЧ-разряд индуцировали генератором с частотой 2,45 ГГц и мощностью 400 Вт. В качестве плазмообразующего газа применяли аргон, продуваемый с

различными скоростями через кварцевую трубку, которая имела внутренний диаметр 10 мм и длину 150 мм. Варьируя расстояние между выходным отверстием разряда (30-200 мм), возможно было контролировать температуру обрабатываемой поверхности (323-383 К) [1.1.28].

Одно из устройств, генерирующих плазменный факел, состояло из шести электродов из нержавеющей стали, помещенных в металлический цилиндр и обдуваемых аргоном. Устройство управлялось СВЧ-генератором с частотой 2,45 ГГц и мощностью 85 Вт. Полученный плазменный факел охлаждался до температуры 320 К. Показано, что факел являлся мощным источником УФ излучения в В-диапазоне (доза УФ облучения обрабатываемого объекта составила в данном исследовании 80 Вт/см^2), которое, по-видимому, и оказывало основной биологический эффект при обработке бактерий и инфицированных ран [1.1.29]. Данное устройство реализовано в коммерческой установке MicroPlaSter, разработанной в Институте внеземной физики имени Макса Планка (Гархинг, Германия) [1.1.30-1.1.33], которая производится компанией ADTEC Plasma Technology Co. Ltd. (Япония). В России на данной установке эксперименты были проведены в ОИВТ РАН под руководством О.Ф. Петрова [1.1.34-1.1.37].

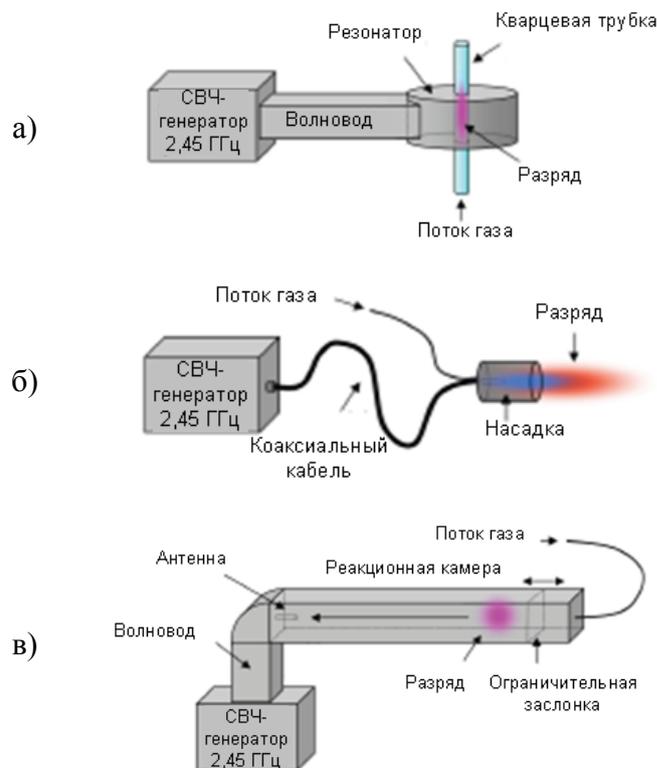


Рис. 1.1.5. Конструкции устройств, генерирующих плазму СВЧ-разряда: а) с различными типами резонаторов (например, кольцевым); б) свободно распространяющийся факел плазмы СВЧ-разряда со специальной насадкой; в) СВЧ-разряд, движущийся по реакционной камере [1.1.1].

В другой конструкции (рис. 1.1.5б) СВЧ-излучение (2,45 ГГц, 700 Вт) передается по коаксиальному кабелю на одну или несколько насадок. Так как в данном устройстве СВЧ-поле недостаточно мощное для генерации разряда, для индукции пика

интенсивности подается дополнительное напряжение. Т. Shimizu et. al. (2008) на основе подобной установки разработали специальную конфигурацию из шести электродов, помещенных в алюминиевый цилиндр [1.1.30]. Таким образом, генерация плазмы происходила между каждым электродом и цилиндром. Чтобы минимизировать токсический эффект NO и других активных форм азота, в устройстве использовали аргон. Управление температурой обрабатываемой поверхности осуществляли варьированием расстояния от объекта до факела. Показано, что при расстоянии, равном 17 мм, температура составляла 300 К, а в непосредственной близости от факела – 500 К [1.1.30].

Аналогичное устройство было адаптировано для стерилизации стеклянных медицинских контейнеров и бутылей. Используемый генератор имел частоту 2,45 ГГц и потребляемую мощность 1,2 кВт, что соответствовало температуре газа 4000 К (при скорости потока воздуха 13 стандартных $\text{см}^3 \times \text{мин}^{-1}$). На расстоянии 25 см от выходного отверстия температура составляла 150 °С [1.1.38].

Плазменный карандаш разработан М. Laroussi и соавторами (2006). В трубку, изготовленную из диэлектрика диаметром 2,5 см и длиной 12 см, на расстоянии 0,5-1 см друг от друга были помещены медные электроды. Генерацию плазмы разряда приводили в следующих условиях: напряжение 5 кВ, импульсный режим с частотой 1-10 кГц, общее энергопотребление при этом составило 15 Вт. В качестве плазмообразующей среды был использован гелий с примесью кислорода, скорость продувки газа варьировалась в диапазоне 1-10 л/мин [1.1.39].

Одним из способов может быть генерация плазмы на некотором расстоянии от стерилизуемой поверхности или живой ткани. При этом воздействие на клетки оказывают долгоживущие активные частицы «послесвечения», которые возникают в плазме разряда и затем достигают обрабатываемой поверхности. Антибактериальное влияние «послесвечения» показано в случае диэлектрического барьерного разряда [1.1.40], радиочастотного плазменного факела [1.1.41], плазменной иглы и в основном связано с воздействием на ключевые клеточные структуры активных форм кислорода и азота таких как O, NO₂, OH [1.1.42].

Далее будут подробно рассмотрены физико-химические механизмы, лежащие в основе биологических эффектов неравновесной низкотемпературной плазмы, генерируемой в перечисленных выше устройствах.

1.1.1. Стерилизация и лечение воспалительных заболеваний

Преимуществами плазменных методов стерилизации являются возможность деконтаминации материалов, чувствительных к нагреву (температура при обработке не превышает 50 °С), отсутствие образования побочных химических соединений, опасных для окружающей среды и здоровья человека [1.1.7, 1.1.42] и укорочение времени обработки [1.1.43]. Чрезвычайно важным является и то, что после плазменной стерилизации поверхность хирургических имплантатов не теряет своих биоактивных свойств и поддерживает быструю пролиферацию и дифференцировку клеток [1.1.44].

Впервые коронный разряд был применен для очистки воды от биологических загрязнений в 1857 г. W. Siemens и соавторами [1.1.45]. Позже эффективность коронного разряда была подтверждена как в случае водных суспензий бактерий [1.1.46], так и при стерилизации твердых поверхностей, контаминированных микроорганизмами и их спорами [1.1.9, 1.1.47]. Установлено, что для полной элиминации в коронном разряде различных грамположительных и грамотрицательных бактерий необходимо от 5 до 15 мин в зависимости от мощности разряда [1.1.46-1.1.48]. При этом эффективность плазменной стерилизации составила 99,9% [1.1.48].

Коронный разряд успешно применяли для разрушения биотоксинов, таких как Т-2 микотоксин [1.1.48] и деградации токсических фосфатных соединений [1.1.49, 1.1.50].

На основе коронного разряда разрабатываются устройства, позволяющие проводить эффективную стерилизацию крупных предметов. Так, разработано «плазменное одеяло» - гибкое устройство, генерирующее мелкие коронные разряды, которое может быть обернуто вокруг стерилизуемого объекта [1.1.51].

Первое успешное применение радиочастотной плазмы низкого давления для стерилизации поверхностей было сделано еще в 60-х годах [1.1.6]. С начала 90-х годов XX века в США широко применяются коммерческие системы стерилизации на основе тлеющего разряда низкого давления, аккредитованные инспекцией пищевой промышленности и лекарственных продуктов (Food and Drug Association) США и использующие в качестве рабочей среды перекись водорода, перекись водорода или комбинацию паров этих соединений [1.1.52, 1.1.53]. Следующим шагом в развитии плазменной стерилизации стало использование нетоксичных рабочих газов, таких как аргон, гелий, азот, кислород, воздух, пары воды и их смеси [1.1.9, 1.1.43, 1.1.54, 1.1.55].

Высокая эффективность плазмы тлеющего разряда с частотой от 2,45 ГГц до 17 кГц для инактивации различных бактерий и грибов показана во многих работах [1.1.54-1.1.61] и зависит как от параметров генерации плазмы (конфигурации реакционного объема, расстояния от источника плазмы до стерилизуемой поверхности, времени

обработки, рода плазмообразующего газа, плотности активных частиц), так и вида микроорганизмов и их количества, характера и pH и температуры культуральной среды, в которой находятся бактерии [1.1.6, 1.1.9, 1.1.54, 1.1.61]. Таким образом, при выборе оптимальных условий обработки в тлеющем разряде возможно достичь практически полной гибели бактерий (вплоть до 99,99%) за короткие промежутки времени [1.1.6].

Наиболее высокая бактерицидная активность плазмы тлеющего разряда достигается при добавлении к инертному плазмообразующему газу кислорода или паров воды [1.1.55], что связано с действием химически активных частиц кислорода: озона, атомарного кислорода, синглетного кислорода, супероксид анион радикала ($O_2^{\bullet-}$), пероксидов и гидрокисельных радикалов [1.1.42, 1.1.62, 1.1.63].

Эффективность и скорость инактивации бактерий зависела также от материала, на котором они находились. Сравнение десятичных факторов редукции при обработке *Escherichia coli* K12 выявило, что наиболее быстро инактивация происходила на полипропиленовой поверхности, затем следовало стекло и агар. Отмечалось увеличение чувствительности микроорганизмов при снижении pH и температуры среды [1.1.64]. Причем грамотрицательные микроорганизмы более подвержены действию плазмы, чем грамположительные, что может быть связано с различной структурой клеточной стенки этих бактерий [1.1.61].

Тлеющий разряд оказывает бактерицидное действие не только на одиночные бактерии, но и на их биопленки, которые формируются на поверхности медицинских инструментов и хирургических имплантатов и являются чрезвычайно устойчивыми к традиционными методам стерилизации. Так, тлеющий разряд разрушал биопленки бактерий *Rhizobium gallicum* и *Chromobacterium violaceum*, формировавшиеся в течение 4-х и 7-ми дней, вызывая гибель 100% микроорганизмов [1.1.65, 1.1.66]. Особенно важно, что тлеющий разряд может применяться, когда обрабатываемая поверхность чувствительна к внешним воздействиям (например, при обработке пищевых продуктов). Важно также, что при плазменной обработке не было отмечено изменения цвета и структуры и образования токсических продуктов [1.1.66].

Тлеющий разряд, образующийся при давлении порядка одной атмосферы в устройстве, разработанном Т.С. Montie и соавторами (2000), генерировал активные частицы кислорода и инактивировал как грамположительные (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Deinococcus radiodurans*), так и грамотрицательные микроорганизмы (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), эндоспоры *Bacillus pumilus* и *Bacillus subtilis*, клетки дрожжей и вирусы [1.1.6, 1.1.67-1.1.69].

Созданный Т.С. Montie и соавторами (2000) реактор используется в коммерческих системах фильтрации воздуха (система «Volfilter») для его стерилизации и деконтаминации [1.1.6, 1.1.70, 1.1.71]. Установка также применялась для стерилизации препаратов крови, пищевых продуктов и разрушения химических токсических агентов [1.1.71, 1.1.72].

Высокая эффективность диэлектрического барьерного разряда показана в случае различных бактерий и их спор, дрожжей, жгутиковых и других микроорганизмов [1.1.9, 1.1.70, 1.1.66, 1.1.73].

Плазменная терапия диэлектрическим барьерным разрядом может быть эффективна при лечении некоторых паразитологических заболеваний кожи, например, лейшманиоза. Следует отметить, что инактивация и гибель лейшеманий наблюдалась при дозах, не влияющих на жизнеспособность и метаболизм макрофагов человека [1.1.74]. Таким образом, плазменная инактивация является специфическим процессом, приводящим к инактивации чужеродных агентов и не затрагивающим живые клетки и ткани организма.

При применении резистивного барьерного разряда значительная инактивация микроорганизмов, находящихся как в суспензии, так на поверхности нитроцеллюлозных мембран, происходила уже через 10 мин обработки [1.1.75, 1.1.76]. Установлено, что инактивация бактерий являлась следствием повреждения активности бактериальных ферментов и подавления реакций метаболизма [1.1.9, 1.1.57, 1.1.76].

М. Thiyaagarajan и соавторы (2005) разработали плазменный реактор, генерирующий резистивный барьерный разряд атмосферного давления для стерилизации загрязненных бактериями предметов. Для генерации плазмы использовался либо переменный ток низкой частоты (60 Гц), либо постоянный ток (30 кВ, 10 мА). На примере обработки почтового конверта авторами была показана возможность эффективной деконтаминации без повреждения обрабатываемого предмета [1.1.77].

Для повышения эффективности воздействия разработаны специальные устройства для генерации плазмы (такие как плазменная струя, плазменный факел, плазменная игла), позволяющие обрабатывать объекты со сложной поверхностью, а также ограничивать зону обработки. Последнее является очень важным для стерилизации и деконтаминации кожи, кариозных полостей зубов и др.

Эффективность плазменной струи атмосферного давления была показана при инактивации различных микроорганизмов, их спор и бактериальных пленок. Например, 100% гибель бактерий монослойной биопленки *Chromobacterium violaceum*, формировавшейся в течение 4-х суток, достигалась десятиминутной обработкой [1.1.78].

Плазменная струя, разработанная в ГНЦ РФ ТРИНИТИ, эффективно инактивировала штаммы бактерий, устойчивых к антибиотикам [1.1.79].

Устройства, подобные плазменной игле, используются для терапии кожных офтальмологических заболеваний воспалительного характера: язвенного кератита, вызванного стафилококком, флегмоны верхнего века, протекавшей с некротическим поражением его тканей и стимулирования репаративных процессов при язвах различного происхождения и повреждении мягких тканей и слизистых оболочек [1.1.80-1.1.82]. Y.C. Hong и соавторами (2006) было создано устройство, генерирующее струю микроплазмы, имеющую длину около 6,5 см и температуру около 300 К, что позволило обрабатывать кожные покровы без риска их термического повреждения. В качестве плазмообразующих газов авторы использовали азот или гелий [1.1.83, 1.1.84].

Плазменный факел был использован для инактивации ряда микроорганизмов [1.1.12, 1.1.85]. Плазменный факел может проникать в водную среду и инактивировать находящиеся в ней бактерии и их споры [1.1.27, 1.1.86]. Описано успешное применение системы микроволновых плазменных факелов для обеззараживания воды [1.1.27, 1.1.87].

Специальная система для генерации микроплазмы была разработана В. Гостевым и соавторами (2006). Данное устройство состоит из коаксиального катода и анода, имеющего форму иглы и зафиксированного в металлическом капилляре, через который подается плазмообразующий газ (воздух или ксенон при давлении 0,2-0,5 атм.). Плазменный разряд возникает на выходном отверстии, если давление на входе выше, чем атмосферное. Образующийся разряд имеет форму сферы с диаметром ≈ 4 мм, что делает его удобным для точечной прицельной обработки пораженных участков ткани [1.1.80-1.1.82].

В клинической практике для предотвращения возникновения внутрибольничных инфекций крайне важной является стерилизация помещений. С этой целью созданы разнообразные устройства, позволяющие осуществлять обработку с помощью плазменных технологий. Н. Nojima и соавторы (2007) разработали установку, образующую плазму атмосферного давления и состоящую из диэлектрической керамической пластинки с внешним и внутренним электродами, используемой в качестве электрода, генерирующего положительно заряженные ионы, электрода, имеющего форму иглы, и электрического контура. Принцип работы устройства состоял в следующем: при подаче на внешний электрод керамической пластины напряжения (3 кВ, 230 Гц) происходило образование H^+ , окруженного молекулами воды. Таким образом, формировались положительно заряженные частицы $H^+(H_2O)_m$. Затем $H^+(H_2O)_m$ рекомбинировали с электронами, эмитируемыми электродом в форме иглы. Положительные ионы $H^+(H_2O)_m$

нейтрализуются, и образуется атомарный водород, окруженный молекулами воды $H(H_2O)_m$. С помощью данного устройства были обработаны помещения, в воздухе которых находились вирусы, бактерии или грибки. В результате экспериментов было показано, что 80% инактивация вируса гриппа А в комнате объемом 130 м^3 происходила за через 30 мин обработки. Установка также применялась для инактивации устойчивого к антибиотикам *Staphylococcus aureus* штамма ATCC 33591, являющегося главной причиной внутрибольничных инфекций. Обработка помещения в течение 60 мин приводила к инактивации 99% микроорганизмов. Также была достигнута значительная степень инактивации (вплоть до 99,6-99,9%) грибков *Aspergillus niger* и *Penicillun cintrium* [1.1.88].

Схемы обработки биообъектов в некоторых разрядах показаны на рис. 1.1.6 [1.1.89, 1.1.90].

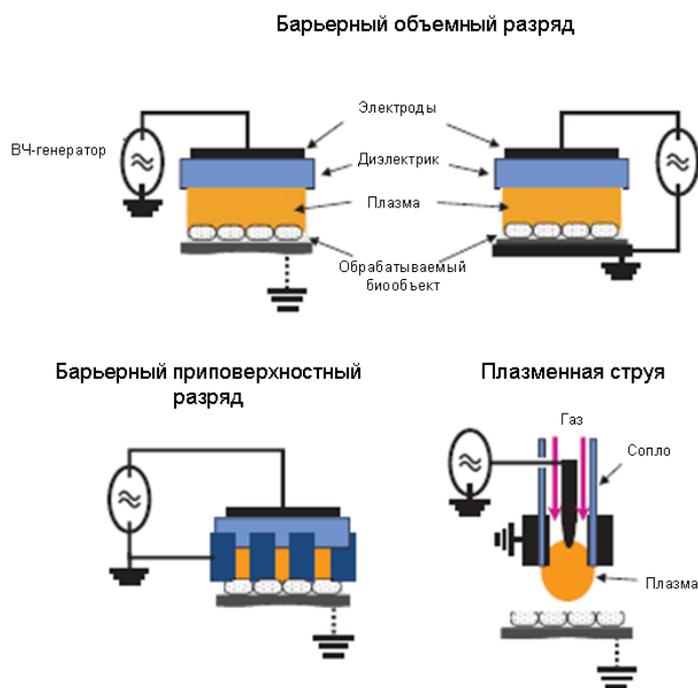


Рис. 1.1.6. Схемы обработки биообъектов в некоторых разрядах [1.1.89, 1.1.90].

1.1.2. Тканевой инжиниринг

Тканевой инжиниринг (регенеративная медицина) - одно из наиболее новых и активно развивающихся междисциплинарных направлений, включающее в себя клеточную биологию, медицину и биотехнологию и направленным на создание технологий, которые позволяют культивировать в условиях *in vitro* клетки и ткани человеческого организма. В рамках тканевого инжиниринга плазменные технологии могут быть использованы не только для создания биосовместимых и биоактивных покрытий, обеспечивающих быструю и эффективную пролиферацию и дифференцировку клеток (см.

раздел 1.1.2.), но и непосредственно для выполнения культуральных работ. Для задач тканевого инжиниринга используют устройства, генерирующие плазму тлеющего разряда. Наиболее часто для этих целей применяют «плазменную иглу» вследствие ее способности оказывать точечное прицельное воздействие (удается ограничить зону обработки до 0,1 мм в диаметре).

В экспериментах с использованием однослойной культуры фибробластов, находящихся в фосфатном буфере, и клеток яичника китайского хомячка СНО-К1 было показано, что плазменная обработка в высоких дозах (мощность более 0,2 Вт и длительность обработки 10 с) вызывала некроз клеток [1.1.91]. Авторами был сделан вывод, что механизмы некроза в результате воздействия плазмы отличаются от механизмов клеточной гибели, действующих, например, при термическом повреждении клеток.

При обработке клеточных культур в более низких дозах (мощность 50 мВт и длительность обработки 1 с) явлений некроза не наблюдалось. Воздействие плазмы приводило к изолированию фибробластов: клетки приобретали сферическую форму, утрачивали способность к установлению контактов друг с другом и подложкой. Однако после плазменной обработки клетки сохраняли свою структуру и жизнеспособность, и могли быть перенесены на другой субстрат без провоцирования воспалительных и иммунных реакций [1.1.92, 1.1.93].

S. Yonson и соавторы (2006) обрабатывали культуру клеток человеческих гепатоцитов HepG2 с помощью плазменного факела, генерирующего тлеющий разряд в гелии при атмосферном давлении. Также как и в предыдущих случаях наблюдалась локальное отделение клеток от поверхности субстрата. При этом гепатоциты сохраняли свою метаболическую активность и способность к адгезии и пролиферации при переносе в другую культуральную ячейку [1.1.94, 1.1.95].

Наиболее вероятно, что отсоединение клеток происходит под влиянием активных частиц кислорода и азота (атомарный кислород, ионы O_2^- , OH, NO, H_2O_2), генерируемых в плазме и окисляющие белки-интегрины, за счет которых клетки взаимодействуют друг с другом и субстратом. Особенностью действия низкотемпературной плазмы на клетки также является ее способность обратимо формировать в клеточной мембране поры, что может быть использовано для прямой доставки лекарственных препаратов к пораженной клетке, а также для генной терапии [1.1.95, 1.1.96].

Одной из областей применения плазменных методов в медицине может стать лечение онкологических заболеваний, поскольку плазменное воздействие способно индуцировать в раковых клетках процессы апоптоза, которые приводят к их гибели

[1.1.97]. Эффективность диэлектрического барьерного разряда была показана при обработке клеток рака печени и клеток меланомы. При этом плазма вызывала апоптоз опухолевых клеток в дозах значительно меньших, чем это необходимо для гибели нормальных клеток организма [1.1.97, 1.1.98]. Таким образом, с помощью плазменного воздействия на опухолевые клетки возможно ограничить их неконтролируемый рост и вызвать их гибель, не затрагивая при этом здоровые ткани.

Плазменные технологии успешно применялись при выполнении хирургических вмешательств в оперативной онкологии. Так, с помощью аргонового плазменного скальпеля была восстановлена проходимость трахеи, пораженной метастазами меланомы [1.1.99].

1.1.3. Применение неравновесной плазмы в хирургии и косметологии

Основными требованиями к техническому оборудованию, применяемому для хирургических операций, являются эффективное рассечение и надежная коагуляция тканей, обеспечение устойчивого гемостаза в совокупности с мощным антибактериальным эффектом, а также простота и легкость практического использования. Всем этим условиям соответствуют различные устройства, генерирующие плазму.

Плазменные хирургические установки, позволяющие осуществлять хирургическое вмешательство путем воздействия на биологическую ткань потоком высокотемпературной дуговой плазмы аргона, генерируемой миниатюрными плазмотронами, используются в медицинской практике с конца 80-х годов [1.1.100-1.1.102]. Существуют промышленно выпускаемые плазмотроны медицинского назначения («Факел-01», СУПР-М, СУПР-2М и др.), получившие название «плазменный скальпель». Сила тока дуги в «Факел-01» составляет 25 А, другие аналогичные устройства оперируют силой тока в диапазоне 4-12 А и напряжением 16-18 В. Известно устройство для плазменно-дуговой резки биотканей, которое позволяет применять силу тока дуги 30 и 60 А в гелиевой плазмообразующей среде [1.1.103].

Плазменно-дуговая установка «Скальпель плазменный СП-ЦПТ» (ЗАО «Плазменные технологии», Смоленск) успешно применяется в клинике факультетской хирургии №2 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова на базе ГКБ №61 г. Москвы [1.1.104]. Диаметр выходного отверстия канала плазматрона составляет 1,5 мм, температура газовой струи по оси потока на срезе сопла плазматрона достигает 15000 °С, в рабочей области – 3000 °С.

Описано успешное применение плазменного скальпеля при полостных хирургических вмешательствах, иссечении гнойно-некротических тканей, урологических

операциях [1.1.105-1.1.107]. Помимо быстрого рассечения мягких тканей плазменный скальпель за счет высокой температуры и карбонизации окружающих тканей позволяет осуществлять гемостаз раны (диатермокоагуляция) и ее стерилизацию.

Однако такие плазменные генераторы позволяют осуществлять только «жесткое» воздействие, разрушающее живые ткани (глубина поражения может достигать 7 мм), что делает невозможным их применение в терапии, стимуляции репаративных процессов в тканях, плазменной рефлексотерапии и т.д. Поэтому активно исследуются возможности применения неравновесной плазмы для проведения различных хирургических вмешательств. Это связано с тем, что холодная плазма оказывает селективное воздействие на ткани организма, не вызывая их термического повреждения. Следует отметить, что повреждение кожных слоев во время плазменной обработки зависит не только от дозы (мощности разряда и времени обработки), но и от формы напряжения, приложенного к разряду.

В 1995 г. компанией ArthroCare (США) был создан первый аппарат для холодно-плазменной хирургии (коблации, от cold ablation – холодное разрушение), который создавал тонкую плазменную струю при температуре обрабатываемого объекта 40-70 °С.

Компанией PEAK Surgical Inc. был создан импульсный электронный скальпель, позволяющий проводить рассечение тканей организма при низких температурах, что достигается использованием тонких электродов с диаметром несколько микронов и микросекундных импульсов. За счет очень короткого времени действия не происходит ожога окружающих тканей и достигается высокая точность и аккуратность надрезов. Тем не менее, данное устройство пригодно только для обработки небольших поверхностей [1.1.108, 1.1.109]. Использование плазменного разряда в импульсном режиме может существенно снизить его повреждающую способность. Применение наносекундных импульсов полностью предотвращает образование микроразрядов, что снижает повреждение живой ткани при прямом контакте с плазмой [1.1.97].

Существует два основных типа устройств для генерации плазмы моно- и биполярные. В монополярных системах для обеспечения возвратного тока к генератору внешний обратный электрод прикрепляется к коже пациента, и электрический ток циркулирует через тело пациента. В биполярных системах имеется встроенный обратный электрод [1.1.110].

Постоянно разрабатываются новые конструкции устройств, генерирующих неравновесную плазму, которые приспособлены специально для артроскопии, отоларингологии, хирургии позвоночника, нейрохирургии, урологии, косметической хирургии [1.1.110]. Наиболее часто применяются устройства с а) несколькими

электродами, б) одним плоским электродом, в) электродом, имеющим форму зонда, г) электродом, имеющим форму петли. Устройства, имеющие несколько электродов, удобны при проведении артроскопических и отоларингологических операций. Для иссечения больших участков мягких тканей используют устройства с плоскими электродами. В хирургии позвоночника, гинекологии и урологии наиболее приемлемыми являются устройства с электродами в форме зонда.

Использование плазмы представляет интерес и для малоинвазивной хирургии и микрохирургии, что особенно важно для лечения заболеваний сосудов, например атеросклероза или стеноза, являющихся одними из основных причин развития инфаркта миокарда и других кардиоваскулярных расстройств. С помощью плазменных методов возможно осуществлять четко локализованное воздействие в месте повреждения сосудистой стенки. Специально для проведения плазменной обработки сосудистого эндотелия D. Vogt и соавторами на основе плазменной иглы был разработан плазменный катетер, позволяющий обрабатывать поврежденную стенку сосуда, не прибегая к обширной хирургической операции [1.1.111].

Обеспечение адекватного гемостаза является одной из самых важных проблем в современной хирургии. Как было отмечено выше, для остановки кровотечения часто используются дуговые аргоновые коагуляторы, генерирующие высокотемпературную плазму. При этом коагуляционный эффект достигается за счет термической денатурации белков крови и окружающих тканей. Низкотемпературная плазма может обеспечить быструю остановку кровотечения за счет стимуляции естественных реакций свертывания крови и без повреждения живых тканей организма.

G. Fridman и соавторами был разработан подход к обработке биологических тканей диэлектрическим барьерным разрядом с использованием так называемого «электрода с плавающим потенциалом» (FE-DBD). Метод основан на том, что биологическая ткань вследствие высокого содержания воды и относительно высокой диэлектрической константы может выступать в качестве электрода. При этом плазменный барьерный разряд генерируется при атмосферном давлении и комнатной температуре между изолированным медным электродом, покрытым кварцевой пластинкой, и образцом обрабатываемой ткани, которая и является «плавающим электродом». В результате ткань подвергается воздействию активных частиц, радикалов и УФ-излучения [1.1.97].

Показано, что при обработке в данной системе крови происходит быстрая ее коагуляция *in vitro*: обработка капли крови в течение 15 с приводила к образованию сгустка уже через 1 мин, в то время как необработанная кровь сворачивалась только через 15 мин [1.1.97, 1.1.112].

Важным аспектом в медицине является стимулирование процессов заживления ран и регенерации тканей, поврежденных во время хирургического вмешательства. Во многих работах показано, что оксид азота (II) (NO) улучшает микроциркуляцию, модулирует работу иммукомпетентных клеток и передачу нервного импульса, индуцирует пролиферацию фибробластов и кератиноцитов, усиливает синтез коллагена и, таким образом, оказывает мощное стимулирующее действие на регенерацию и репарацию клеток и тканей.

Оксид азота может генерироваться в воздушных плазменных разрядах различных типов, таких как микроволновые, коронные, барьерные, дуговые [1.1.113, 1.1.114]. Для стимулирования регенерации кожных покровов и заживления ран в медицинской практике наиболее часто применяются модификации «плазменного скальпеля», которые могут охлаждать образованный NO-содержащий газ до температуры 20-40 °С. Примером устройства, применявшегося для стимуляции регенеративных процессов, служит коммерческий плазматрон «Гемоплаз» [1.1.115-1.1.117].

Food and Drug Association было рекомендовано к практическому использованию устройство Portrait[®], разработанное специально для стимулирования регенерации кожи. Данная система генерирует струю неравновесной плазмы радиочастотного диапазона, в качестве плазмообразующего газа используется азот. Показано, что обработка Portrait[®] вызывала уплотнение и улучшение текстуры кожи [1.1.118].

Способность стимулировать регенерацию живых тканей было показано у низкотемпературной аргоновой плазмы, возбуждаемой СВЧ-генератором на установке MicroPlaSter (ADTEC Plasma Technology Co. Ltd., Япония). При проведении ряда экспериментов был найден режим, отличающийся от стерилизующего, при котором 2-х и 5-минутное облучение регенерирующих планарий низкотемпературной аргоновой плазмой приводит к стимуляции роста головной бластемы [1.1.36, 1.1.37].

Концентрация оксида азота, образующегося в различных плазменных разрядах, может варьировать в широких пределах. Например, в диэлектрическом барьерном разряде генерируется лишь несколько процентов NO, а остальную часть составляют продукты с молекулярной формулой NO_x (NO₂, N₂O₅ и т.д.). Максимальное количество оксида азота синтезируется в дуговых разрядах. Описаны различные конфигурации устройств, генерирующих импульсные дуговые разряды, которые позволяют нейтрализовать токсические продукты и получать NO, практически не содержащий примесей [1.1.119, 1.1.120].

1.1.4 Факторы плазменного воздействия, влияющие на бактериальные и эукариотические клетки

Установлено, что при плазменной обработке происходит комбинированное воздействие на клетки и ткани УФ-излучения, ионов и химически активных частиц [1.1.120-1.1.121]. В зависимости от вида плазмы значимость каждого из перечисленных механизмов для эффективности стерилизации может изменяться [1.3.1]. Тем не менее, все эти механизмы взаимодействуют между собой и оказывают синергичный эффект [1.1.8, 1.1.43, 1.1.54, 1.1.122].

Подход, основанный на концепции синергетического эффекта различных факторов, был реализован в установке «каскадного барьерного разряда», где сочетается влияние УФ-излучения и прямого воздействия плазмы. В устройстве реакционная камера состоит из двух отдельных частей, одна из которых заполнена эксимерным газом, являющимся УФ-источником, а во второй генерируется классический диэлектрический барьерный разряд и формируются химически активные радикалы и метастабильные частицы. Показано, что в таком устройстве гибель практически всех микроорганизмов происходит в течение нескольких секунд [1.1.123].

1.1.4.1. Химически-активные частицы плазмы. Активные формы кислорода и азота

К активным частицам неравновесной плазмы, инициирующим гетерогенные химические реакции на обрабатываемой поверхности, относятся частицы, обладающие избыточной внутренней энергией: положительные ионы, свободные атомы и радикалы, атомы и молекулы в возбужденных состояниях. Важную роль в механизмах химических реакций могут играть колебательные возбуждения основного состояния молекул. Роль возбужденных частиц в протекании физико-химических процессов в плазме может быть продемонстрирована на примере процессов, стимулированных колебательным возбуждением. В неравновесной плазме ряда молекулярных газов (N_2 , CO, CO_2 и др.) до 95% энерговклада в плазму может быть сосредоточено в колебательных степенях свободы молекул в основном электронном состоянии [1.1.0].

В общем виде физико-химические процессы перераспределения энергии в низкотемпературной плазме газового разряда можно представить следующей схемой (Рис. 1.1.7):



Рис. 1.1.7. Схема перераспределения энергии в неравновесной плазме газового разряда [1.1.124].

Агентами, воздействующими на биологические мишени, являются как заряженные частицы и электрические поля, созданные ими, так и радикалы и другие нейтральные частицы.

Ионы и химически активные частицы взаимодействуют с наружными слоями оболочки спор и бактерий, вызывая ее эрозию и нарушение целостности. При этом химически активные частицы и ионы плазмообразующего газа адсорбируются на поверхности бактерий и вступают в химические реакции с молекулами клеточной оболочки, образуя токсические соединения и вторичные радикалы. Подобные повреждения приводят к выделению индивидуальных микроорганизмов из матрикса (грязь, биопленки, скопления бактерий) на поверхности стерилизуемого объекта. Удаляя верхние слои, плазменно-индуцированная эрозия уменьшает экранирование от УФ-излучения.

При быстром накоплении созданного ионами электрического заряда на клеточной мембране индуцируется пробой, приводящий к нарушению целостности липидного слоя и гибели клетки. При комбинированном воздействии ионов аргона и атомов водорода в оболочке бактериальных спор образовывались поры, что сопровождалось полной инактивацией бактерий [1.1.79]. Вероятно, что образование эрозии и пор происходило

вследствие разрыва связей в споровой оболочке под действием ионов Ag^+ и последующей их пассивацией атомами водорода [1.1.43]. При медленном накоплении электрического заряда электрофизический эффект определяется изменением сорта отрицательных ионов вблизи внешней стенки клеточной мембраны, способствуя увеличению ее проницаемости [1.1.79].

Наиболее значимый биологический эффект на бактериальные клетки и живые ткани при действии на них плазмы оказывают активные формы кислорода (озон, атомарный кислород, супероксид оксид анион радикал, пероксиды, гидроксильные радикалы) и азота (например, радикал NO). В плазме атмосферного давления происходит генерация главным образом реактивных нейтральных частиц (атомарного кислорода, синглетного кислорода, озона), в плазме низкого давления образуются преимущественно ионы. Плотность активных кислородных частиц в плазменных разрядах представлена в таблице 1.1.1.

Таблица 1.1.1. Плотности ионов кислорода, атомарного кислорода, озона и заряженных частиц в разрядах [1.1.6, 1.1.12, 1.1.51, 1.3.84]

Источник	Плотность, см^{-3}			
	$\text{O}^+; \text{O}_2^{\bullet-}; \text{O}^{\bullet-}$	O	O_3	Заряженные частицы плазмы
Плазма низкого давления	10^{10}	10^{14}	$<10^{10}$	10^8-10^{13}
Дуговой разряд	10^{15}	10^{18}	$<10^{10}$	$10^{16}-10^{19}$
Коронный разряд	10^{10}	10^{12}	10^{18}	10^9-10^{13}
Диэлектрический барьерный разряд	10^{10}	10^{12}	10^{18}	$10^{12}-10^{15}$
Плазменная струя	10^{12}	10^{16}	10^{16}	$10^{11}-10^{12}$

Во многих работах показана ведущая роль данных частиц в инактивации бактерий [1.1.6, 1.1.12, 1.1.51, 1.1.125, 1.1.126]. Активные формы кислорода и азота проникают в бактериальную клетку, инициируя в ней оксидативный стресс и образование вторичных радикалов, повреждают клеточную цитоплазматическую мембрану, липиды, полисахариды, белки и молекулы ДНК. При этом реакции взаимодействия активных форм кислорода и азота практически со всеми типами молекул имеют высокую константу скорости. Так, константа скорости реакции взаимодействия гидроксильного радикала с важным мембранным фосфолипидом – лецитином - составляет $5,0 \times 10^8 \text{ с}^{-1}$ [1.1.5].

Бактерицидный эффект озона связан с его способностью взаимодействовать с диенами, аминами, тиолами, а также инициировать образование димеров тирозина, окисляя его –ОН группы [1.1.5]. Супероксид анион радикал является короткоживущей

частицей и образуется путем комбинации электрона с молекулой кислорода. Бактерицидный эффект супероксида связан с нестабильностью частицы, что приводит к отрыву электронов от окружающих молекул и образованию из них радикалов.

При обработке культур эукариотических клеток активные частицы кислорода и азота обратимо нарушают клеточный метаболизм и обратимо окисляют белки-интегрины, за счет которых клетки взаимодействуют друг с другом и субстратом, что выражается в утрате способности клеток к адгезии и дезинтеграции клеточного слоя [1.1.95, 1.1.96, 1.1.125].

1.1.4.2. Электроны плазмы

Взаимодействие электронов плазмы с клеточной оболочкой нарушают ее структуру. Накопление заряженных частиц на внешней бактериальной мембране, может превышать ее предел прочности и таким образом вызывать ее повреждение. Данный механизм наиболее вероятен при плазменной обработке грамотрицательных бактерий, мембрана которых имеет меньшую толщину, чем у грамположительных микроорганизмов, и неупорядоченное строение [1.1.58, 1.1.127].

1.1.4.3. УФ-излучение

По мнению многих авторов, именно УФ-излучение является доминирующим механизмом бактерицидного действия плазмы низкого давления [1.1.54, 1.1.63]. УФ-излучение с длинами волн менее 300 нм (220-280 нм) проникает глубоко в клетку и вызывает разрывы в молекулах ДНК, приводящие к гибели микроорганизмов и ингибированию их размножения [1.1.120]. Кроме разрывов УФ-излучение способствует образованию в молекулах ДНК тиминовых димеров, что лишает бактериальную клетку возможности реплицировать генетический материал [1.1.29]. УФ-излучение способно разрывать химические связи и в молекулах других клеточных структур, вызывая их эрозию, а также стимулируя образование токсичных соединений (например, CO и CH_x) в бактериальных клетках [1.1.120].

1.1.4.4. Электромагнитное поле

Электромагнитное поле радиочастотного диапазона может влиять на биоорганические молекулы и живые клетки и тканями посредством целого ряда факторов: как термических, так и нетермических. Так как живые клетки и ткани являются проводящей средой, содержащей значительные количества воды, то поглощение ВЧ- и

СВЧ-излучения приводит к возбуждению вращений этих молекул, локальному выделению энергии и нагреву образца [1.1.128].

К нетермическим механизмам относят:

- индуцирование электрического поля поперек клеточной мембраны;
- изменение пространственной конформации и денатурация белковых молекул;
- изменение сродства клеточных рецепторов к лигандам;
- генерацию свободных радикалов.

1.1.5. Коммерческие устройства для плазменной медицины

В настоящее время созданы коммерческие устройства, позволяющие легко реализовать плазменные технологии на практике [1.1.89, 1.1.1, 1.1.74, 1.1.101]. Уровень коммерциализации достаточно высок, что позволяет эксплуатировать данные приборы медицинским персоналом при стерилизации оборудования, в процессе хирургических вмешательств и в терапевтических курсах. Примерами таких установок служат:

- серия установок для стерилизации HMTS-80, HMTS-80E и др. (Humanmeditek, Республика Корея) – тлеющий разряд в парах пероксида водорода;
- диэлектрический барьерный разряд атмосферного давления TipCharger® (IonField Systems Inc., США), используемая для стерилизации наконечников автоматических дозаторов;
- MicroPlaSter (ADTEC Plasma Technology Co. Ltd., Япония), генерирующий плазму СВЧ-разряда атмосферного давления, который проходит клинические испытания в качестве для лечения инфицированных и хронических ран;
- Portrait® PSR (Rhytec, Inc., США), генерирующий струю плазмы азота в импульсном режиме при атмосферном давлении;
- PEAK® Surgery Systems (Medtronic, США) – серия аппаратов, генерирующих плазму ВЧ-разряда в виде плазменной струи с температурой 40-170 °С, для ортопедической, спинальной, реконструктивной пластической, ЛОР и общей хирургии;
- Монополярная установка для аргонплазменной коагуляции (APC) (Erbe Elektromedizin, GmbH., Германия) – разряд в аргоне при атмосферном давлении;
- Биполярная коагулирующая система Coblation® (ArthroCare Corp., США), в которой система электродов при работе погружается непосредственно в электролит (физиологический раствор или среду организма);

- Plazon[®] (Onkoseit, Ltd., Словакия) – аппарат для динамической терапии ран активными формами азота, использующий пропускание воздуха через дугу постоянного тока. Таким образом, генерируется плазма с высокой концентрацией активных форм азота;
- Плазменно-дуговая установка «Скальпель плазменный СП-ЦПТ», а также установка СУПР-М и ее модификации (ЗАО «Плазменные технологии», Смоленск);
- хирургические плазмотроны, основанные на генерации плазмы путем пропускания аргона через дугу постоянного тока между вольфрамовыми электродами;
- Аппараты «Факел-01» и «Плазон» (ФГУП ОКБ «Факел», Россия) - плазменный хирургический скальпели, использующие электрические дуги постоянного тока. В аппарате «Плазон» генерируется воздушная плазма, обогащенная NO.

Ряд устройств находятся на стадии технологических и доклинических испытаний на получение сертификата безопасности для применения в клинике. Например:

- Устройство, генерирующее диэлектрический барьерный CINOGY GmbH, Германия (лечение дерматологических заболеваний);
- Аппарат, генерирующий плазменную струю атмосферного давления kIN-Pen (INP Greifswald, GmbH Greifswald, Германия).

1.2. Плазменные технологии получения медицинских материалов, обладающих высокой биосовместимостью

В последние годы полимерные материалы находят всё большее применение в различных областях современной медицины. Очевидным требованием ко всем биоматериалам является сочетание их целевых физико-химических и физико-механических характеристик с биосовместимостью.

Под биосовместимостью понимают отсутствие токсичности, высокую стабильность иммунологическую инертность материала. Именно эти требованиями являются общими для всех медицинских полимеров. Биосовместимость может включать в себя самые различные, иногда противоречащие друг другу требования, в зависимости от конкретного применения полимера. Так, в случае искусственных сосудов, дренажей, искусственных хрусталиков глаза, биосенсоров или катетеров необходимо минимизировать взаимодействие полимера с биологической средой для надежного функционирования соответствующего изделия после имплантации. Наоборот, в случае большинства ортопедических применений, для успешного функционирования требуется

активное взаимодействие и срастание имплантата с тканью. Также очень важны простота изготовления и приемлемая стоимость изделия.

Создание новых биоматериалов, обладающих высокой биосовместимостью, для изготовления искусственных имплантатов является длительным процессом, требующим тщательных клинических испытаний и существенных экономических затрат. Большинство биоматериалов, применяющихся в медицинской практике в настоящее время, имеют множество недостатков (склонность к коррозии, тромбогенность, провоцирование аллергических и иммунных реакций), которые могут быть устранены путем модификации их поверхности.

Наиболее распространенными методами модификации поверхности биоматериалов и создания биосовместимых покрытий являются [1.2.1]:

- 1) иммерсионная ионная имплантация под действием плазмы низкого давления (РПН)
- 2) напыление покрытий под действием плазмы атмосферного давления
- 3) плазменная модификация медицинских полимеров и внедрение в их структуру различных биоактивных соединений.

В настоящее время плазменные методы повышения биосовместимости наиболее часто используются для создания ортопедических имплантатов и тромборезистентных сосудистых стентов.

Использование плазменных технологий представляет собой эффективный альтернативный подход к модификации и повышению биосовместимости биоматериалов. По сравнению с классическими методами плазменная модификация не требует длительного времени и является достаточно дешевой технологией. Показано, что модификация в плазме атмосферного и низкого давления может значительно улучшать свойства их поверхностей, не влияя при этом на прочность и биологическую инертность. Кроме того, с помощью плазменных технологий возможно создание новых биоматериалов, обладающих уникальными свойствами.

1.2.1. Напыление покрытий под действием плазмы атмосферного давления

Плазменное напыление обычно используется для создания керамических и оксидных покрытий [1.2.1]. Эти материалы находят широкое применение в аэрокосмических, нефтехимических, медицинских технологиях, а также в электронике. В настоящее время доступны коммерческие устройства, генерирующие плазму дугового разряда, в которых используется как прямой ток, так и переменный электрический ток радиочастотного диапазона. В данных устройствах электрическая дуга используется для расплавления и напыления материала на поверхность.

Благодаря высокой энергии образующейся плазменной струи плазменное напыление покрытий стало наиболее распространенным способом термического напыления [1.2.2]. Практически все материалы могут быть расплавлены в плазменной струе, что делает данную технологию универсальной. Преимуществами плазменного напыления также являются высокая скорость нанесения материала на поверхность (80 г/мин), возможность нанесения покрытий различной толщины (от сотен микрометров до нескольких миллиметров) и низкая стоимость. Кроме того, плазменно-нанесенные покрытия обладают неровной поверхностью, которая облегчает адгезию и рост клеток кости (остеобластов и остеокластов), что очень важно при ортопедических операциях [1.2.1, 1.2.2].

Титан и его сплавы широко применяются в медицине в качестве металлических биоматериалов вследствие их высокой биосовместимости с тканями организма, клетками кости и кровью. Причиной хорошей биосовместимости титановых имплантатов является тонкий слой оксида титана (IV) (TiO_2) на их поверхности, который создает барьер между материалом и внутренней средой организма. Тем не менее, образующийся в естественных условиях слой TiO_2 является слишком тонким, и использование титановых имплантатов затрудняется из-за низкой прочности TiO_2 поверхности и интенсивного высвобождения ионов металла в окружающие ткани [1.2.3-1.2.7].

Нанесение оксидного покрытия на поверхность титановых материалов для изготовления биомедицинских имплантатов препятствует проникновению ионов титана из имплантата в окружающие ткани организма, что снижает риск возникновения аллергических реакций и токсических осложнений [1.2.7]. Эффективная пролиферация остеобластов наблюдалась на подложках, изготовленных из титановых сплавов, на которые посредством плазменного напыления было нанесено TiO_2 покрытие. Также была отмечена высокая скорость метаболизма в клетках костной ткани [1.2.8].

Покрытия, состоящие из наноразмерных частиц, могут обладать новыми полезными биологическими свойствами и более эффективно взаимодействовать с клетками и тканями организма. Показано, что пролиферация остеобластов происходит существенно быстрее на алюминиевых, титановых и гидроксипатитных нанопокровениях, чем на керамических материалах, обычно используемых в медицине [1.2.1, 1.2.9].

Улучшить биосовместимость и механические свойства титановых имплантатов можно и с помощью создания на их поверхности покрытий из композитов CaO-SiO_2 и $\text{Ca-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ посредством плазменного напыления [1.2.10]. Также показано, что высокой биосовместимостью и способностью к эффективному формированию слоя апатита

обладают наноструктурные покрытия из оксида циркония, созданные с помощью плазменного напыления [1.2.1, 1.2.9].

Не менее важной проблемой, возникающей в сердечнососудистой хирургии при установке различных искусственных имплантатов (сосудистых стентов, протезов сердечных клапанов и т.д.), является повышенное тромбообразование, которое активно протекает на их поверхности. Установлено, что после напыления на силиконовые подложки покрытия из оксида титана тромбоцитарная адгезия к полученной поверхности значительно понижается [1.2.11].

Высокой тромборезистентностью и устойчивостью к коррозии обладают и тонкие плотные пленки из оксида алюминия (Al_2O_3), которые могут быть созданы с помощью напыления в плазме атмосферного давления или высокоскоростного кислородного потока [1.2.12]. С помощью микродуговых плазменных разрядов, поддерживаемых при высоком напряжении в водной среде, на поверхности магниевых материалов могут быть получены стабильные пленки оксида магния [1.2.13].

1.2.2. Иммерсионная ионная имплантация

Никель-титановые имплантаты являются весьма перспективными и удобными материалами для ортопедии и ортодонтии вследствие их высокой пластичности и способности сохранять приданную им форму. Тем не менее, использование никель-титановых материалов существенно затрудняется высвобождением с их поверхности ионов Ni, что может привести к серьезным токсическим поражениям организма и аллергическим реакциям.

Иммерсионную ионную имплантацию применяют и для повышения биоактивности титановых сплавов, внедряя в их структуру ионы водорода и кислорода, атомы кальция, натрия, фосфора [1.2.14-1.4.16]. Внедрение в структуру титановых сплавов биогенных элементов сглаживает поверхность материалов, существенно улучшает их коррозионную устойчивость и биосовместимость, что приводит к эффективному формированию костной ткани [1.2.17].

Модификация поверхности сердечнососудистых имплантатов посредством плазменного напыления является одним из способов снижения их тромбогенности и повышения биосовместимости с кровью человека.

В ряде работ *in vitro* и *in vivo* показано, что тонкие пленки оксидов титана и полиацетиленовые покрытия, созданные на поверхности полиуретановых, силиконовых материалов и искусственных сердечных клапанов с помощью РИИ, существенно улучшали

смачиваемость материалов, повышали их совместимость с кровью, уменьшали адгезию и активацию тромбоцитов [1.2.18-1.2.20].

Одним из способов повышения тромборезистентности сердечно-сосудистых имплантатов является их покрытие эндотелиальными клетками, так как они обладают способностью препятствовать тромбообразованию. Показано, что предварительное нанесение Ti-O пленок способно улучшить адгезию эндотелиоцитов к имплантату и создать условия для их эффективного роста и пролиферации [1.2.21].

С помощью иммерсионной ионной имплантации были созданы кремниевые оксинитридные пленки, обладающие одновременно свойствами нитрида и оксида кремния. Эти материалы широко применяются в микро- и оптоэлектронике, т.к. они являются обладают антикоррозионными свойствами, а также могут использоваться в качестве тонких диэлектрических мембран, изолирующих барьеров и т.д [1.2.22]. В последнее время кремниво-оксинитридные пленки рассматриваются как потенциально интересные материалы для создания на их основе биосенсоров, био-микроэлектро-механических систем, биоматериалов для стоматологии [1.2.22-1.2.25]. Показана также высокая биосовместимость кремниво-оксинитридных пленок с кровью, что проявляется низкой адгезией к ним тромбоцитов и фибриногена [1.2.22].

Углеродные аморфные и углеродные алмазоподобные пленки имеют высокую биосовместимость и могут быть использованы для покрытия медицинских инструментов, контактирующих с кровью. Во многих исследованиях продемонстрирована возможность создания атромбогенных углеродных пленок на различных подложках с помощью иммерсионной ионной имплантации в ацетилене или газовых смесях Ar/C₂H₂ и N₂/C₂H₂ [1.2.26-1.2.29].

Углеродные покрытия могут быть полезны и в других областях медицины. Создание тонкого углеродного покрытия на поверхности мочевых катетеров существенно повышает их биосовместимость. После нанесения углеродного покрытия отмечалась крайне низкая инкрустация катетера мочевыми солями, что снижало риск инфицирования и необходимость повторной операции [1.2.30, 1.2.31].

С помощью иммерсионной ионной имплантации созданы нанокompозитные полимерные пленки с внедренными в их структуру ионами серебра, обладающие антибактериальной активностью [1.2.32].

Исследовались антисептические свойства плазменно-обработанного полиэтилена. Обработку полимера проводили следующим образом: вначале полиэтилен подвергали воздействию плазмы кислорода. Далее поверхность полиэтилена покрывали антимикробными агентом (триклозаном или бронополом) и проводили РПП, используя в

качестве плазмообразующего газа аргон. Показано, что полимеры с бромом и триклозаном, ковалентно связанными с поверхностью путем РПП, обладали выраженными антимикробными свойствами в случае как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. При этом не происходило диффузии антисептика в окружающие ткани [1.2.33, 1.2.34].

Плазменные технологии дают возможность получения композитов полимер-антибактериальный агент, обладающих способностью постепенно высвобождать лекарственный препарат и обеспечивающих таким образом его постоянную терапевтическую концентрацию в зоне повреждения в течение длительного времени [1.2.1, 1.2.35].

1.2.3. Плазменная литография

Для успешного культивирования клеток и создания тканей человеческого организма в условиях *in vitro* необходимо также четко представлять механизмы, посредством которых клетки взаимодействуют между собой. Особенно важным является строгая ориентация является при культивировании нейронов, образующих в организме человека сложную функциональную сеть. Одним из способов исследования межнейрональных взаимодействий является создание на подложке участков, селективно связывающих нейроны, с помощью плазменных технологий (иммерсионной ионной имплантации и плазменного напыления). Данная методика получила названия плазменной литографии. Показано, что данным методом возможно создавать поверхности, как обладающие участками для селективной адгезии нейронов, так и способностью поддерживать их пролиферацию, дифференцировку и образование межклеточных контактов [1.2.36].

1.3. Физико-химические процессы, протекающие при модификации полимерных материалов в неравновесной плазме

Повышение биосовместимости полимерных материалов возможно либо с помощью создания на их поверхности различных покрытий, либо путем плазмохимической модификации самих полимеров.

Как правило, полимерные материалы характеризуются низкими значениями поверхностной энергии, плохо смачиваются растворителями, плохо склеиваются, имеют низкую адгезию к напыленным слоям металлов и т.п. Одним из наиболее перспективных и современных методов модификации поверхности полимеров является воздействие низкотемпературной плазмы, которое позволяет изменить свойства поверхностей этих

материалов в широких пределах и значительно расширить области их использования. С помощью плазмохимических методов возможно получать тонкие покрытия толщиной от 100 Å до нескольких микрон [1.3.1, 1.3.2].

Наиболее широко используется обработка полимерных биоматериалов в плазме диэлектрического барьерного разряда. Воздействие плазмы на поверхность полимера позволяет изменять, в основном, его контактные свойства (смачивание, адгезию к тонким слоям металла, наносимого как с помощью вакуумного распыления, так и другими методами, способность к склеиванию, адгезию используемых при печати красителей и т.п.), не влияя при этом на структуру и свойства его внутренних слоев.

Активными в процессе модификации компонентами плазмы могут быть электроны, ионы, возбужденные атомы и молекулы, а также вакуумное ультрафиолетовое (ВУФ) излучение, глубина проникновения которого определяется особенностями его поглощения в зависимости от структуры модифицируемого полимера [1.3.3].

При модификации в плазме возможно протекание ряда физико-химических процессов, природа которых в значительной степени зависит как от состава газовой фазы разряда, так и от структуры и состава обрабатываемого полимера, а именно:

- травление поверхности;
- окисление поверхностного слоя;
- сшивка и деструкция полимеров;
- прививка функциональных групп и слоев на поверхность полимера.

Типичным примером низкотемпературной плазмы, используемой для травления полимеров, является разряд во фторсодержащих газах, например, CF_4 или в смеси $\text{O}_2 + \text{CF}_4$. Активными частицами, вызывающими травление полимера, являются атомы F, радикалы CF_3 [1.3.4]. Эффект травления и сглаживания поверхности наблюдается также при больших дозах облучения в процессе ВУФ-иницированной фотодеструкции полиэтилена и полидиметилсилоксана [1.3.5, 1.3.6].

Окисление поверхностного слоя полимеров в плазме воздуха и кислорода наблюдается для очень широкого круга полимерных материалов; оно приводит к гидрофилизации за счет образования полярных кислородсодержащих групп, существенно изменяющих энергетические свойства поверхности. Возникновение полярных групп под действием плазмы возможно и за счет разрыва связей в специфической структуре полимера, а также путем включения в его состав характерных групп или атомов из газовой фазы плазмы (например, вхождение атомов N и F в структуру полимера).

Окисление может происходить также в результате обработки полимера в плазме инертных газов и последующего контакта с кислородом воздуха. В этом случае

кислородсодержащие группы являются результатом вторичных реакций свободных радикалов, образующихся при действии плазмы, с кислородом воздуха [1.3.4].

Разряд в атмосфере инертных газов и воздуха может приводить к сшиванию поверхностного слоя для ряда полимерных материалов (полиэтилен высокой плотности, поливинилхлорид, полидиметилсилоксан), изменяя его диффузионные характеристики. Выход сшивок и предельная концентрация их в поверхностном слое зависят как от условий обработки так и, в большей степени, от структуры полимера [1.3.7]. Сшивание приводит к созданию барьерного слоя, снижающего диффузию токсичных низкомолекулярных продуктов на поверхность изделия, оно также повышает микротвёрдость и поверхностную износостойкость полимера [1.3.5] меняет мобильность полимерных цепей, что оказывает влияние на процессы адгезии и роста клеток на поверхности [1.3.8-1.3.13].

Прививка очень тонких слоев полимеров различной химической природы позволяет полностью изменить поверхностные характеристики материала-подложки [1.3.14-1.3.19] и получить композиты с новыми свойствами. Так, на поверхность полипропиленовых волокон была привита акриловая кислота. Полученный материал обладал повышенной смачиваемостью и быстрым испарением воды с поверхности [1.3.20].

Наиболее часто для обработки полимерных материалов применяется плазма аммиака, кислорода, воздуха и водяного пара, что приводит к формированию на поверхности полимера функциональных групп, таких как $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $\text{C}=\text{O}$, $-\text{OH}$, простых и сложных эфирных, лактонных и др. [1.3.3, 1.3.9, 1.3.21-1.3.23]. Воздействие разряда в атмосфере инертных газов приводит к образованию активных свободных радикалов, которые на воздухе превращаются в гидроперекисные и перекисные, а затем – в стабильные кислородсодержащие полярные группы [1.3.3].

Положительно заряженные аминогруппы, образующиеся в результате плазмохимической модификации на поверхности материала, повышают адгезию к полимерной поверхности отрицательно заряженных клеток, а на различных активных функциональных группах могут быть иммобилизованы белки и пептиды, специфически связывающиеся с клеточными рецепторами [1.3.24 – 1.3.26]. Так, в ряде исследований была выполнена обработка в плазме кислорода, гелия, углекислого газа или аммиака полимеров (политетрафторэтилен, полистерена, полиэтилентерефталата, полиуретана) и адсорбция различных белков, таких как альбумин, ламинин, коллаген I типа, витронектин, фибронектин, фибриноген и тромбомодулин [1.3.9-1.3.11, 1.3.27, 1.3.28]. Подобная модификация усиливала адгезию эндотелиоцитов к полученным материалам, а в случае

тромбомодулина придавала противотромботические свойства. Последующая иммобилизация на коллагене и ламинине биоактивных молекул простагландина E_1 , гепарина и фосфатидилхолина также повышала совместимость полученных композитных материалов с кровью.

Плазмохимическая модификация полимерных материалов с последующим внедрением в их структуру оксалатоксидазы (фермента, деградирующего соли щавелевой кислоты) предотвращала формирование отложений оксалата кальция на стенках мочевых катетеров, изготовленных из таких композитов [1.3.29].

Показано, что обработка поли-(ϵ -капролактона) диэлектрическим барьерным разрядом в плазме кислорода приводит к повышению гидрофильности этого материала и улучшает адгезию, пролиферацию и миграцию остеобластов. Адгезивная способность поли-(ϵ -капролактона) зависела от времени плазменной обработки и возрастала с увеличением времени модификации [1.3.12, 1.3.13].

Предварительная обработка пленок поли(D,L-лактида) в плазме аммиака с последующим внедрением в структуру полимера коллагена позволила получить материал с высокими адгезивными свойствами для клеток соединительной ткани. Усиление адгезии и роста клеток отмечалось также и на обработанном сополимере молочной и гликолевой кислот [1.3.30]. Плазменная модификация в диэлектрическом барьерном разряде полиэфирэфиркетона, являющегося инертным материалом, придавала ему новые биологические свойства. Поверхность модифицированного полиэфирэфиркетона подвергалась интенсивной минерализации и адгезии остеокластов и фибробластов. При этом клетки подвергались активной дифференцировке, что сопровождалось повышением активности алкалинфосфатазы [1.3.31].

До недавнего времени воздействие плазмы на полимеры рассматривали как процесс, связанный с изменением только их поверхностных свойств. Однако известно, что ВУФ-излучение плазмы может проникать вглубь полимера, причем глубина его проникновения и поглощение в значительной степени зависят от структуры и свойств материала [1.3.6, 1.3.32].

Методом прививочной полимеризации моноакрилата поли(этилен оксида), инициированной ВУФ-излучением, модифицировали физико-химические свойства поверхности полиэтиленов низкой и высокой плотности. При этом на ВУФ-облученной поверхности полимера наблюдалось образование карбонильных групп $-C=O$ и транс-виниленовых двойных связей и функциональных групп $-C-O-C-$ и $-C-N$, входящих в состав молекул поли(этилен оксида). ВУФ-инициированная прививочная полимеризация моноакрилата поли(этилен оксида) на поверхности полиэтиленов приводила к

уменьшению угла смачивания поверхности, снижению количества адсорбированного альбумина [1.3.33] и ингибированию процессов адгезии и активации тромбоцитов на поверхности [1.3.34].

Обработка в диэлектрическом барьерном разряде полистереновых чашек Петри увеличивала гидрофильность поверхности и усиливала пролиферацию на ней культуры эндотелиальных клеток аорты [1.3.5]. Гидрофильные свойства культурального пластика также улучшались при его обработке ВУФ [1.3.35]. В настоящее время коммерчески производится культуральный пластик “Primaria”TM (США), представляющий собой нитридированный в плазме полистирол и обладающий улучшенными адгезионными свойствами.

Традиционно используемая в культуральных работах пластиковая посуда не обеспечивает строгой ориентации и локализации клеток на своей поверхности. В то же время четкая ориентация культивируемых клеток часто необходима для их адекватного роста и дифференцировки. Подложки, поддерживающие стогую топологию, были созданы также на основе полиэтиленовой пленки, полученной в диэлектрическом барьерном разряде. Данные подложки обеспечивали дифференцировку адгезированных на ней хрящевых клеток и макрофагов человека U937. При этом клетки располагались на подложке в строго определенном порядке [1.3.35].

Таким образом, плазмохимические методы обработки и модификации различных поверхностей позволяют целенаправленно и в широких пределах менять их физические свойства, химический состав, структуру и морфологию. С помощью плазменных технологий возможно создавать новые композитные материалы, обладающие ценными биологическими свойствами и высокой биосовместимостью с тканями человеческого организма и представляющими огромный интерес для современной медицины и биоинженерии.

1.4. Неравновесная плазма бионанотехнологиях

Углеродные нановолокна, наноконусы и нанотрубки нашли свое применение во многих областях науки и техники: в качестве очень прочных микроскопических стержней и нитей, датчиков сканирующих туннельных и атомных силовых микроскопов, создания полупроводниковых гетероструктур, разработки новых композитных материалов, решения биологических и медицинских задач. Удобство использования нанотрубок в биомедицинских целях определяется их низкой токсичностью, иммунологической инертностью и возможностью их простой визуализации с помощью флуоресцентной микроскопии [1.4.1].

Описан синтез углеродных наночастиц, нанотрубок, нанопорошков и нанокристаллических тонких алмазных пленок с помощью плазмы дугового разряда [1.4.2-1.4.5], например, посредством реакции металлов в водородной плазме, и микроволновой плазмы атмосферного давления [1.4.6], а также электронных пучков [1.4.7].

Одним из наиболее перспективных методов синтеза углеродных нанотрубок является плазменно-стимулированное химическое парофазное осаждение (PECVD). PECVD дает возможность получения углеродных нанотрубок при температурах ≈ 500 °С, при этом обеспечивается их вертикальная ориентация и большая поверхность роста. Плазменное травление каталитического слоя в системе PECVD позволяет контролировать плотность нанотрубок и их диаметр посредством управления параметрами плазмы и плотностью каталитических частиц [1.4.8-1.4.11].

В низкотемпературной неравновесной плазме тлеющего разряда (мощность 100 Вт, частота 13,56 МГц, плазмообразующий газ - гелий) были получены наночастицы аморфного углерода и железа, имеющие диаметр 30-35 нм и 20-25 нм, соответственно, и не агглютинирующие между собой. Высокие скорости генерации наночастиц были достигнуты уже при температурах 40-80 °С, при этом скорость образования наночастиц возрастала с увеличением мощности и концентрации материала-прекурсора (ацетилена или ферроцена/ H_2) [1.4.12].

Возможности использования нанотрубок возрастают при переходе от чисто углеродных нанотрубок к химически модифицированным, поэтому активно разрабатываются методы модификации сложных поверхностей (нановолокон, углеродных нанотрубок, микрочаеек и т.д.) с помощью диэлектрического барьерного разряда. Так, на поверхность углеродных нанотрубок были иммобилизованы малеиновый ангидрид [1.4.13], комплексы поли(2-гидроксиэтил метакрилат)-Ag [1.4.14] и молекулы аминокдестрана [1.4.15].

В одной из работ был разработан метод, позволяющий иммобилизовать биомолекулы (ДНК, белки, ферменты) на субстраты, имеющие сложный рельеф. Биомолекулы помещались внутрь капель буферного раствора с диаметром 30-50 нм, которые после прохождения через плазму приобретали заряд и затем фиксировались на поверхности полимера [1.4.16].

В последнее время вызывает большой интерес разработка и применение микрочипов, предназначенных для выполнения точных и быстрых измерений, для различных областей медицины, фармакологии и биотехнологии.

Плазменные технологии все чаще используются в производстве микрочипов и биосенсоров, т.к. плазменная литография, плазменное травление и др. позволяют осуществлять микрообработку самых различных материалов с высокой степенью прецизионности и с высокой воспроизводимостью результатов. Описано применение плазмы (использовался генератор с частотой 13,5 МГц и мощностью 500 Вт, плазмообразующий газ – гексафторид серы) для глубокого микротравления кварцевого стекла. Полученные в результате плазменного травления структуры обладали гладкой поверхностью. Тот же плазменный генератор был использован в комплексной технологии для создания микрокапиллярных структур при изготовлении микроструйных чипов [1.4.17].

Для быстрой и высокопрецизионной микрообработки материалов был специально разработан генератор микроплазмы высокой плотности, позволяющий проводить микротравление кремния и кварца со скоростью 4 мм/мин и 10 мкм/мин. При этом существовала возможность получения углублений с минимальным диаметром 400 мкм [1.4.18].

Обработка поли(диметилсилоксана) в радиочастотной плазме атмосферного давления уменьшает нежелательную адсорбцию на его поверхности биомолекул, что повышает эффективность анализа [1.4.19]. В другой работы посредством плазменно-индуцированной полимеризации были созданы полимерные пленки из мономеров пентафторофенил метакрилата. Полученный полимер имел на своей поверхности лабильные пентафторофениловые группы, которые вступали в реакцию с биологически активной молекулой биотина [1.4.20]. На основе плазменно-полимеризованных углеродных тонких пленок и нанотрубок был сконструирован ферментный биосенсор (фермент – глюкооксидаза), детектирующий глюкозу. Обработка в плазме кислорода была использована и для улучшения электрохимического взаимодействия между слоем нанотрубок и полимерной пленки [1.4.21].

Графен – двумерная аллотропная модификация углерода, состоящая из одиночного слоя углеродных атомов, собранных в гексагональную решетку. Графен является одним из наиболее перспективных материалов для широкого круга технологических приложений: наноэлектроники, создания газовых сенсоров, структурных элементов прочности, энергонакопителей, биосовместимых материалов. Однако в ряде случаев для успешного применения графена необходима его функционализация, например, допирование атомами азота, кислорода, водорода, фтора [1.4.22-1.4.26]. Показана возможность контролируемого внедрения в структуру графена этих элементов с помощью его обработки в плазме ВЧ-

разряда соответствующих газов (аммиака, кислорода, водорода, тетрафторметана) [1.4.22-1.4.26].

1.5. Технологическое применение электронных пучков и электронно-пучковой плазмы

1.5.1. Применение электронных пучков

Исследованиям физико-химических процессов в плазме, возбуждаемой инжекцией электронных пучков (ЭП) в плотные газообразные среды, посвящено множество работ, выполненных на протяжении нескольких последних десятилетий. Устойчивый интерес к данной проблеме объясняется обилием фундаментальных и прикладных задач, в которых это взаимодействие ЭП с плотной средой играет определяющую роль. Отметим лишь наиболее значимые работы, в которых систематизированы результаты исследований, относящихся к процессам в ионосфере Земли [1.5.1, 1.5.2], аэрофизическому эксперименту [1.5.3, 1.5.4] и обработке материалах, применяемых в промышленности.

Тепловое воздействие высокоэнергетичных электронов на твердое тело является основой технологии термообработки поверхности материалов и сварки металлов. Нагрев и фазовые превращения в различных материалах под воздействием концентрированных потоков энергии подробно рассмотрены в фундаментальных работах, выполненных под руководством Н.Н. Рыкалина и А.А. Углова (см., например [1.5.5, 1.5.6]), и многочисленных более поздних публикациях (например, [1.5.7-1.5.9]). Подробный обзор работ, посвященных исследованию нестационарных процессов разрушения материалов с образованием канала кинжального разрушения, имеется в [1.5.10].

Разработана технология для упрочнения поверхностей металлических изделий путем обработки электронным лучом с энергией электронов до 100 кэВ и мощностью до 15 кВт в воздушной атмосфере. Метод заключается в чрезвычайно быстром нагреве поверхности электронным пучком до температур, близких к точке плавления (1000-1300) °С, с последующим быстрым охлаждением после отключения пучка вследствие отвода тепла из нагретого слоя в массу металла. При малых временах обработки (0,001-0,1 с), когда температура не достигает температуры плавления, но превышает точку аустенитного перехода, возможно такое же быстрое охлаждение тонкого слоя за счет теплоотдачи в еще холодную основу материала, вследствие чего и происходит закалка. Данная технология обеспечивала повышение твердости в 2-2,5 раз в сравнении с исходным материалом при глубине упрочнения 0,01-1 мм [1.5.11].

В электронно-лучевых технологиях нанесения покрытий ЭП используется только для испарения осаждаемого вещества. Описано получение различных металлических (из

хрома, молибдена, циркония, иттрия, карбида и бориды титана) и керамических покрытий с помощью ЭП-стимулированного парофазного осаждения (ЕВ-PVD) на пилотном образце промышленной установки, Sciaky EB-PVD, состоящей из шести электронных пушек, используемых как для испарения мишени, так и для активации и нагрева подложки [1.5.12]. Эта же установка применялась и для получения многокомпонентных Mg-Y-Ti композитов [1.5.12].

Электронно-лучевая очистка (ЭЛО) рассматривается как альтернатива традиционным (химическим, сорбционным, флотационным и др.) методам очистки газообразных и аэрозольных выбросов различных производств. Наиболее интенсивно развиваются исследования по ЭЛО для топочных и дымовых газов ТЭС, работающих на угле и нефти, от оксидов азота NO_x и диоксида серы SO_2 . Наиболее известный вариант ЭЛО, Ebara-process, [1.5.11, 1.5.13, 1.5.14] с получением в качестве конечных продуктов улавливания солей аммония, где электронно-лучевое облучение используется для формирования продуктов радиолиза воды.

Исследованию Ebara-процесса посвящен ряд публикаций как российских, так и зарубежных авторов [1.5.15 - 1.5.19] и докладов [1.5.20, 1.5.21], сделанных на семинаре в ИВТ РАН в ноябре 1992 г.). В работах [1.5.21, 1.5.22] рассматриваются преимущества концентрированного выпуска электронов по сравнению с фольговыми окнами, функционирующий прототип мощной установки для ЭЛО описан в [1.5.23]. В [1.5.24] приводится описание лабораторной установки для исследования процессов ЭЛО при умеренных энергиях электронов ($E_e < 100$ кэВ). Первая отечественная полномасштабная опытно-промышленная установка ЭЛО с ускоряющим напряжением до 200 кВ была создана на Черепетской ГРЭС и оснащена ускорителем с мощностью 80 кВт. В данной установке вывод пучка диаметром $1,0 \div 1,5$ мм осуществляется через шлюзовую систему [1.5.25].

Хотя методы ЭЛО начали развиваться в связи с очисткой топочных газов, впоследствии стали рассматриваться и другие их приложения: очистка газообразных выбросов металлургических производств от оксидов серы и азота, а также от канцерогенных смолистых веществ (в частности, от 3,4-бензапирена), очистка отходящих газов, образующихся при переработке древесины, и отравляющих веществ. Например, для очистки отходящих газов металлургических производств от 3,4-бензапирена была использована электронная пушка, работавшая при ускоряющем напряжении $100 \div 120$ кВ с током $5 \div 7$ мА. При этом достигнутая степень очистки составила $92 \div 98$ % [1.5.26].

С помощью электронно-пучковой системы, использующей ЭП мощностью 20 кВт и ускоряющим напряжением 80-100 кВ, была осуществлена реакция превращения тетрахлорида кремния SiCl_4 в трихлорсилан SiHCl_3 [1.5.11].

Отдельного внимания заслуживает применение электронных пучков для решения биомедицинских задач, в частности стерилизации и деконтаминации различных объектов (медицинского оборудования, упаковочных материалов для пищевых продуктов и др.). Показано, что электронные пучки инактивируют микроорганизмы как за счет прямого воздействия на жизненно важные клеточные структуры и молекулы (например, ДНК), так и за счет опосредованных эффектов.

Первая коммерческая электронно-лучевая установка была создана компанией Johnson & Johnson (США) в 1956 году. В настоящее время существует множество коммерческих устройств для стерилизации, основанных на действии непрерывных и импульсных электронных пучков с высокой энергией (3-10 МэВ) и мощностью 1-50 кВт [1.5.27]. В 1995 году Компанией Titan Corporation (США) была разработана установка для стерилизации хирургического инструментария, в которой использовался 10 МэВ электронный пучок с мощностью 10 кВт. Впоследствии на основе данной модели был создан целый ряд стерилизационных установок с различной мощностью [1.5.28]. С 1996 года компанией Mitsubishi Heavy Industries, Ltd. (Япония) также производится несколько моделей стерилизационных установок с мощностью от 2 до 31 кВт и энергией электронного пучка до 10 кэВ [1.5.29]. В литературе описано успешное применение для деконтаминации медицинского инструментария 10 МэВ электронных пучков с мощностью 30-50 кВт, 3 МэВ электронных пучков с мощностью 20 кВт [1.5.30, 1.5.31] и 2,5-5 МэВ электронных пучков с мощностью 2,5 кВт [1.5.32, 1.5.33]. Последняя установка также выпускается коммерчески в Российской Федерации. 5 МэВ электронный пучок инактивировал микроорганизмы, находящиеся в масле фенхеля, которое используется в фармацевтике. При этом состав масла не изменялся [1.5.34]. Электронные пучки с энергией 5-10 МэВ инактивировали споры *Bacillus atrophaeus* и высоко патогенной *Bacillus anthracis*, предварительно помещенные в бумажный конверт [1.5.35].

Показано, что электронные пучки с меньшей энергией также могут быть эффективны для стерилизации и деконтаминации различных объектов. В работе [1.5.36] для инактивации бактерий *Escherichia coli* применяли низкоэнергетический (<100 кэВ) электронный пучок [1.5.36]. R.D. Сигу и соавторами (2000) разработано устройство для стерилизации пищевых продуктов, в котором был использован 40-нс импульсный 200 кэВ электронный пучок. Данная установка показала свою эффективность при разрушении микроорганизмов (в частности, *Escherichia coli*) [1.5.37].

Следует отметить, что использование электронных пучков для стерилизации может привести к образованию радикалов в синтетических полимерах и, следовательно, к разрушению некоторых материалов (таких как алифатические полимеры), поэтому крайне важным является контроль поглощенной дозы облучения [1.5.38].

Еще одной областью применения электронных пучков является низкотемпературный химический синтез, протекающий за счет реакций свободных радикалов, а также возбужденных и ионизованных молекул. Например, при обработке пластмасс происходит полимеризация мономерных фрагментов и формирование высокомолекулярного полимера с последующей перекрестной сшивкой его слоев.

В процессе обработки электронным пучком водные растворы полиэтиленоксида приобретают гелеобразную структуру. Гели полиэтиленоксида нашли широкое применение как основа косметических продуктов и зубных паст, сорбентов и переносчиков в медицине, а также в качестве контактной среды для ультразвуковых исследований [1.5.33].

В некоторых случаях электронные пучки применяли для изменения свойств биомолекул [1.5.39]. Так, была проведена обработка картофельного крахмала электронным пучком с энергией 6-7 МэВ в дозах 110-440 кГр. В результате экспериментов было показано значительное увеличение аморфизации крахмала с ростом дозы облучения и снижение степени полимеризации амилопектина и амилозы, входящих в его состав. Так, степень кристалличности крахмала, облученного дозой в 440 кГр снижалась в 1,5 раза по сравнению с исходным веществом. Тем не менее, морфологическая структура поверхности зерен крахмала в процессе обработки не изменялась. Облучение крахмала также приводило к появлению в нем незначительного числа карбоксильных и карбонильных групп, причем доля карбоксильных групп превышала долю карбонильных. Сочетание изменений фазовой и молекулярной структуры крахмала закономерно обуславливало повышение его растворимости в холодной воде с 5% до 70% [1.5.39].

Импульсные электронные пучки используют для создания биосовместимых поверхностей [1.2.18, 1.5.40], что позволяет наносить покрытия на термолабильные полимеры. Например, с помощью электронных пучков были созданы тонкие TiN и SiO₂ покрытия на кремниевой подложке [1.5.41]. С использованием комплексной технологии электронно-пучкового испарения и микро-дугового окисления на титановых подложках было создано гидроксипатитное покрытие толщиной 1 мкм, которое обладало высокой биологической активностью. Показано, что на созданном покрытии происходила интенсивная пролиферация клеток костной ткани [1.5.42].

С помощью электронных пучков возможно также создание медицинских полимеров, обладающих улучшенной биосовместимостью. Так, после обработки электронным пучком ацетального кополимера, поликарбоната и полиэтилентерефталата наблюдалось повышение адгезивных свойств этих материалов [1.5.43]. Кроме того, с применением электронных пучков можно иммобилизовать на поверхность полимеров различные ферменты. Показано, что при таком способе иммобилизации до 60% молекул фермента сохраняет свою специфическую активность. Также установлено, что под действием электронных пучков находящиеся в водном растворе бактериальные протеазы формируют мицеллярно-подобные структуры, ферментативная активность которых увеличивается в несколько раз по сравнению с исходным энзимом и сохраняется в широком диапазоне pH. Полученные таким образом композиты и ферментативные комплексы могут использоваться в аналитической химии, биотехнологии, экологии, медицине и ветеринарии, кожевенном производстве [1.5.33].

Для создания наносенсоров широко применяется метод электронно-пучковой литографии, с помощью которого возможно получать наноструктуры с высокой степенью разрешения и прецизионности. Подобные наноструктуры находят также применение в комбинаторной химии, целенаправленном ступенчатом синтезе белков, современных методах спектроскопии биологических агентов.

С использованием низкоэнергетических электронных пучков (1 кэВ, 5 кэВ и 10 кэВ) были созданы ультратонкие (1-2 нм) монослои 2-аминопропилиэтоксисилана и (аминоэтиламинометил)фенэтилтриметоксисилана на кремниевых подложках [1.5.44]. Электронно-пучковая литография применялась для высокоточного травления хромового микропокрытия в комплексной технологии изготовления микрожидкостных устройств с интегрированными микроэлектродами [1.4.17]. На полиметилметилакрилате методом электронно-пучковой литографии были получены структуры флуоресцирующего белка авидина с разрешением 100 нм [1.5.45]. Электронно-пучковая литография использовалась для нанесения пептид-модифицированных полианилинов при создании наносенсора, способного определять следовые концентрации ионов тяжелых металлов в питьевой воде [1.5.46] и Au-наноструктур для поверхностной резонансной комбинационной рамановской спектроскопии [1.5.47].

Одной из наиболее распространенных аналитических методик, получившая широкое распространение во многих областях науки, является электронная микроскопия (трансмиссионная и сканирующая), использующая пучки ускоренных электронов с энергией 50-200 кэВ и позволяющая исследовать микроструктуру твердых тел, тонких

пленок и получать изображения прокариотических и эукариотических клеток, вирусов, белковых молекул и т.д.,

Электронные пучки находят свое применение не только в области химического синтеза, создания покрытий, нанотехнологии и аналитики, но и в практической медицине. В настоящее время разработан новый диагностический метод, получивший название электронно-пучковая компьютерная томография (ЕВСТ) и позволяющий визуализировать изменение диаметра сосудов, гемодинамику, распространение кальцификации и тромботических процессов, а также определять их размеры [1.5.48-1.5.51].

1.5.2. Техника генерации электронно-пучковой плазмы

Генератор электронно-пучковой плазмы (ЭПП) обычно состоит из следующих основных элементов:

- инжектора, предназначенный для получения и формирования в вакууме ЭП с заданными параметрами;
- блока питания инжектора;
- выводного устройства;
- вакуумной системы, поддерживающей необходимое для устойчивой работы инжектора разрежение;
- рабочей камеры с системами подачи плазмообразующего газа и конденсированной фазы.

В качестве инжекторов электронного пучка в генераторах ЭПП обычно применяются ускорители прямого действия, в которых ускорение электронов происходит в электростатическом поле. Если высокие ускоряющие напряжения не требуются, то в качестве инжектора ЭП могут служить электронные пушки с термоэмиссионным, плазменным или автоэмиссионным катодом. Наиболее часто для генерации ЭПП используют пушки, разработанные для электронно-лучевой обработки материалов и сварки [1.5.52 - 1.5.61]. Такие пушки формируют остросфокусированный пучок, их мощность изменяется в широких пределах от сотен Вт до десятков кВт, а ускоряющие напряжения лежат в оптимальном для генераторов ЭПП диапазоне 20 - 120 кВ. В таких пушках, как правило, применяют термокатоды из LaV₆, нагреваемые либо электронной бомбардировкой [1.5.53] либо омически [1.5.54, 1.5.55].

Перспективны также плазменные источники электронов [1.5.62, 1.5.63], в которых для получения электронного потока используется специальным образом созданное плазменное образование. Обычно с этой целью используются тлеющий или дуговой газовые разряды, из которых извлекаются электроны.

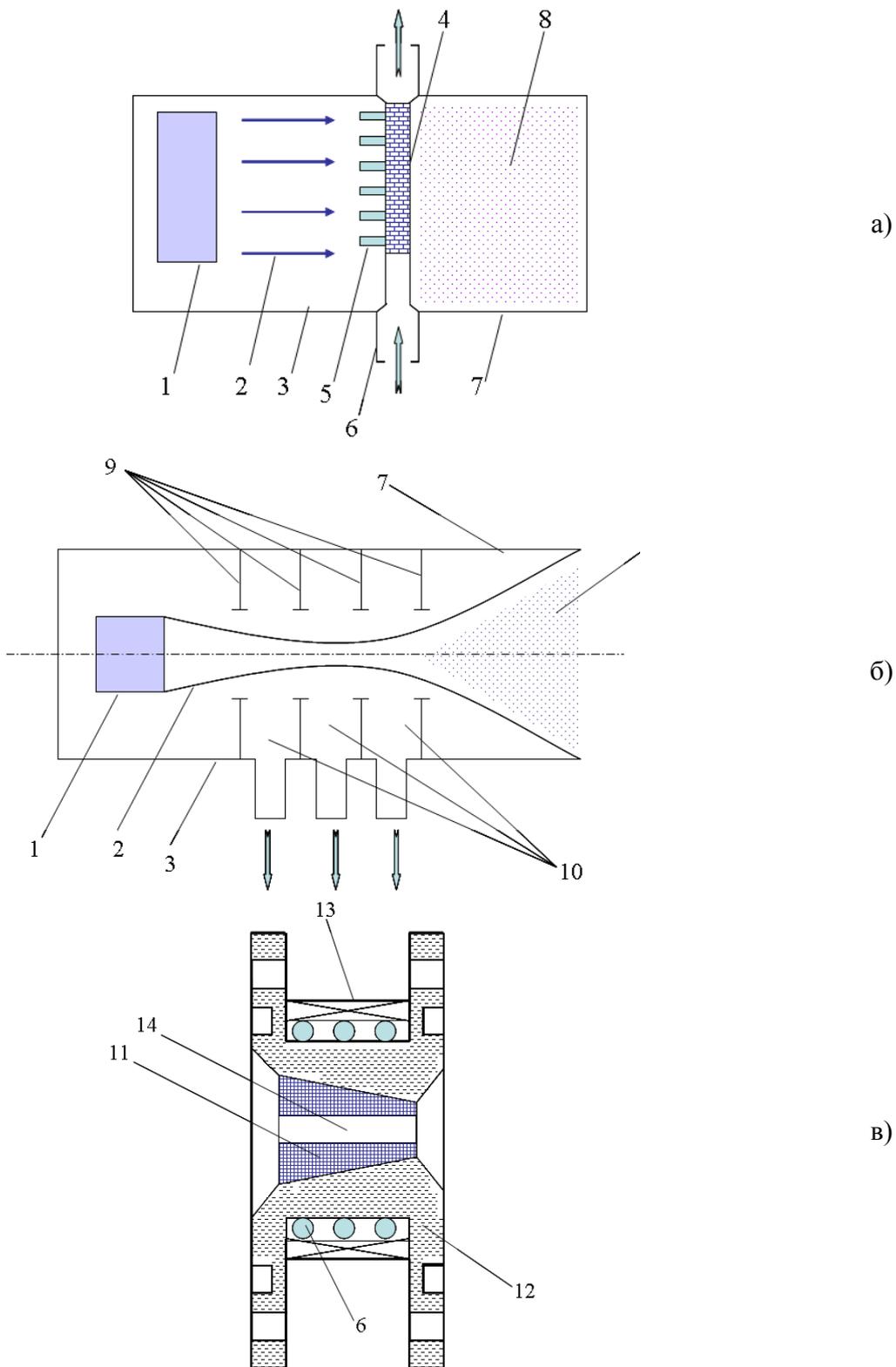


Рис. 1.5.1. Конструкции выводных устройств: а) фольговое окно, б) шлюзовая система с дифференциальной откачкой, в) газодинамическое окно

1 – инжектор электронов, 2 – электронный пучок, 3 – высоковакуумная камера, 4 – фольга, 5 – поддерживающая структура, 6 – система охлаждения, 7 – рабочая камера, 8 – облако ЭПП, 9 – диафрагмы, 10 – шлюзовые камеры, 11 – сублимирующая вставка, 12 – корпус (перегородка), 13 – соленоид, 14 – канал

Назначение высоковольтных источников питания ускорителей электронов непрерывного действия – многократное повышение сетевого напряжения до заданного ускоряющего напряжения с последующим его выпрямлением. Известно несколько схем построения источников питания, таких как электростатические генераторы, каскадные генераторы и трансформаторно-выпрямительные схемы на основе высоковольтных трансформаторов [1.5.64-1.5.66]. Трансформаторные схемы наиболее удобны для питания электронных пушек, рассчитанных на невысокие (до ~ 500 кВ) ускоряющие напряжения. При ускоряющих напряжениях менее 150 кэВ пушка и трансформаторно-выпрямительный блок представляют собой отдельные узлы, соединенные между собой кабелем. В высоковольтных ускорителях электронов трансформаторно-выпрямительный блок и ускорительная система компонуются в единый моноблок, внутренний объем которого заполнен газовой или масляной изоляцией.

Принципиальным вопросом при конструировании генераторов электронно-пучковой плазмы является совместный выбор выводного устройства, обеспечивающего транспортировку мощных концентрированных пучков в реакционный объем.

Для выпуска электронных пучков из вакуума в плотный газ обычно используют выводные устройства (ВУ) двух типов: фольговые окна и многоступенчатые шлюзовые системы с дифференциальной откачкой. Конструкции выводных устройств показаны на рис. 1.5.1.

Фольговые окна применяются для вывода концентрированных ЭП с достаточно высокими энергиями ($E_b > 150$ кэВ). Различные варианты конструкций и методы расчета фольговых ВУ подробно рассмотрены в [1.5.64] и [1.5.66]. В фольговых выводных устройствах используется фольга, изготовленная из легких и прочных термоустойчивых материалов. Основными требованиями, предъявляемыми к фольге, является ее способность с минимальными потерями пропускать электронный пучок и достаточная механическая прочность, чтобы выдерживать перепад давлений между высоковакуумной и рабочей камерами. Обычно используют фольгу из титана или тантала [1.5.67] (реже из алюминия или бериллия [1.5.64]) толщиной $15 \div 100$ мкм. Для выпуска слаботочных пучков с плотностью тока $\sim 10^{-6} \div 10^{-7}$ А/см² применяют полимерные и напыленные пленки [1.5.68]. Если площадь сечения выпускаемого пучка достаточно велика, то прочность окна увеличивают специальными ребрами, поддерживающими фольгу [1.5.69]. При выводе ЭП с плотностью тока $\sim 10^{-3} \div 10^{-4}$ А/см² фольгу охлаждают обдувом воздуха или других газов; при еще больших плотностях тока применяется проточное водяное охлаждение

Для вывода дорелятивистских концентрированных непрерывных электронных пучков применяются многоступенчатые шлюзовые системы с дифференциальной откачкой, поскольку фольговые окна:

- не выдерживают высоких тепловых нагрузок, возникающих при транспортировке пучков с высокой плотностью энергии;
- для эффективного выпуска ЭП с начальной энергией менее 300-400 кэВ необходимо использовать слишком тонкие фольги, не выдерживающие механических нагрузок, обусловленных перепадом давления на фольге;
- фольги имеют ограниченный ресурс работы при контакте с ЭПП химически агрессивных сред.

Впервые двухступенчатая шлюзовая система была применена еще в 1920 году для выпуска рентгеновского излучения [1.5.70]. Многоступенчатое окно для вывода электронов было создано в начале 30-х годов [1.5.71]. В 70-х годах опубликована работа [1.5.72], в которой описаны эксперименты по выпуску в атмосферу ЭП с энергией 175 кэВ, непрерывной мощностью 60 кВт, диаметром около 1 мм с помощью четырехступенчатой шлюзовой системы. Примерно по такой же схеме организован выпуск пучка в ускорителях ЭЛТ-1,5 и серии ЭЛВ, в течение ряда лет изготавливавшихся Институтом ядерной физики СО АН СССР [1.5.73].

В многоступенчатых шлюзовых системах система дифференциальной откачки состоит из нескольких автономно откачиваемых камер, разделенных диафрагмами с отверстиями, через которые транспортируется пучок. Количество ступеней определяется перепадом давления между высоковакуумной и рабочей камерами, диаметрами отверстий в диафрагмах и производительностью откачных средств. Устройство такого типа использовалось для выведения в атмосферу ЭП мощностью до 1 МВт и энергией электронов 200 ÷ 500 кэВ [1.5.74].

Значительно повысить работоспособность системы дифференциальной откачки удастся при переходе к методу транспортировки концентрированного ЭП сквозь ряд диафрагм, прожигаемых самим пучком. Уже в одной из первых работ [1.5.75], в которой применялись прожигаемые диафрагмы, были продемонстрированы достоинства данного способа: отпадает трудоемкий процесс юстировки электромагнитной системы сопровождения ЭП, снижаются требования, предъявляемые к откачным средствам. Если давление в рабочей камере генератора ЭПП не превышает нескольких десятков Торр, то вместо набора тонких диафрагм можно установить одну толстую перегородку из специально подобранного материала (например, кварца [1.5.76]), в которой пучок будет прожигать канал малого диаметра.

Если давление в рабочей камере менее 100 Торр, то для выпуска ЭП можно использовать газодинамические окна (рис. 7.1.1), являющиеся разновидностью шлюзовых систем. Конструктивно такое ВУ представляет собой перегородку, разделяющую вакуумную и рабочую камеры генератора ЭПП, со вставкой, изготовленной из сублимирующего материала (обычно графита) [1.5.77].

1.5.3. Применение электронно-пучковой плазмы

Известные применения ЭПП основаны на ее тепловом, плазмохимическом и радиационно-химическом воздействии на вещество, которые в зависимости от условий генерации, как правило, проявляются в различных сочетаниях (см., например, [1.5.78]. Термические процессы, сопровождающиеся нагревом плазмообразующего газа, конденсированной дисперсной фазы и твердых тел, помещенных в ЭПП, обусловлены энерговыделением при торможении быстрых электронов в твердой среде. Радиационно-химические процессы тоже связаны с воздействием на вещество быстрых электронов, требуют достаточно высоких энергий электронов (обычно более 150 кэВ) и могут сопровождаться нагревом обрабатываемого объекта. Плазмохимические процессы, в которых в отличие от радиационно-химических участвуют не только и не столько быстрые электроны, но и ионы, радикалы и плазменные электроны.

Термическое воздействие ЭПП на материал используется, например, для упрочнения поверхностей металлических изделий путем обработки электронным лучом в воздушной атмосфере. Метод заключается в чрезвычайно быстром нагреве поверхности электронным пучком до температур, близких к точке плавления (1000-1300) °С, с последующим быстрым охлаждением после отключения пучка вследствие отвода тепла из нагретого слоя в массу металла [1.5.11].

Осаждение покрытий на различные подложки является еще одним примером широко применяемой электронно-лучевой технологии. При этом в большинстве работ этой тематической направленности исследуется физическое осаждение покрытий в глубоком вакууме. Обзору достижений в области EB-PVD-процессов посвящена работа [1.5.79].

В литературных источниках имеются лишь единичные указания на использование плазмохимических превращений в ЭПП технике и технологиях. Возможность применения электронно-пучковой плазмы для изменения строения и состава битумов и гуминовых веществ бурых углей, чистой целлюлозы целлюлозных материалов (фильтровальной и хроматографической целлюлозы, листов деловой целлюлозы), а также бумаги, древесины, торфа и льняных тканей исследовалась в работах [1.5.80-1.5.83].

В большинстве работ ЭПП применяется для решения различных проблем и задач в области аэрокосмонавтики, для создания новых высоко технологичных материалов, осаждения покрытий и тонких пленок в основном для микроэлектроники [1.5.84]. Способ осаждения покрытий и травления поверхности в ЭПП принципиально не отличается от известных методов плазменно-стимулированного химического парофазного осаждения, основанных на других источниках неравновесной плазмы. Подложка, на которую должно быть нанесено покрытие, помещается в облако плазмы вещества, участвующего в формировании покрытия. Из молекул плазмообразующего газа в результате неравновесных плазмохимических реакций в разряде происходит наработка частиц, которые затем осаждаются на поверхности подложки, вступая или не вступая в химическую реакцию с последней.

В плазмохимическом реакторе на основе газового разряда, поддерживаемого ЭП, методом PECVD были синтезированы органометаллические компаунды [1.5.85]. В работе [1.5.86] ЭП используется только для испарения материала чаще всего металлических, а не как плазмообразующий фактор. Авторами описано устройство, в котором поток пара поступает в реакционную камеру, где между двумя специальными электродами поджигается разряд. Через один из электродов в разряд поддувается плазмообразующий газ, который может вступать в плазмохимические реакции с металлическим паром. Поток образующихся продуктов поступает на подложку, находящуюся вне зоны разряда.

Активация газа с помощью ЭП лежит в основе разработанного в Институте теплофизики СО РАН способа осаждения пленок аморфного кремния и SiO_2 в ЭПП смесей моносилана с различными газами-носителями. Суть метода состоит в следующем [1.5.87]. В вакуумной камере формируется сверхзвуковая струя плазмообразующего газа. В струе перпендикулярно ее оси размещается подогреваемая подложка. В некотором сечении струи между соплом и подложкой струю пересекает ЭП, производя возбуждение газа и образование радикалов, которые потоком газа переносятся на подложку. Таким образом достигаются высокие скорости переноса активированных пучком молекул рабочего газа к подложке, что делает процесс эффективным и экономичным. Различным аспектам расчета рассматриваемого процесса осаждения пленок аморфного Si и SiO_2 а также особенностям практической реализации метода посвящены работы [1.5.88 - 1.5.94]. Еще одной перспективной плазмохимической технологией, основанной на газофазных процессах в ЭПП, является технология получения водорода из метана, которая рассматривается в привязке к задачам водородной энергетики [1.5.95]

В качестве примера гетерофазных плазмохимических процессов с участием ЭПП можно привести использование ЭПП азота для синтеза покрытий из нитрида титана,

обладающих высокой адгезионной способностью к подложкам: прочность сцепления модифицированного слоя с подстилающим слоем совпадают с прочностью подстилающего слоя [1.5.41]. С помощью ЭПП кислорода на полимерных субстратах были получены медные и алюминиевые покрытия, обладающие высокой адгезией, а обработка полиэтилена в ЭПП смеси Ar/SF_6 приводила к образованию полимера с высокой степенью фторирования [1.5.41].

Особо следует отметить работы, в которых для модификации поверхности и осаждения покрытий используются технологии на основе пучково-плазменного разряда [1.5.96]. Такие реакторы рассматриваются в связи целым рядом приложений к нанотехнологиям, в частности – к задачам функционализации графена и других углеродных материалов.

В приложении к биологическим и медицинским задачам до последнего времени электронно-пучковая плазма не используется. Единственное известное автору данной диссертационной работы исследование применения ЭПП в области биомедицины - попытка функционализирования пластиковых материалов из полистерена и полипропилена для культуральных работ – было выполнено в 2011 г [1.5.97].

Вывод

Анализ литературных данных, проведенный по современным литературным источникам, показывает, что основными видами плазмы, применяемыми в медицине, биологии, биотехнологии и при создании новых биоактивных и биосовместимых материалов является плазма газовых разрядов различных частотных диапазонов. Для удобства практического использования разработаны специальные устройства и аппараты, многие из которых либо прошли необходимые клинические испытания и коммерчески доступны, либо находятся в стадии доклинических исследований.

Исследованы физико-химические процессы, лежащие в основе получения биологически активных материалов и стерилизации в низкотемпературной плазме газовых разрядов и протекающие как в самой плазме (передача энергии от внешнего источника в плазмообразующий газ, возбуждение внутренних степеней свободы атомов и молекул, ионизация, диссоциация, плазмохимические реакции), так и на поверхности обрабатываемого объекта (травление поверхности, окисление, сшивка и деструкция молекул, прививка функциональных групп, допирование материала различными атомами).

Приложения пучково-плазменных технологий до настоящего времени изучаются по ограниченному числу направлений: исследуются главным образом термическая

модификация материалов под действием быстрых электронов, электронно-лучевая очистка газов. В известных способах нанесения покрытий с помощью электронно-пучковой плазмы электронные пучки используются только для активации частиц осаждаемого вещества.

Число работ, в которых исследуется применение электронно-пучковой плазмы в области биомедицины крайне ограничено, и они носят отрывочный, фрагментарный характер. Исследования, в которых целенаправленно изучались физико-химические процессы применительно к разработке пучково-плазменных технологий получения материалов и производства изделий медико-биологического назначения, не проводились.

Плазмохимические системы и, в частности, пучково-плазменные системы, характеризуются большой плотностью энергии, а присутствие огромного числа разнообразных реакционно-способных частиц ведет к многоканальности плазмохимических процессов. Это означает, что один и тот же суммарный процесс может протекать принципиально разными путями в зависимости от параметров плазмы (давление, удельный энергозатрат и т.д.). Применительно к задачам плазмохимии это приводит к необходимости поиска механизмов, идущих с большей эффективностью, а также к необходимости оптимизации условий для осуществления плазмохимических реакций. Физико-химические механизмы взаимодействия электронно-пучковой плазмы с материалами различной природы (особенно с биоорганическими соединениями), приводящие к получению биоактивных продуктов и биосовместимых покрытий также не изучались.

Сделанные выводы подтверждают актуальность сформулированных целей и задач, а также новизну настоящей диссертационной работы.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. *Использованные соединения*

Исследование деструкции биополимеров в ЭПП

Экспериментальное исследование деструкции биополимеров и получения биоактивных низкомолекулярных продуктов реакций, стимулированных электронно-пучковой плазмой, было выполнено с использованием следующие соединений:

1) Белки:

- а) бычий сывороточный альбумин (БСА), фракция V (БСА, Мол. масса 66 кДа);
- б) лизоцим белка куриных яиц (Мол. масса 14,7 кДа);
- в) коллаген I типа из бычьего пяточного сухожилия (Мол. масса ~ 285 кДа);
- г) фибрин-мономер, выделенный из плазмы крови человека (ФМ, Мол. масса ~340 кДа).

Использовали лиофилизированные порошки БСА, лизоцима и коллагена производства фирмы «Sigma» (Германия) и коммерческий препарат фибрин-мономера производства фирмы «Технология-стандарт» (Россия), содержащий (помимо собственно лиофилизированного порошка фибрин-мономера) компоненты ацетатного буфера, трисаминометангидрохлорид и мочевины.

Выбор данных белков был обусловлен тем, что их молекулярная масса, структура, аминокислотный состав и другие физико-химические и биологические свойства хорошо известны, и поэтому достаточно легко можно провести сравнение продуктов плазмохимической модификации с исходными веществами. БСА и лизоцим также не содержат в своей структуре простетических групп, что существенно облегчает последующий анализ продуктов их ЭПП-обработки. Кроме того, лизоцим не является белком плазмы крови, что дает возможность сравнить ЭПП-модификацию белков, входящих и не входящих в состав плазмы крови, а также свойства продуктов их обработки.

Выбор в качестве модельного белка фибрин-мономера был обусловлен и тем, что продукты его протеолитической деградации обладают выраженным антиагрегационным действием. Следовательно, низкомолекулярные продукты деградации фибрин-мономера являются потенциально интересными соединениями с точки зрения ингибирования тромбоцитарной агрегации. К сожалению, промышленно производимый фибрин-мономер практически не поддается управляемой ферментативной деградации (с помощью трипсина и др. протеолитических ферментов) вследствие своей высокой склонности к

полимеризации. Поэтому становится актуальным поиск нетрадиционных методов воздействия на структуру молекулы фибрин-мономера с целью ее управляемой деструкции и получения новых продуктов, обладающих высокой антиагрегационной способностью и не склонных к полимеризации.

2) Полисахариды:

а) нерастворимый в воде порошкообразный крабовый хитин (ЗАО «Биопрогресс», Россия) со средневязкостной массой (M_v) = 1000 кДа;

б) нерастворимые в воде крабовые хитозаны со средневязкостной молекулярной массой 200-500 кДа и средневесовой молекулярной массой (M_w) 17,7-25,0 кДа, степенью деацетилирования (СД) 0,85 и полидисперсностью 1,5-5,0. Высокомолекулярные хитозаны были получены из крабового хитозана с молекулярной массой 700 кДа и степенью деацетилирования $0,85 \pm 0,03$ (ЗАО «Биопрогресс», Россия) с помощью ферментативного гидролиза с использованием коммерческого препарата Целловиридин Г20х. Образцы низкомолекулярного хитозана ($M_w = 17,7-25,0$ кДа) со степенью деацетилирования 98% и полидисперсностью 1,3-1,5 были получены методом кислотного гидролиза с использованием соляной кислоты.

Степень деацетилирования хитозана определяли методом кондуктометрического титрования и с помощью ПМР. Средневязкостная молекулярная масса определялась в вискозиметре Уббелюде с использованием уравнения Марка-Хаувинка, анализ низкомолекулярных хитозанов проводился также и с помощью гель-проникающей ВЭЖХ.

Все образцы хитозанов тестировались также с помощью ПМР.

в) губки, изготовленные из различных полисахаридов, с использованием лиофилизационной технологии. Все образцы губок были предоставлены сотрудниками ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ. Были исследованы губки, изготовленные из следующих составов:

- 5%, 3% и 1% растворы альгината натрия в уксусной кислоте;
- 0,5% раствор альгината натрия и 0,5% раствор хитозана в уксусной кислоте, с соотношением компонентов 1:1;
- 0,5% раствор альгината натрия и 0,25% раствор агара в уксусной кислоте, с соотношением компонентов 1:1;
- 4% и 10% растворов микрокристаллической целлюлозы (МКЦ).

3) Синтетические производные α -аминокислот, содержащие пиразолидиновый цикл:

а) этил *N*-(1-ацетил-3-метил-2-фенилпиразолидин-5-ил)-(L)-триптофанат;

- б) фенилгидразид N-метоксикарбонил-(D,L)-фенилаланина;
- в) фенилгидразид N-*трет*-бутилоксикарбонилглицина;
- г) фенилгидразид N-*трет*-бутилоксикарбонилаланина.

Данные соединения были синтезированы на кафедре органической химии химического факультета Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова.

Исследование плазменно-стимулированного осаждения

Эксперименты по получению устойчивых плазменно-пылевых структур и плазменно-стимулированному осаждению низкомолекулярных органических веществ на порошки, левитирующие в плазменной ловушке, проводили с использованием следующих соединений:

- а) Ацетилсалициловая (2-ацетоксибензойная) кислота («Sigma», Германия)

Ацетилсалициловая кислота оказалась весьма удобной для экспериментов вследствие своей низкой температуры испарения и плавления (140 °С и 136-140 °С, соответственно) и относительно малых энтальпий фазовых переходов. Так как температуры плавления и кипения ацетилсалициловой кислоты различаются всего на 4 градуса, то под воздействием ЭП она ведет себя как сублимирующее вещество, испарение которого не сопровождается формированием жидкой фазы. Это обстоятельство существенно облегчает задачу формирования потока пара заданной интенсивности. Не менее важным достоинством ацетилсалициловой кислоты для экспериментов является малое давление насыщенного пара (0,004 Па при 25 °С), в результате чего испарение навески не приводит к изменению остаточного давления в реакционной камере. Кроме того, ацетилсалициловая кислота широко применяется в медицинской практике в качестве лекарственного агента.

- б) Аморфный углерод (размер частиц 20-30 мкм)
- в) Оксид алюминия (III) Al_2O_3 («Sigma», Германия)
- г) Сера («Sigma», Германия)
- д) БСА, лизоцим, хитозан с $M_v = 500$ кДа
- е) Тромбин, выделенный из плазмы крови человека (Мол. масса ~40 кДа).

Коммерческий препарат лиофильно высушенного тромбина производства фирмы «Технология-стандарт» (Россия) с активностью 500 NIH использовали в экспериментах по исследованию возможности получения плазменными методами композиционных гемостатических материалов, содержащих в своем составе полисахарид и белок,

активирующий свертывание крови. В ходе экспериментов использовали раствор тромбина, приготовленный согласно инструкции к препарату.

Порошки ацетилсалициловой кислоты, аморфного углерода и Al_2O_3 также использовали при исследовании устойчивости реакционного объема, содержащего частицы конденсированной дисперсной фазы.

Исследование синтеза биоактивных покрытий в ЭПП

Исследование возможности применения пучково-плазменных технологий для синтеза оксидов на поверхности ортопедических и дентальных имплантатов, обладающих улучшенной биосовместимостью, проводили на сплавах титана VT1-0 и VT1-00 (содержание титана 99,6%). Другими элементами, входящими в состав сплава были железо (~0,15%), углерод (~0,05%), азот (~0,04%) и кислород (~0,08%).

Синтез оксидных покрытий был исследован на следующих образцах:

- а) пластины толщиной 2 мм и площадью 4 см^2 ,
- б) отрезки труб с толщиной стенки 1,5 мм и длиной 100 мм.
- в) мелкодисперсные титановые порошки, диаметр частиц 10-150 мкм.

2.2. Подготовка образцов для пучково-плазменной обработки

Подготовка образцов биополимеров

Подлежащие обработке образцы биополимеров представляли собой:

а) монослой порошкообразного вещества, насыпанный на дно специального стеклянного контейнера (см. также раздел 4.2, в котором описан способ формирования реакционного объема в виде кипящего слоя);

б) тонкие пленки белков, полученные на поверхности плоской стеклянной подложки; пленки получались в результате вакуумной сушки тонкого слоя раствора биополимера, предварительно нанесенного на поверхность подложки.

Технологии подготовки образцов были специально отработаны с целью гарантированного воспроизведения исходных характеристик образцов. Необработанные белки и хитозаны представляли собой полидисперсные порошки, поэтому перед засыпкой порошков в контейнер они просеивались через калиброванные сита. Это позволило отделить крупные фракции порошка: частицы с размерами более 200 мкм заведомо не могут быть проработаны насквозь в процессе пучково-плазменной модификации. То же относится и к толщине пленочных белковых образцов. Концентрации растворов белков количество раствора, наносимого на поверхность подложки перед вакуумной сушкой,

экспериментально подбирались так, чтобы толщина пленки после высушивания не превышала 0,02 мм.

В ряде экспериментов навески порошкообразных образцов массой до 10 г обрабатывались в специальном устройстве, которое помещалось в реакционную камеру плазмохимического реактора и представляло собой цилиндр, снабженный внутренними ребрами. Устройство было снабжено шаговым двигателем, вращающим цилиндр с контролируемой угловой скоростью, что позволяло перемешивать и равномерно обрабатывать порошок биполимера в ЭПП.

в) тонкие пленки хитозанов различной молекулярной массы. Для приготовления пленок использовали 2% растворы хитозанов в 1% водном растворе уксусной кислоты. 2 мл раствора хитозана равномерно наносили на чашку Петри из полистирола диаметром 35 мм и сушили в термостате в течение суток при температуре 60 °С. Затем высушенные пленки последовательно отмывали в дистиллированной воде, 1% растворе NaOH и вновь в дистиллированной воде (до нейтрального pH). Отмытые пленки сушили в термостате в течение суток при температуре 60 °С. Полученные пленки имели толщину $8,0 \pm 0,5$ мкм.

Поверхность и шероховатость полученных пленок была охарактеризована методами сканирующей электронной микроскопии с помощью микроскопа FEI Quanta 200 (FEI Company, США). Размер поля сканирования 4×4 мкм.

Подготовка образцов из титановых сплавов

В экспериментах использовались образцы в виде плоских пластин, изготовленных из сплава ВТ1-0 и отрезки труб из сплава ВТ1-00. Поверхности образцов, на которых при ЭПП-обработке должны синтезироваться оксидные слои, предварительно подвергались многостадийной механической полировке с помощью абразивной пасты ГОИ, очистке, обезжириванию и химическому травлению с целью формирования на их поверхности специального микрорельефа. Для этого образцы отмывали в ультразвуковой ванне в следующей последовательности: ацетон, изопропиловый спирт (все реагенты «Sigma», Германия, химически чистые) и дистиллированная вода. Промывка в каждом растворителе проводилась трехкратно и длилась по 20 мин.

Отмытые образцы протравливали в смеси концентрированных соляной и серной кислот (в соотношении 3:1) в течение 30 мин при комнатной температуре) и подвергали окончательной трехкратной промывке в дистиллированной воде. Подготовленные таким образом образцы сразу же обрабатывались в ЭПП (см. главу VI, раздел 6.1).

При исследованиях структуры и свойств полученных в ЭПП оксидных покрытий в качестве контрольных использовали:

а) исходный титановый образец, полированный и отмытый по описанной выше процедуре;

б) образец полированный, отмытый и протравленный в смеси концентрированных кислот.

Контрольные образцы хранили в индивидуальных стеклянных контейнерах с притертыми крышками во избежание загрязнения их поверхности.

2.3. Методы анализа структуры и свойств продуктов ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров

Определение концентрации белка

Концентрацию белка в контрольных и ЭПП-обработанных образцах определяли на спектрофотометре СФ-101 (“Аквилон”, Россия) по методу О.Н. Lowry [2.3.1, 2.3.2].

Для определения использовали следующие реагенты:

- Раствор А. 2% раствор Na_2CO_3 в 0,1 М NaOH ;
- Раствор Б. 0,5%-ный $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1%-ном тринатрийцитрате;
- Раствор В. Смесь 50 мл раствора А с 1 мл раствора Б. Ежедневно готовят заново;
- Раствор Г. Коммерческий реагент Фолина-Чокальтеу (“Sigma”, Германия), разбавленный дистиллированной водой до концентрации по кислоте 1 моль/л.

Методика измерения. К образцу белка добавляют 5,0 мл раствора В, хорошо перемешивают и выдерживают в течение 10 мин при комнатной температуре. Быстро при постоянном перемешивании добавляют 0,5 мл раствора Г. Выдерживают 30 мин при комнатной температуре и определяют оптическую плотность при длине волны 750 нм. Концентрацию белка определяют по градуировочному графику, построенному с помощью стандартных разведений (25-500 мкг белка в 1 мл) соответствующего белка.

Определение растворимости продуктов ЭПП-стимулированного гидролиза хитозанов

Растворимость хитозана и продуктов его ЭПП-стимулированного гидролиза определяли по следующей методике: навеску массой 0,1000 г заливали 50 мл дистиллированной воды, содержащей 0,05% азида натрия в качестве бактерицидного агента. Смесь выдерживали 48 часов при температуре 25 °С. Далее смесь фильтровали через стеклянный фильтр и промывали осадок дистиллированной водой. Фильтр с осадком доводили до постоянной массы в термостате при температуре 105 °С и измеряли массу осадка. Массу растворившегося вещества вычисляли как разность между массой навески и массой осадка.

Иммуноэлектрофорез

Иммуноэлектрофорез фибрин-мономера и продуктов его ЭПП-деструкции проводили на аппаратуре “Multiphor System for Electrophoresis” (LKB, Швеция) по методу С.-В. Laurell [2.3.3, 2.3.4] в 1,4% агаровом геле, в качестве электродного буферного раствора использовали 0,03 М веронал-мединаловый буфер с pH=8,6. Электрофорез исследуемого антигена (исходный фибрин-мономер или продукты его ЭПП-деструкции) проводили в течение 1,5 часов при силе тока 40 мА и напряжении 200 В с охлаждением, в направлении, перпендикулярном полосе агарового геля, в которую затем вносили специфическую антисыворотку. Для анализа использовали сыворотку для иммуноэлектрофореза против сывороточных белков крови человека (Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов “ИмБио”, Россия) и специфическую кроличью антисыворотку к фибриногену человека (ООО «Имтек», Россия). Для окраски белков применяли 0,1% раствор амидочерного 10В в 7% уксусной кислоте.

Горизонтальный электрофорез в агаровом геле

Горизонтальный электрофорез фибрин-мономера и продуктов его ЭПП-модификации проводили на аппаратуре “Multiphor System for Electrophoresis” (LKB, Швеция) в 1,4% агаровом геле при силе тока 40 мА и напряжении 200 В с охлаждением. В качестве электродного буферного раствора использовали 0,03 М веронал-мединаловый буфер с pH=8,6. Образцы белка растворяли в дистиллированной воде и наносили в лунки, прорезанные в геле. Перед проведением электрофореза в лунку с образцом белка добавляли 1% раствор бромфенолового синего. После проведения электрофореза гель окрашивали в течение 20 мин 0,1% раствором амидочерного 10В в 7% уксусной кислоте и затем отмывали в 10% уксусной кислоте. Перед окрашиванием белки предварительно фиксировали раствором пикриновой кислоты в течение 10 мин [2.3.4].

Денатурирующий электрофорез в полиакриламидном геле

Денатурирующий электрофорез в полиакриламидном геле проводили на аппаратуре фирмы “Bio-Rad Laboratories, Inc.” (США), использовали камеру для вертикального электрофореза Mini-PROTEAN[®] 3 Electrophoresis Cell и источник напряжения PowerPac[™] Basic Power Supply.

Электрофорез белков проводили в пластинах полиакриламидного геля (PAGE) в присутствии додецилсульфата натрия (SDS) и 2-меркаптоэтанола по методу U.K. Laemmli [2.3.5]. Использовали 4% концентрирующий гель и 7,5% или 10% разделяющий гель со

стандартной шивкой. Активацию полимеризации геля осуществляли добавлением персульфата аммония, в качестве катализатора полимеризации использовали 20% тетраметилэтилендиамин (TEMED).

Образцы белков для электрофореза растворяли в 0,01 М трис-НСl буфере (рН=8,0), содержащем 0,001 М этилендиаминтетраацетата (ЭДТА). В пробу белка вносили SDS и β-меркаптоэтанол (концентрации в пробе 1% и 5%, соответственно) и нагревали пробу до 100 °С в течение 5 мин. Далее в пробу добавляли глицерин и 1% раствор бромфенолового синего.

Электрофорез проводили трис-глициновом буфере (рН=8,3), который содержал 0,1% SDS, при напряжении 100 В. После электрофореза гели окрашивали 0,1% Кумасси- R-250 в течение 20 мин и отмывали в 5 сменах по 10 мин в растворе, содержащем 10% уксусной кислоте и 15% изопропанола.

Определение содержания аминокислотных остатков

Для определения массовой доли аминокислот в нативных белках и продуктах их ЭПП-модификации использовали анализатор Т 339М («Mikrotechha-N.P.», Чехословакия; погрешность измерений ±10%). Определялось содержание 17 основных аминокислот.

Сущность метода заключается в расщеплении пептидных связей белка соляной кислотой или щелочью при нагревании и избирательной сорбции аминокислот на ионообменнике жидкостной хроматографической колонки. При ионообменной хроматографии используются, в первую очередь сильные электростатические силы между ионизированными функциональными группами ионита (ионообменного сорбента) и ионами окружающей среды в растворе. В водных растворах обе функциональные группы аминокислот (амино- и карбоксильная группы) имеют заряд, т.е. аминокислоты являются амфотерными соединениями и могут быть разделены с помощью сорбентов, обеспечивающих обмен анионов или катионов. После хроматографической колонки аминокислоты поочередно поступают в реакционную камеру, где при нагревании с нингидриновым реактивом образуется окрашенный комплекс, интенсивность которого пропорциональна содержанию аминокислоты в растворе.

Гидролиз белков

Для проведения хроматографии нативные белки и продукты их ЭПП-модификации подвергали кислотному гидролизу в 6 н. HCl (раствор содержит 20,0 мас% HCl и имеет удельный вес 1,100 при температуре 15 °С) по стандартной процедуре. Для проведения кислотного гидролиза навеску материала массой 20-30 мг помещали в специальные

герметично закрывающиеся пробирки из термостойкого стекла, смачивали ее 1 мл этилового спирта и заливали 10 мл 6 н. HCl. Пробирки помещали в термостат, прогретый до 110 °С. Гидролиз проводили в течение 24 часов. Подготовленные таким образом пробы анализировали на хроматографе.

Для количественного определения серосодержащих аминокислот (цистина, цистеина, метионина) материал перед кислотным гидролизом обрабатывали надмуравьиной кислотой и таким образом переводили их в устойчивые окисленные производные. Обработка надмуравьиной кислотой предотвращает неспецифические восстановительные реакции серосодержащих аминокислот при их гидролизе в присутствии соляной кислоты. Данный метод подготовки пробы к анализу основан на окислении цистина и метионина смесью перекиси водорода с муравьиной кислотой до цистеиновой кислоты и метионинсульфона, затем также проводится гидролиз соляной кислотой ($C = 6$ моль/дм³).

Следует отметить, что использование надмуравьиной кислоты для получения количественных данных по содержанию метионина, цистина и цистеина в образце приводит к частичному разрушению всех других аминокислот. По этой причине для анализа готовили два гидролизата для каждого образца: один использовали для определения метионина, цистина и цистеина, второй – для всех остальных аминокислот.

Гельпроникающая хроматография

Средневесовую молекулярную массу (M_w), среднечисловую молекулярную массу (M_n) и значения полидисперсности M_w/M_n , полученных низкомолекулярных хитозанов, определяли на хроматографе S 2100 («Sykam», Германия) при температуре 30° С с использованием колонки «Ultrahydrogel 500» (7,8×300 мм) («Waters», США) с предколонкой (4×3 мм) GFC-4000 («Phenomenex», США) в системе 0,05 М уксусной кислоты и 0,15 М ацетата аммония, при значении pH 5,2 и скорости элюции 0,5 мл/мин. Контролировали процесс разделения с помощью рефрактометрического детектора K-2301 («Knauer», Германия). Контроль и анализ хроматограмм осуществляли с помощью программы «Мультихром» (ЗАО «Амперсенд», Москва). Для калибровки колонки использовали декстрановые стандарты молекулярных масс (1080, 4440, 9890, 43500, 66700, 123600 и 196300 кДа, «Sigma», США).

Гельпроникающая хроматография обработанных в ЭПП белков проводилась в следующих условиях: хроматограф «Стайер» (Россия), колонка «Phenomenex» BioSep-Sec-S-3000 (США), калиброванная по глобулярным белкам с известными молекулярными массами (эффективность 30000 теоретических тарелок), элюент – 0,1 М фосфатный буфер,

содержащий 0,025 моль/кг KH_2PO_4 и 0,025 моль/кг Na_2HPO_4 (pH=6,86) и 0,05 % NaN_3 , скорость элюирования 1 мл/мин, температура 30°C, детектор - УФ 280 нм.

УФ-спектроскопия белковых молекул

Спектральные измерения проводили на спектрометре UV-2501(PC) CE (Shimadzu Corporation, Япония). Регистрацию спектров осуществляли в диапазоне длин волн 220-400 нм. Для получения спектров использовали растворы исходных белков и продуктов их ЭПП-обработки в деионизированной воде. В качестве оптического контроля использовали деионизированную воду.

ИК-Фурье спектроскопия отражения-поглощения белков

Спектральные измерения проводили на ИК-спектрометре "Portman Instruments" (Portman Instruments AG, Швейцария), оснащенном рабочей секцией, которая была изготовлена на основе 12-проходного кристалла ZnSe. Для получения спектров поглощения порошок исследуемого вещества насыпали тонким слоем на поверхность рабочей секции. Регистрацию первичных спектров осуществляли в диапазоне волновых чисел 500-3600 cm^{-1} . С целью увеличения разрешения и повышения информативности спектры подвергали Фурье-анализу с помощью специально разработанного программного обеспечения.

ЯМР-спектроскопия высокого разрешения

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) высокого разрешения проводили на спектрометре Bruker Avance DRX-300 (Германия) со сверхпроводящим магнитом на частоте 300 МГц для ядер протонов. Для анализа были зарегистрированы спектры на ядрах протонов – ^1H и спектры на ядрах углерода с развязкой от протонов $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$. Все измерения проведены при постоянной температуре. Спектральные параметры нативного вещества были использованы в качестве контроля. В качестве растворителя для образцов использовали смесь D_2O и DCI .

Газовая хроматомасс-спектрометрия

Для анализа бралась навеска исследуемого образца (исходный биополимер или биополимер, обработанный в ЭПП) массой 0,1 мг. Навеска подвергалась пиролизическому разложению с использованием пиролизера EGA/PY-3030D (Frontier Lab, Япония) с криоловухкой. Анализ продуктов пиролиза проводился методом газовой хроматомасс-спектрометрии на приборе GCMS-QP2010Plus (Shimadzu Corporation, Япония).

Пиролиз проводили в течение 30 с при 250 °С в среде гелия, температура криоловушки составляла –197 °С. Для хроматографирования использовали капиллярную колонку Ultra Alloy-5MS (Frontier Lab, Япония) с диаметром 0,25 мм, толщиной неподвижной фазы 0,25 мкм и длиной 30 м. Условия хроматографирования были следующие: ввод пробы с делением потока 1:50; температура устройства ввода 250 °С; газ-носитель – гелий; управление потоком газа – постоянное давление; поток через колонку 1 мл/мин; начальная температура термостата 40 °С, изотерма 5 мин; подъем температуры со скоростью 5 °С/мин; конечная температура термостата 300 °С, изотерма 10 мин; температура устройства сопряжения 250 °С; температура ионного источника 230 °С; энергия ионизации 70 эВ; напряжение на детекторе 0,8 кВ; режим работы масс-детектора: ПС (сканирование масс-спектра); диапазон сканирования масс, m/z: 30-600.

MALDI масс-спектрометрия

MALDI масс-спектрометрию продуктов ЭПП-стимулированной деградации хитозана выполняли с использованием гибридного масс-спектрометра AximaResonance (ShimadzuBiotech, Великобритания). Параметры масс-спектрометра: положительный режим ионизации, энергия лазера 100, усреднение 200 спектров. В качестве матрицы использовалась дигидроксibenзойная кислота (ДНВ) с концентрацией 10 мг/мл. Матрица растворялась в смеси 50% ацетонитрила и 50% 0,1%-водного раствора трифторуксусной кислоты.

Подготовка образца белка: навеска массой 10 мг растворялась в 1 мл 0,1%-водного раствора трифторуксусной кислоты. Образец объемом 0,5 мкл смешивался на стальной мишени MALDI с 0,5 мкл матрицы. Подготовленная проба высушивалась в вакууме.

2.4. Методы анализа биологической активности продуктов ЭПП-стимулированной деградации биополимеров

Для характеристики биологической активности продуктов ЭПП-деградации фибрин-мономера использованы методики исследования агрегационной способности тромбоцитов и оценки состояния гемостаза плазмы крови.

Приготовление биологических проб для исследования

Изучение влияния на агрегационную активность тромбоцитов *in vitro* продуктов ЭПП-стимулированной деградации фибрин-мономера было выполнено с использованием венозной крови здоровых доноров (n=200), которую получали путем пункции кубитальной вены и стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1.

Объектом исследования в экспериментах являлась богатая тромбоцитами плазма, полученная из крови доноров по стандартной методике.

Для приготовления богатой тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали в пластиковых пробирках в течение 10 мин при 1000 об/мин, после чего верхний слой плазмы переносили в другую пробирку, а остаток повторно центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин для получения плазмы, бедной тромбоцитами.

В экспериментах по исследованию влияния продуктов ЭПП-деградации фибрин-мономера на агрегацию тромбоцитов *ex vivo* и на состояние плазменного гемостаза использовали кроликов обоего пола массой 3,0-4,0 кг (n=20), которым болюсно внутривенно вводили продукты ЭПП-деградации фибрин-мономера в плазме гелия в дозах 0,5 мг/кг и 1 мг/кг. В качестве растворителя использовали стерильный физиологический раствор.

У кроликов образцы крови для оценки коагулологических параметров забирали из краевой вены уха *методом свободного падения капель*. Для этого делали надрез краевой вены уха и подносили пластиковую пробирку с 3,8% раствором цитрата натрия так, чтобы кровь свободно капала в нее. Забор крови проводили до введения продуктов ЭПП-деградации фибрин-мономера (контрольный опыт), через 10 мин, 1 час, 2 часа, 24 часа и через 5 суток после инъекции. Богатую (для исследования агрегации тромбоцитов *ex vivo*) и бедную (для оценки параметров гемостаза плазмы крови) тромбоцитами плазму готовили по описанной выше методике.

Исследование агрегации тромбоцитов

Агрегацию тромбоцитов изучали классическим и наиболее широко применяемым методом светорассеяния, предложенным J. Vorn [2.4.1, 2.4.2], на агрегометре фирмы "Chrono-Log Corporation" (США). С этой целью в кювету прибора помещали 450 мкл богатой тромбоцитами плазмы, используя в качестве оптического контроля такой же объем плазмы, бедной тромбоцитами плазмы. Число тромбоцитов в богатой плазме доводили до $250-300 \times 10^3$ /мкл путем добавления к исходному образцу бедной плазмы. Явление агрегации вызвали добавлением проагреганта в кювету, содержащую богатую тромбоцитами плазму. В качестве проагрегантов использовали аденозиндифосфорную кислоту (АДФ; «Boehringer Mannheim» (Германия)) в конечной концентрации 1×10^{-5} М. и адреналин («Reanal», Венгрия) в конечной концентрации $2,5 \times 10^{-6}$ М. О степени агрегации судили по максимальной величине падения оптической плотности после окончания реакции (A_{\max}) по сравнению с исходной величиной. Кроме того, в ряде экспериментов

определяли скорость агрегации (V) как отношение величины максимального изменения светопропускания богатой тромбоцитами плазмы (ΔT) ко времени агрегации (Δt_a).

Эксперименты по изучению влияния продуктов ЭПП-деградации фибрин-мономера на агрегацию тромбоцитов *in vitro* проводили следующим образом: в кювету, содержащую богатую тромбоцитами плазму, добавляли 50 мкл изучаемого препарата и инкубировали полученную смесь в течение 5 мин при температуре 37° С. Затем кювету с богатой тромбоцитами плазмой переносили в измерительную ячейку, добавляли проагрегант и записывали кривую агрегации в течение 5 мин. В контрольном опыте к богатой тромбоцитами плазме добавляли только индуктор агрегации. Эксперименты по изучению влияния продуктов ЭПП-деградации фибрин-мономера на агрегацию тромбоцитов *ex vivo* проводили по следующей процедуре: в измерительную ячейку агрегометра помещали кювету с образцом богатой тромбоцитами плазмы, в которую затем добавляли проагрегант, и записывали агрегационную кривую в течение 5 мин.

Определение числа тромбоцитов

Тест проводили на спектрофотометре СФ-101 (“Аквилон”, Россия).

Число тромбоцитов определяли оптическим методом, предложенным В. Walkowiak и соавторами [2.4.3]. Для этого образец крови, стабилизированный 3,8%-ым раствором цитрата натрия, сразу же после получения центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин (точно!). Богатую тромбоцитами плазму переносили в пластиковую пробирку, а оставшуюся кровь повторно центрифугировали при 3000 об/мин для получения бедной тромбоцитами плазмы. Образец богатой тромбоцитами плазмы разводили в 10 раз 0,01 М фосфатным буфером ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ и $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), содержащим 0,14 М NaCl (рН=7,3) и измеряли оптическую плотность в пластиковых кюветах при длине волны 800 нм против разведенной таким же образом бедной тромбоцитами плазмы. Исходное число тромбоцитов (контрольный опыт) было принято за 100%.

Определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)

Анализ проводили на коагулометре “Fibrinometer” («Behring», Германия). В основе метода лежит активация внутреннего пути гемостаза путем добавления к плазме фосфолипидов. При добавлении к плазме активатора (эллаговая кислота) и фосфолипидов (сои) время образования сгустка фибрина зависит от активности I, II, VIII, IX, X, XI и XII факторов. Для оценки АЧТВ в пластиковую кювету вносили 0,1 мл раствора АЧТВ-реагентСФЭ (НПО «Ренам», Россия) и 0,1 мл исследуемой цитратной плазмы. Суспензию инкубировали при температуре 37° С в течение 3 мин. После инкубации к плазменно-

фосфолипидной смеси для инициации процесса свертывания добавляли 0,1 мл прогретого при 37° С 0,025 М раствора хлорида кальция (“Behring”, Германия) и проводили оценку времени образования фибринового сгустка.

Определение протромбинового времени

Протромбиновое время измеряли по методу J. Quick [2.4.4, 2.4.5] в модификации с использованием реактива “Calcium Tromboplastin” (“Behring”, Германия) на коагулометре “Fibrintimer” («Behring», Германия).

Принцип метода состоит в следующем: инкубация плазмы с тканевым тромбопластином в присутствии ионов кальция ведет к активации факторов внешнего пути свертывания (главным образом, фактора VII) и превращает протромбин в активный фермент тромбин, превращающий фибриноген в нерастворимый фибрин. После добавления реагента “Calcium Tromboplastin”, содержащего тромбопластин и ионы кальция, к образцу плазмы начинается образование фибринового сгустка. Время формирования сгустка фибрина служит мерой активности внутреннего пути свертывания.

Для оценки протромбинового времени в пластиковую кювету вносили 0,1 мл исследуемой цитратной плазмы. Плазму инкубировали в течение 1 мин при температуре 37° С. Затем к плазме добавляли 0,2 мл “Calcium Tromboplastin” и проводили оценку времени образования сгустка фибрина.

Определение концентрации фибриногена

Количество фибриногена в плазме измеряли по методу A. Clauss [2.4.6] с использованием набора реагентов “Тех-Фибриноген тест” (“Технология-стандарт”, Россия) на коагулометре “Fibrintimer” («Behring», Германия).

Принцип метода заключается в определении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы избытком тромбина. Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику. Калибровочный график строили, измеряя время свертывания стандартной плазмы, содержащей известное количество фибриногена (2,6 г/л).

Для определения концентрации фибриногена в пластиковую кювету вносили 0,05 мл исследуемой цитратной плазмы, предварительно разведенной 0,05 М трис-НСl буфером в 10 раз, инкубировали в течение 1 мин при температуре 37° С. Затем к плазме добавляли 0,1 мл раствора тромбина и проводили оценку времени образования фибринового сгустка. Содержание фибриногена в исследуемом образце определяли по калибровочному графику.

Определение продуктов деградации фибриногена (ПДФ)

Содержание в плазме крови ПДФ определяли с использованием диагностического набора FDP Plasma (Diagnostica Stago, Франция). Принцип метода состоит в агглютинации с образованием видимых агрегатов частиц латекса, покрытых антителами к продуктам деградации фибриногена, при добавлении к ним цитратной плазмы крови, содержащей ПДФ. Концентрацию ПДФ в плазме крови оценивали методом последовательных разведений суспензии латексных частиц глициновым буфером (рН = 8,35) по таблице, прилагаемой к диагностикуму.

Исследование гемостатической активности тонких пленок и губок полисахаридов, модифицированных в ЭПП и гибридной плазме

Определение гемостатической активности пленок хитозана и губок, изготовленных из различных полисахаридов (см. раздел 2.1), модифицированных в ЭПП и гибридной плазмы проводили по методу, описанному в «Руководстве по доклиническому изучению новых фармакологических веществ», М. 2012, рекомендованному Фармкомитетом для доклинической оценки гемостатического действия потенциальных лекарственных средств [2.4.8]. В экспериментах использовали кроликов породы «Шиншилла» обоего пола массой 3,0-4,0 кг (n=50).

Основными критериями эффективности гемостатического материала было принято время остановки кровотечения (с), массу кровопотери (г) и гемостатическую активность (ГА), выраженную в процентах относительно стандарта (%). Чем выше ГА образца, тем более эффективным гемостатиком он является. За стандарт (ГА = 0,00%) принимали гемостатическую активность контрольных тампонов из марлевых салфеток, поскольку они являются наиболее доступным средством остановки кровотечения и наиболее часто используются в хирургической практике и экстремальной медицине.

Время остановки кровотечения измеряли при помощи механического секундомера, а массу кровопотери - аналитических весов с погрешностями измерения не более $0,5 \times 10^{-3}$ г. Критерием оценки момента остановки кровотечения явилось полное отсутствие проникновения крови через поверхность фиксированного на ране материала. Гемостатическую активность образца рассчитывали следующим образом: $ГА = \frac{1}{2} (t_{\text{кровотечения}} + m_{\text{кровопотери}})$, причем $t_{\text{кровотечения}}$ и $m_{\text{кровопотери}}$ были выражены в процентах относительно контроля (марли). Данный параметр позволил интегрально учитывать изменения как времени кровотечения, так и массы кровопотери, поскольку эти два важнейших для хирургической практики показателя не имеют прямой зависимости.

Характеристика антибактериальных и антимикотических свойств продуктов ЭПП-деструкции хитозанов *in vitro*

Для определения минимальной ингибирующей (МИК) и минимальной биоцидной концентраций активности образца в отношении бактерий и дрожжеподобных грибов использовался метод двойных разведений веществ в жидкой питательной среде в 12 или 96-луночных планшетах. Определяли минимальные ингибирующие (МИК) образца по отсутствию визуального роста культуры в лунках с минимальной концентрацией вещества. За минимальную биоцидную концентрацию (МБК) принимали то разведение вещества, при котором количество бактерий или дрожжеподобных грибов по сравнению с инокулятом уменьшалось на 99,9% и более (в 1000 и более раз).

Антибактериальную активность оценивали в отношении кишечной палочки (*E. coli* ATCC 25922), золотистого стафилококка (*S. aureus* ATCC 6538 P) и синегнойной палочки (*Ps. aeruginosa* ATCC 275348). Данные штаммы рекомендованы для проведения подобного рода исследований Государственной Фармакопеей [2.4.7]. Все тест-штаммы микроорганизмов получены из Государственного института стандартизации и контроля (ГИСК) им. Л.А. Тарасевича.

В работе использовали рабочий раствор продуктов ЭПП-обработки хитозана в дистиллированной воде с концентрацией 2000 мкг/мл. Определение антимикробной активности образца проводили методом двукратных серийных разведений в дистиллированной воде по следующей схеме. В 4 ряда, включающих по 11 пробирок в каждом ряду (по числу тест-микробов, в отношении которых изучалась антимикробная активность продуктов ЭПП-деструкции хитозана), разливали по 1 мл дистиллированной воды или мясо-пептонного бульона, 11-я пробирка в каждом ряду - контрольная. В каждую первую пробирку всех 4-х рядов пробирок добавляли по 1 мл исходного раствора продуктов ЭПП-обработки хитозана (2000 мкг/мл), содержимое пробирки тщательно перемешивали и переносили во вторую пробирку ряда. Эта процедура повторялась до 10-й пробирки в каждом из 4-х рядов; из последней пробирки 1мл отбрасывали.

Далее из суточных агаровых культур тест-штаммов готовили микробные суспензии из расчета 5×10^8 КОЕ/мл (по стандарту №5 ГИСК им. Л.А. Тарасевича), разводили их в 10 раз, получая суспензии с концентрацией микробных клеток 5×10^7 КОЕ/мл. В каждую пробирку ряда вносили по 0,1 мл полученной суспензии. В качестве контроля использовали взвесь 0,1 мл суспензии тест-штаммов в 1 мл дистиллированной воды. Приготовленные смеси в пробирках инкубировали в термостате при 37 °С.

Изменения pH среды в пробирках не наблюдали. Через 3 и 24 часа инкубации в термостате пробирок с посевами проводили высевы, в т.ч. и из контрольных пробирок. Для этого из каждой пробирки отбирали пробу по 1 бактериальной петле и высевали на сектора в чашках Петри с агаром Мюллер-Хинтона. Учет результатов производили визуально путем сравнения степени роста тест-штаммов в контрольных и опытных секторах чашек Петри.

Для оценки антимикотических свойств в широком диапазоне значений pH (5,50-8,00) была подобрана буферная система на основе смеси органических кислот: морфолинэтансульфоновой, N-(2-ацетамидо)-2-аминоэтансульфоновой, 2-[трис(гидроксиметил)метиламино]-1-этансульфоновой, способная поддерживать заданное значение pH среды в диапазоне от 5,5 до 8,0. Исследовалась антимикотическая активность хитозанов в отношении мицелиальных грибов - *Penicillium tardum*, *Penicillium chrizogenum*, *Penicillium crustozum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Phoma betae*, *Cladosporium herbarum*, *Mucor pusillus*, *Trichoderma harzianum* и дрожжеподобных грибов - *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida scotti*, *Torulopsis candida*, *Saccharomyces cerevisia*, *Rhodotorula rubra*.

Исследование фитостимулирующей активности хитоолигосахаридов, полученных при ЭПП-деструкции хитозана

Исследование фитостимулирующей активности продуктов ЭПП-гидролиза хитозана ($M_v=500$ кДа) проводили на растениях семейства капустные *Arabidopsis thaliana* (резуховидка Таля), которые широко используются в качестве модельного организма для изучения биологии развития растений [2.4.9-2.4.11].

Растения были разделены на контрольные и опытные группы, в каждую из которых входило по 10 объектов. Эксперименты проводили по следующей схеме: семена растений помещали в 96-луночные планшеты, заполненные питательным фитагелем (PhytageTM BioReagent, "Sigma-Aldrich", Германия), и выдерживали в течение 12 часов при 4 °C, а затем - в специальном инкубаторе при 20 °C в течение 3-х суток в режиме 16/8 (день/ночь) часов. На четвертые сутки к питательной среде опытных групп растений добавляли по 150 мкл 0,025% и 0,1% водных растворов хитоолигосахаридов, полученных при ЭПП-деструкции хитозана; к контрольным группам добавляли соответствующее количество дистиллированной воды. Через 7 дней у контрольных и опытных растений оценивали длину сформировавшихся корней.

Статистический анализ

Статистический анализ данных коагулологических исследований проводили в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t -критерия Стьюдента или критерию χ^2 [2.4.12]. Статистический анализ данных, полученных при исследовании фитостимулирующей активности хитоолигосахаридов проводили, используя метод Шидака-Холма [2.4.12]. Различия между сравниваемыми величинами считались достоверными при уровнях значимости не менее 95%.

2.5. Методы анализа структуры покрытий, полученных ЭПП-стимулированным синтезом

Сканирующая электронная микроскопия и энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (EDS)

Сканирующая электронная микроскопия выполнялась с помощью микроскопа FEI Quanta 200 с системой микроанализа EDAX Trident XM4 (FEI Company, США). Исследуемые образцы помещались в камеру Quanta 200 без какой-либо предварительной подготовки. На образцах случайным образом выбирали три поля, которые фотографировали при увеличениях $\times 300$, 600 , 2000 , 3000 , 6000 и $30\ 000$. Все исследования проводили при ускоряющем напряжении 5 кВ .

Одновременно проводили энергодисперсионную рентгеновскую спектроскопию для установления элементного состава контрольных образцов и образцов, полученных в результате плазмохимической обработки.

ИК-Фурье спектроскопия отражения-поглощения плоских титановых образцов

ИК-спектры отражения-поглощения регистрировали на ИК-Фурье спектрометре Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR spectrometer (PerkinElmer, США), оснащенный рабочей секцией PIKE Technologies specular VeeMAXTM в диапазоне волновых чисел $450\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ и разрешением 4 см^{-1} .

Использовали метод отражения-поглощения [2.5.1, 2.5.2] при падении p -поляризованного ИК-излучения под углом 70° на поверхность образца. Спектры были измерены по отношению к отражательной способности референтного исходного титанового образца, не подвергнутого кислотному травлению или плазмохимическому воздействию. Полосы поглощения синтезированных оксидных пленок на металлических подложках идентифицировали как селективные уменьшения коэффициента отражения. Идентификация полос поглощения проводилась на основании справочной литературы [2.5.3-2.5.8].

Рентгеновская дифрактометрия поверхностного слоя, синтезированного на внутренней поверхности титановой трубы

Для исследования из различных зон образца вырезались фрагменты с размерами $10 \times 10 \text{ мм}^2$.

Рентгеновская съемка осуществлялась на дифрактометре ДРОН-3 (Россия). Поскольку толщины анализируемых слоев малы, использовался метод съемки под малым углом (метод скользящего пучка). При этом угол падения первичного рентгеновского пучка составлял 5° . Запись дифракционных линий осуществлялась в режиме сканирования: шаг сканирования – $0,1^\circ$, время набора импульсов в каждой точке зависело от толщины поверхностного слоя и обычно составляло ≈ 15 сек. Рентгеновскую съемку выполняли в монохроматизированном CoK_α излучении при ускоряющем напряжении 30 кВ и анодном токе 10 мА. Кристалл-монохроматор, в качестве которого использовался пиролитический графит, устанавливался на пути вторичного (дифрагированного) пучка лучей. Дифракционную картину регистрировали в диапазоне углов рассеяния ($2\theta = 10\text{--}130^\circ$). Точность измерения межплоскостных расстояний составляет $\pm 0,0001$ нм. Экспериментально измеренные значения межплоскостных расстояний и интенсивности дифракционных линий рентгеновского излучения, рассеянного от изучаемого объекта, сравнивались с соответствующими значениями справочных стандартов картотеки [2.5.9].

Оже-спектроскопия поверхностного слоя, синтезированного на внутренней поверхности титановой трубы

Исследовали фрагменты титановой трубы с размерами $10 \times 10 \text{ мм}^2$, вырезанные из различных зон образца. Оже-спектры снимались с помощью сканирующего Оже-нанозонда РНИ-700 (РНИ, США). Перед снятием спектров исследуемые фрагменты подвергались очистке потоком ионов аргона в течение 2 минут.

Спектроскопия комбинационного рассеивания света

Рамановские спектры были записаны на спектрометре комбинационного рассеивания света Horiba Jobin Yvon T64000 (Horiba Jobin Yvon IВN Ltd., Япония) с CCD-детектором, охлаждаемым жидким азотом. В качестве монохроматического источника света использовали аргоновый лазер с длиной волны возбуждения 488 нм. Мощность лазера, падающего на поверхности исследуемого образца, составляла 50 мВт. Фокусировка лазера осуществлялась объективом X100. Типичная ширина спектральной линии $0,5 \text{ см}^{-1}$. Для каждого измерения выполнялось трехкратное сканирование,

результаты которого усреднялись. Для идентификации использовалась база данных, содержащая стандартные спектры различных соединений.

2.6. Методы анализа биологической активности покрытий и материалов, полученных ЭПП-стимулированным синтезом

Измерения контактного угла смачивания

Гидрофильно-гидрофобные свойства поверхности образцов являются важнейшим фактором, определяющим биологические свойства материала (по крайней мере, применительно к задачам повышения биосовместимости костных и дентальных имплантатов), поскольку именно они влияют на степень контакта с межклеточной жидкостью, кровью и тканями организма, формирование гидроксиапатита, степень адгезии и пролиферации костных клеток, клеток крови и белков, активирующих ее свертывание.

Гидрофильность синтезированных оксидных покрытий, а также пленок и губок полисахаридов, модифицированных в ЭПП, была охарактеризована путем измерения статического краевого угла смачивания для дистиллированной воды методом падающей капли. Использовали оптический прибор CAM101 фирмы KSV Instruments LTD (Финляндия).

Измерения проводили при комнатной температуре и относительной влажности 45%. Каплю деионизированной воды объемом приблизительно 3 мкл помещали на титановый образец с использованием резьбового плунжера микрошприца (Hamilton, США). Краевой угол каплей на поверхности образца определяли на правой и левой стороне капли с помощью программы анализа изображений с точностью $\pm 0,1^\circ$. Независимые измерения проводились для 3 капель на каждой плоской подложке, а затем вычислялось среднее значения угла смачивания.

Измерения угла смачивания проводили сразу после ЭПП-обработки и через 24, 48 часов и 1, 2 и 3 недели, чтобы исследовать деградацию гидрофильности образцов с течением времени. Экспериментальные данные статистически анализировали с помощью критерия Стьюдента; *p*-значения меньше, чем 0,05 считались достоверными.

Преципитация гидроксиапатита на поверхности плоских титановых образцов

Биологическую совместимость поверхности образцов с внутренней средой живого организма можно косвенно оценить *in vitro* с помощью их способности преципитировать

гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ (основной неорганический компонент костной ткани, зубной эмали и дентина) [2.6.1, 2.62].

Для характеристики биосовместимости плоские титановые образцы (контрольные - исходный, обработанный в смеси кислот, и опытные - после пучково-плазменной обработки) инкубировали в растворе, моделирующем состав межклеточной жидкости организма (SBF) [2.6.1, 2.62].

Таблица 2.6.1. Концентрации ионов в растворе, моделирующем состав межклеточной жидкости организма (SBF) и плазме крови человека [2.6.1, 2.62]

Ион	Концентрация, ммоль/дм ³	
	SBF	Плазма крови человека
Na^+	142,0	142,0
K^+	5,0	5,0
Mg^{2+}	1,5	1,5
Ca^{2+}	2,5	2,5
Cl^-	147,8	103,0
HCO_3^-	4,2	27,0
HPO_4^{2-}	1,0	1,0
SO_4^{2-}	0,5	0,5

Ионные концентрации SBF практически равны таковым в плазме крови человека [ссылка статья венгрия]. SBF готовили путем растворения химически чистых NaCl , NaHCO_3 , $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и Na_2SO_4 (все реагенты «Sigma», Германия) в деионизированной воде и доводили pH раствора до 7,40 при 37 °C трис-гидроксиметиламинометаном $[(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2]$ и 1 М HCl. Сравнение составов SBF и плазмы крови человека приведены в таблице 2.6.1.

После инкубирования в SBF в течение двух недель при температуре 37 °C образцы извлекали, промывали деионизированной водой и сушили при комнатной температуре. Образовавшийся гидроксиапатит анализировали с помощью ИК-Фурье спектроскопии отражения-поглощения (см. раздел 2.5).

ГЛАВА III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И МАТЕРИАЛОВ В ЭЛЕКТРОННО-ПУЧКОВОЙ ПЛАЗМЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМЫ В УСЛОВИЯХ ПРОВЕДЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

В настоящей главе описаны конструкция и функционирование базовой модификации экспериментального пучково-плазменного реактора (ЭППР), для исследования физико-химических процессов получения биоактивных соединений и материалов в ЭПП, работа его отдельных подсистем и их интеграция в единую систему. Для условий, реализуемых в данном реакторе, охарактеризованы общие свойства ЭПП и наиболее значимые элементарные процессы, происходящие в ЭПП различного химического и фазового состава. Особенности конструктивных и схемных решений комплекса, обусловленные спецификой решавшихся технологических задач, а также конкретные условия, в которых проводились соответствующие эксперименты, рассматриваются в других разделах диссертации.

3.1. Состав и общая компоновка комплекса

Экспериментальный комплекс объединяет в единую систему генератор ЭПП, реакционную камеру, системы позиционирования ЭП и формирования плазмообразующей среды, диагностическую аппаратуру, вакуумную станцию, а также вспомогательные системы (охлаждения, радиационной защиты, вентиляции и некоторые другие). Таким образом, комплекс представляет собой сложную плазмотехническую систему, которая позволяет контролировать процессы и управлять условиями осуществления плазмохимических реакций как в объеме ЭПП, так и в гетерогенной области (на поверхности твердого тела и/или порошка, внесенного в реакционный объем). С целью анализа экспериментальный комплекс может быть декомпозирован на следующие подсистемы (см. рис. 3.1.1):

- Генератор ЭПП, состоящий из следующих элементов:
 - Электронно-лучевая пушка;
 - Высоковольтный источник питания;
 - Выводное окно;
 - Высоковакуумная камера.
- Вакуумная станция, в состав которой входят:
 - Сухие механические насосы низкого вакуума;
 - Паромасляные насосы высокого (промежуточного) вакуума;

- Вакуумные магистрали и запорная вакуумная арматура;
- Вакуумметры различных диапазонов.
- Реакционная камера с элементами ее сопряжения с другими системами экспериментальной установки, оснащенная люками, окнами различного назначения, а также рабочими органами и дополнительными элементами внутренней и наружной оснастки.
- Система формирования газофазного реакционного объема (плазмообразующей среды), интегрированная из следующих элементов:
 - Генераторы плазмообразующего газа (пара) и/или баллоны с плазмообразующим газом;
 - Система регулирования и поддержания полного давления плазмообразующего газа в реакционной камере;
 - Система регулирования и поддержания компонентного состава плазмообразующей среды;
 - Элементы сопряжения системы формирования плазмообразующей среды с другими системами установки.
- Диагностический комплекс:
 - Система измерения температуры образцов;
 - Система контроля состава газофазного реакционного объема;
 - Система эмиссионной спектроскопии.
- Система управления:
 - Блок управления генератором ЭПП;
 - Блок управления системой позиционирования плазменного облака;
 - Блок управления системой формирования реакционного объема;
 - Блок управления рабочими органами реакционной камеры.

Кроме перечисленных, в состав экспериментальной установки входит ряд вспомогательных систем:

- Система охлаждения;
- Радиационная защита;
- Система вентиляции;
- Система блокировок.

Вспомогательные системы обеспечивают длительную непрерывную работу экспериментального комплекса, безопасность обслуживающего персонала и аварийные блокировки при возникновении нештатных ситуаций.

Состав и характеристики каждой из систем, входящих в состав экспериментального комплекса, приведены в таблицах 3.1.1 и 3.1.2; они также иллюстрируются схемами и рисунками настоящей главы.

Комплекс управляется компьютерами, объединенными в локальную сеть, которые получают информацию с датчиков, регистрирующих параметры работы всех подсистем установки, и выдают управляющие команды исполнительным элементам этих подсистем. Таким образом, комплекс позволяет проводить физические и технологические эксперименты в автоматическом или полуавтоматическом режиме.

Общий вид экспериментального комплекса и его основных элементов показан на рис. 3.1.2 и 3.1.3, а его функциональная схема представлена на рис. 3.1.4.



Рис. 3.1.1. Блок-схема экспериментального комплекса

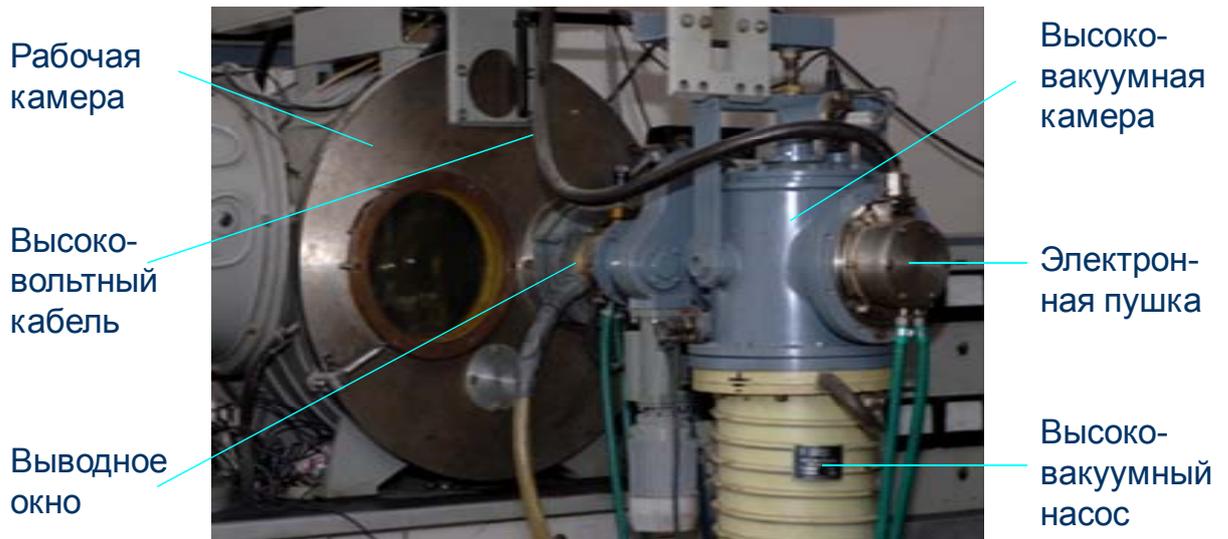


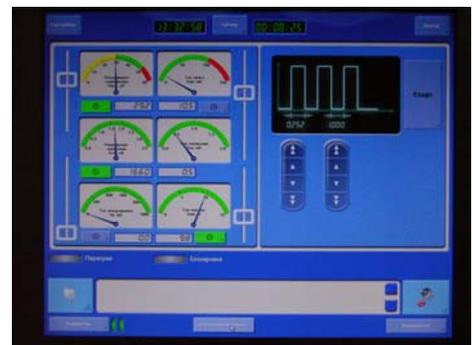
Рис. 3.1.2. Общий вид экспериментального пучково-плазменного реактора



а)



б)



в)

Рис. 3.1.3. Общий вид некоторых элементов экспериментального пучково-плазменного реактора:

а) – приборная стойка с блоком управления электронным пучком БУЭП-1, высоковольтным источником питания и компьютером, управляющим генератором электронного пучка; б) – электронно-лучевая пушка, в) – сенсорная панель управления генератором электронного пучка

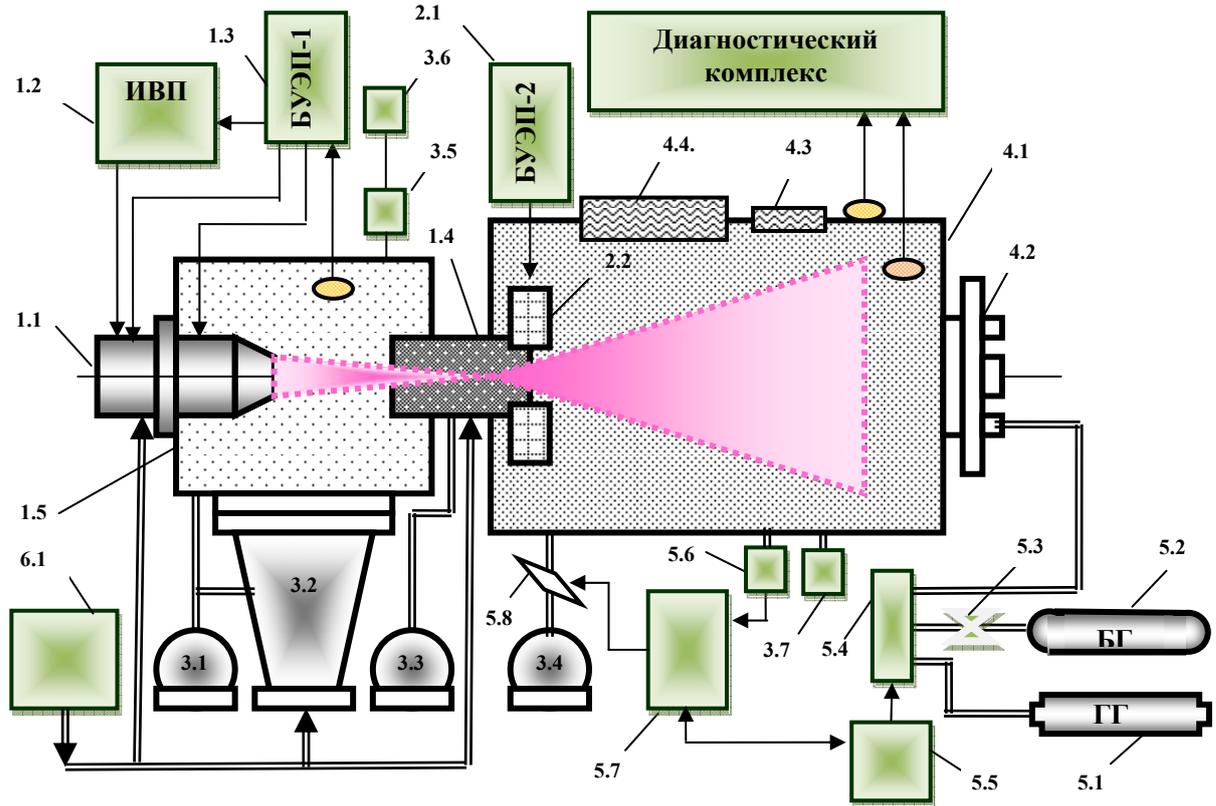


Рис. 3.1.4. Функциональная схема экспериментального комплекса: обозначения на схеме поясняются в тексте и соответствуют обозначениям в таблице 3.1.1.

3.2. Генератор электронно-пучковой плазмы

Главным элементом комплекса является генератор ЭПП, формирующий реакционный объем инъекцией электронного пучка (ЭП) в плазмообразующий газ или в газообразную среду, содержащую диспергированные порошки различных веществ в виде либо пылевого облака, либо упорядоченных плазменно-пылевых структур. Генератор ЭПП объединяет электронно-лучевую пушку, высоковольтный источник питания и выводное устройство (ВУ).

Электронно-лучевая пушка КЭП-2М-1 1.1 (рис. 3.1.4) триодного типа с термоэмиссионным катодом, изготовленным из LaB_6 , установлена в высоковакуумной камере 1.5 и через высоковольтный кабель питается от источника SR6/60 (Spellman, США), который вырабатывает стабилизированное высокое напряжение отрицательной полярности; максимальная мощность источника – 6 кВт.

Величина ускоряющего напряжения пушки и сила тока пучка регулируется специальным блоком управления ЭП, обозначенным на схеме БУЭП-1, который предназначен для контроля режимов работы пушки и высоковольтного источника питания, а также для поддержания специальных режимов работы генератора ЭПП,

например, импульсно-периодических режимов, режимов с модуляцией или сканированием ЭП. Диапазон регулировок ускоряющего напряжения U лежит в пределах 20–60 кВ, а ток ЭП I_b может варьироваться от нуля до 200 мА.

Работа БУЭП-1 поддерживается специальным компьютером, который через микропроцессорные модули вырабатывает управляющие сигналы для высоковольтного источника питания и формирует постоянное или импульсно-периодическое напряжение смещения, подаваемое на сеточный электрод электронной пушки. Частота следования импульсов в импульсно-периодическом режиме работы генератора ЭПП регулируется в диапазоне 1–1000 Гц, а длительность паузы между импульсами – $1-10^{-3}$ с. Характерное время спада тока пучка при его отключении (крутизна заднего фронта импульса ЭП) не превышает 20 мкс, что позволяет проводить эксперименты в условиях распадающейся плазмы [3.2.1].

Рис. 3.1.4 иллюстрирует также принцип действия пучково-плазменного реактора. Электронный пучок формируется внутри высоковакуумной камеры 1.5 (давление внутри камеры порядка 10^{-5} Торр) электронной пушкой 1.1 и фокусируется во входном сечении канала газодинамического выводного окна 1.4. С помощью этого окна ЭП инжектируется в рабочую (реакционную) камеру 4.1, в которую подаются компоненты плазмообразующей среды.

В результате взаимодействия ЭП с плазмообразующей средой в камере 4.1 формируется облако электронно-пучковой плазмы, форма и размеры которого определяются характеристиками электронного пучка (силой тока пучка и ускоряющим напряжением пушки), давлением и химическим составом плазмообразующей среды, а также особенностями конструкции выводного окна.

Для управления положением плазменного облака используется устанавливаемая на выходе выводного окна электромагнитная система 2.2, способная отклонять ось инжекции пучка по осям x и y , перпендикулярным оси инжекции z . Электромагнитная система управляется контроллером электронного пучка, обозначенным на схеме БУЭП-2, который может формировать растры различной формы (линейная развертка, прямоугольник, круг и др.) в плоскости (xy).

Конструкция и принцип действия ВУ, через которое осуществляется инжекция ЭП в реакционную камеру, иллюстрируются рисунком 3.2.1. ВУ представляет собой газодинамическое окно с двумя графитовыми вставками 6 и 7, запрессованными во входную и выходную секции корпуса и обращенными соответственно к высоковакуумной и реакционной камерам установки. Графитовые вставки имеют продольные профилированные каналы с диаметром минимального сечения ≈ 1 мм. Именно эти каналы

обеспечивают повышение давления вдоль тракта проводки пучка с $\sim 10^{-5}$ Торр в высоковакуумной камере до рабочего давления в реакционной камере (10^{-2} - 10^2 Торр).

Наклонная перегородка 2 разделяет пространство между вставками на два объема, которые независимо откачиваются форвакуумными насосами через патрубки 3 и 5. Таким образом, ВУ представляет собой двухступенчатую шлюзовую систему с дифференциальной откачкой. Сфокусированный ЭП проходит последовательно через канал входной вставки 6, отверстие в наклонной перегородке 2, канал выходной вставки 7 и попадает в реакционную камеру.

В обратном направлении по тракту ВУ течет поток плазмообразующего газа, часть которого достигает высоковакуумной камеры. Оптимизация конструкции ВУ позволила добиться высокого прохождения ЭП ($\approx 75\%$ мощности на входе в ВУ), при этом натекание плазмообразующего газа в высоковакуумную камеру компенсируется откачкой газа с помощью паромасляного насоса (поз. 3.2 на рис. 3.1.4).

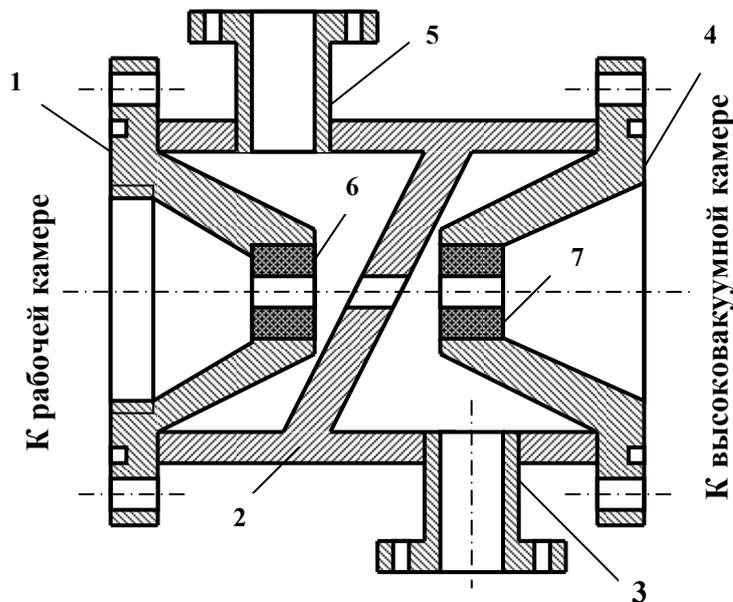


Рис. 3.2.1. Конструкция выводного устройства: 1, 4 – конические крышки; 2 – корпус с наклонной перегородкой; 3, 5 – патрубки с фланцами; 6, 7 – графитовые вставки

3.3. Реакционная камера

В лабораторных образцах пучково-плазменных реакторов использовались цилиндрические или прямоугольные рабочие камеры с объемом $\sim 0,1$ - $0,5$ м³, сваренные из стали Х18Н12Т. На рис. 3.3.1 показана конструкция универсальной реакционной камеры, на которой проведена значительная часть описываемых ниже экспериментов.

Цилиндрический корпус 10 реакционной камеры снабжен плоскими откатными крышками 5 и 13. На крышке 13 с помощью сильфонного узла 1 устанавливаются ВУ и

электронно-лучевая пушка (на рисунке не показаны). В случае необходимости эта крышка может быть отодвинута с помощью откатного устройства. На этой же крышке имеется радиационно-защищенное смотровое окно *15*, изготовленное из стекла ТФ-5, которое служит для визуального наблюдения и видеозаписи экспериментов.

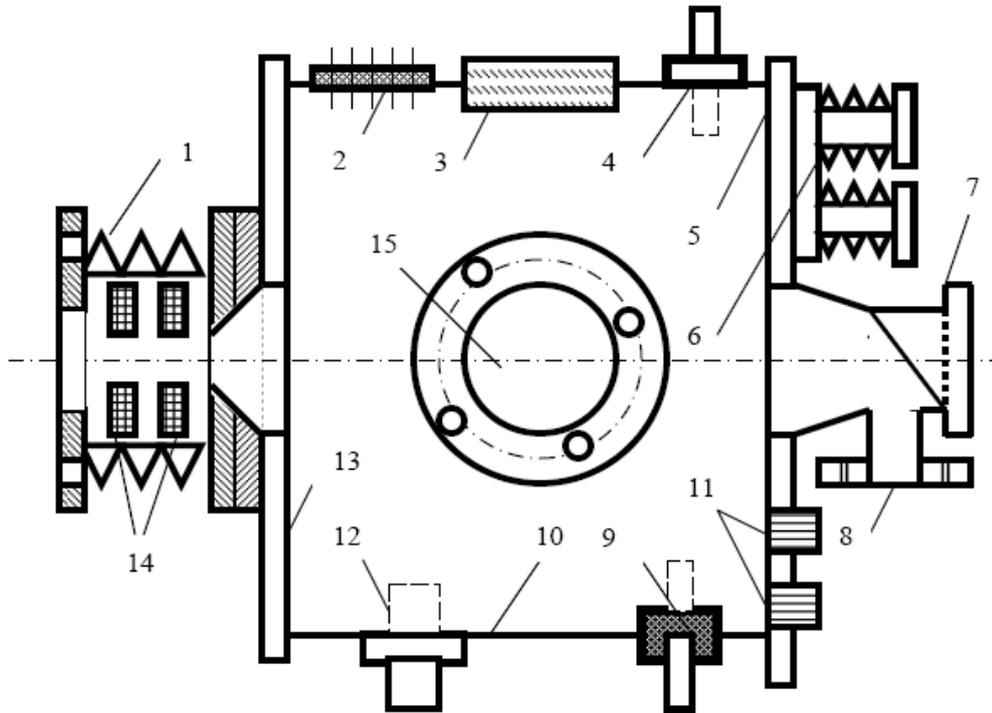


Рис. 3.3.1. Конструкция реакционной камеры:

1 – сильфонный узел в сборе; *2* – герметичный низковольтный разъем; *3* – окно для оптических измерений; *4* – патрубок подачи плазмообразующего газа; *5*, *13* – крышки рабочей камеры; *6* – СВЧ-вводы; *7* – охлаждаемый поглотитель электронов; *8* – вакуумный трубопровод; *9* – герметичный ВЧ-разъем; *10* – корпус рабочей камеры; *11* – оптоволоконная шайба; *12* – вакуумметрический датчик; *14* – отклоняющая система; *15* – радиационно-защищенное окно.

На противоположной крышке *5* реакционной камеры смонтирован узел *8*, предназначенный для соединения камеры с вакуумной магистралью и конструктивно объединенный с охлаждаемым поглотителем быстрых электронов *7*. На внутренней плоскости поглотителя может быть установлен цилиндр Фарадея, используемый при юстировке электронно-оптической системы установки, а также для измерения тока пучка, инжестируемого в реакционную камеру. Когда камера разгерметизирована, крышка *5* может быть отодвинута от корпуса, при этом открывается доступ к элементам внутренней оснастки камеры. Подвижность крышки *5* обеспечивается гибким сильфонным шлангом

(на рис. 3.3.1 не показан), соединяющим фланец присоединительного узла 8 с вакуумной системой.

Для подключения к внешним системам камера снабжена:

- Несколькими патрубками для подачи газообразных компонентов плазмообразующей смеси 4.
- Герметичным многостырьковым низковольтным разъемом 2 для подачи питания на элементы внутренней оснастки камеры и для передачи сигналов от размещенных внутри нее сенсоров на внешние приборы.
- Многофункциональными гермовводами через которые осуществлялся ввод/вывод оптических и электрических (высоковольтных, низковольтных, высокочастотных) сигналов; через гидравлические и механические вводы производилась подача жидкостей и механического движения внутрь камеры.
- Оптоволоконными шайбами 11, предназначенными для ввода внутрь камеры световодов, которые применялись при оптических измерениях.

Внутри камеры могут быть смонтированы различные элементы внутренней оснастки, среди которых следует особо отметить следующие:

- Электродные системы, предназначенные для поддержания газовых разрядов различных частотных диапазонов и формирования внутри реакционной камеры так называемых плазменных ловушек – зон со специальным распределением напряженности электромагнитного поля.
- Первичные сенсоры системы диагностики плазмы, в том числе – СВЧ-резонатор для измерения концентрации электронов в ЭПП.
- Диспергирующие устройства, используемые для создания аэрозольных плазмообразующих сред.
- Сопловые устройства и дефлекторы, формирующие локальные потоки газа или пара внутри рабочей камеры.
- Электромеханические и/или пневматические манипуляторы для перемещения элементов внутренней оснастки камеры.

3.4. Система формирования газофазного реакционного объема

К пневматическим вводам реакционной камеры также подключалась система подачи плазмообразующих газов (рис. 3.1.4, таблица 3.1.1). Главным элементом этой системы является контроллер подачи газов (КПГ) – автоматическое устройство, предназначенное для вдува в камеру газообразных или паровых компонентов плазмообразующей смеси от газового баллона (БГ) и/или паро-газогенератора (ГГ). Это

же устройство управляет мотыльковым клапаном (позиция 5.8 на рис. 3.1.4), регулирующим производительность откачки газов из реакционной камеры. Таким образом, внутри реакционной камеры в автоматическом режиме в течение длительного времени (1 час и более) поддерживается постоянное по величине (с точностью $\pm 5\%$) полное давление плазмообразующей среды с заданным соотношением парциальных давлений ее компонент. Это является чрезвычайно важным для поддержания постоянства условий осуществления плазмохимических реакций, протекающих в газофазном реакционном объеме и на поверхности обрабатываемых массивных образцов или частиц конденсированной дисперсной фазы.

Вакуумметрические преобразователи 5.6, в качестве которых использовались баратроны абсолютного давления серий 626 и 627 (MKS Instruments, Германия), способны работать как самостоятельно, так и в составе системы автоматического регулирования и поддержания давления и перекрывают широкий диапазон давлений – $P_m = 0,01-100$ Торр.

Непрерывная откачка газов из реакционной камеры осуществляется сухим механическим форвакуумным насосом 3.4. Форвакуумные насосы 3.3 (2 шт.) обеспечивают работу шлюзовой системы выводного окна, а насос 3.1 является насосом предварительного разряжения для высоковакуумного насоса 3.2, диффузионного или турбомолекулярного, который поддерживает давление в камере 1.5, необходимое для устойчивой работы электронной пушки 1.1.

3.5. Диагностический комплекс

Внутри и снаружи высоковакуумной и реакционной камер находятся различные сенсоры (вакуумметры, датчики температуры, измерители тока пучка и др.), которые контролируют работу реактора и снимают информацию о процессах, протекающих в рабочей камере. Эта информация передается на компьютеры диагностического комплекса, где обрабатывается и хранится. В состав диагностического комплекса также входят оптические спектрометры УФ-, видимого и ИК-диапазонов, масс-спектромер, оптический пирометр и ряд других приборов.

При выполнении экспериментов непрерывно регистрировались и записывались в память главного компьютера значения ускоряющего напряжения U , тока ЭП на входе в ВУ, I_{b0} , полного давления в реакционной камере, P_m , а в экспериментах с плазмой многокомпонентных газовых смесей – и объемные расходы ее компонентов.

Величина тока ЭП, прошедшего ВУ, I_b , измерялась цилиндром Фарадея, смонтированным на задней крышке реакционной камеры. Измерения I_b проводились при

достаточно глубокой откачке камеры ($P_m < 0,1$ Торр), когда плазма остаточного газа не искажает показания цилиндра Фарадея.

Была разработана система измерения температуры обрабатываемого образца. В экспериментах с порошкообразными образцами чувствительным элементом системы являлся миниатюрный датчик температуры Honeywell HEL-700 (Honeywell, США), который размещался непосредственно над поверхностью монослоя порошка, насыпанного на дно контейнера (см. раздел 5.1). Термодатчик через микропроцессорный блок включался в цепь обратной связи блока управления пучком и в автоматическом режиме поддерживал постоянную, наперед заданную температуру образца посредством регулировки силы тока ЭП. Температура поверхности пластин и труб, также использовавшихся в качестве образцов (см. раздел 6.1), измерялась пирометром Optris LS (Optris, Германия) через ИК-прозрачное окно, изготовленное из селенида цинка. Сигнал с пирометра через аналого-цифровой преобразователь выводился на компьютер, предназначенный для накопления и обработки результатов измерений.

Блок схема диагностического комплекса, на которой показаны его основные элементы, представлена на рис. 3.5.1.

Для контроля состава газовой среды в реакционной камере была отработана система оптической диагностики ЭПП, основными элементами которой были спектрометры Avaspec-2048-2 и Avaspec-NIR256-1,7 (Avantes, Нидерланды). Первый из них имеет рабочий диапазон длин волн от 200 нм до 1100 нм, а второй работает в ближнем ИК-диапазоне 900-1759 нм. Для каждого из спектрометров излучение, эмитированное некоторым объемом плазмы, собиралось коллимационными линзами, установленными на одном из концов оптоволоконной линии; второй конец линии подключался на вход спектрометра. Проход оптоволоконной линии через стенку реакционной камеры осуществлялся посредством специальной оптоволоконной шайбы. Оба спектрометра вместе с оптоволоконными линиями и коллимационными линзами калибровались по источнику излучения Avaspec-AvaLight Hal (Avantes, Нидерланды).

На рис. 3.5.2 в качестве примера приведен экспериментально снятый спектр ЭПП кислорода. Для сравнения на том же рисунке показан спектр излучения воздушной ЭПП. В кислородной ЭПП наиболее интенсивной является линия атомарного кислорода O с характерной длиной волны $\lambda = 7771 \text{ \AA}$ (в действительности – это триплет перехода $3s^5 S^0 - 3p^5 P$ с $\lambda = 7775,4; 7774,2$ и $7771,9 \text{ \AA}$). Также в спектре присутствуют и другие достаточно интенсивные линии, принадлежащие атомарному кислороду, с $\lambda = 6156; 8221$ и 8446 \AA . Серия линий, с длинами волн 5200; 5600, 6000 и 6350 \AA характеризует излучение в первой отрицательной системе ионов кислорода O_2^+ . В спектре ЭПП воздуха помимо линий,

принадлежащих различным формам кислорода, идентифицируется излучение в первой отрицательной системе N_2^+ с $\lambda = 4278,1$ и $4709,2 \text{ \AA}$.

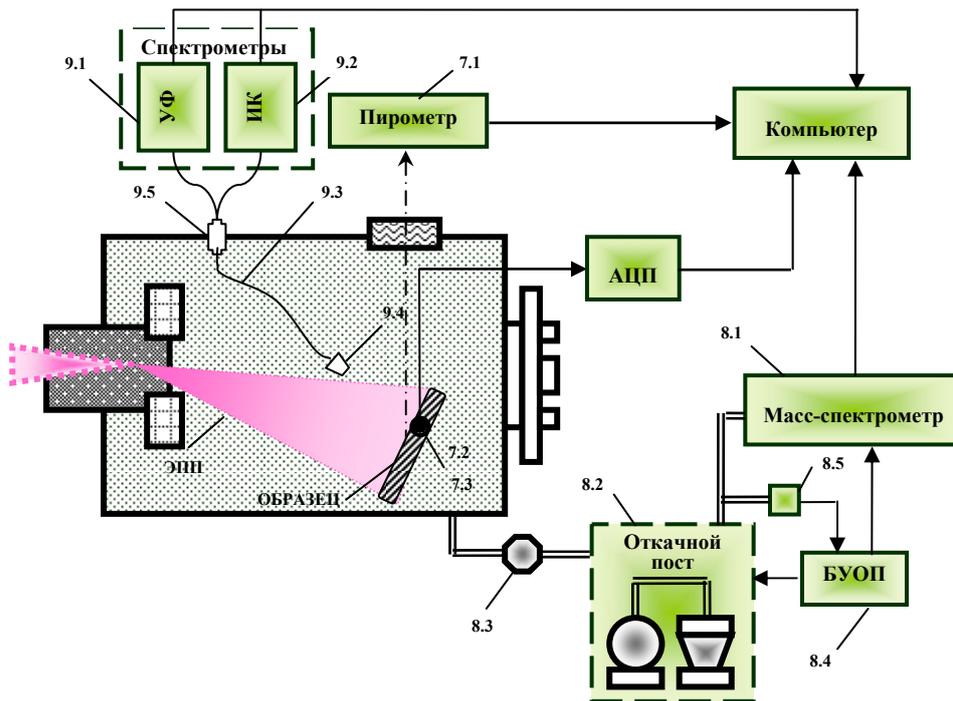


Рис. 3.5.1. Блок схема диагностического комплекса: 7.1 – оптический пирометр Optris LS, (Optris GmbH, Германия); 7.2 – термопара; 7.3 – терморезистор HEL-775 (Honeywell International Inc., США); 8.1 – масс-спектрометр HALO 201-RC (Hiden Analytical, Великобритания); 8.2 - вакуумный откачной пост HiCube 80 Eco (Pfeiffer Vacuum GmbH, Германия); 8.3 - сверхвысоковакуумный миниатвор (Vacuumvalves AG, Швейцария); 8.4 - блок управления откачным постом (Pfeiffer Vacuum GmbH, Германия); 8.5 – баратрон PKR 251 (Pfeiffer Vacuum GmbH, Германия); 9.1 – спектрометр видимого и УФ-диапазонов AvaSpec-2048-2 (Avantes, Нидерланды); 9.2 – ИК-спектрометр AvaSpec-NIR256-1.7 (Avantes, Нидерланды); 9.3 – оптоволоконный кабель; 9.4 - коллимационная линза; 9.5 - вакуумный переходник для УФ(ИК); обозначения элементов на рисунке соответствуют их обозначениям в таблице 3.1.2.

На рис. 3.5.3 представлен спектр излучения ЭПП водяного пара при $E_b = 40 \text{ кэВ}$, $I_b = 20 \text{ мА}$ и $P_m = 6 \text{ Торр}$, в котором наиболее интенсивным является излучение атомарного водорода с $\lambda = 6562,6$ и $4863,1 \text{ \AA}$. Также регистрируются пики, характеризующие атомарный кислород, однако их интенсивность заметно меньше, чем в ЭПП кислорода или воздуха.

Химический состав газообразных плазмообразующих сред в непрерывном режиме контролировался масс-спектрометром HALO 201-RC (Hiden Analytical, Великобритания), который имел собственный откачной пост и устройство редуцирования давления (позиция

8.5 на рис. 3.5.1). В качестве примера на рисунке 3.5.4 представлен масс-спектр аммиака, который использовался в некоторых экспериментах как плазмообразующий газ.

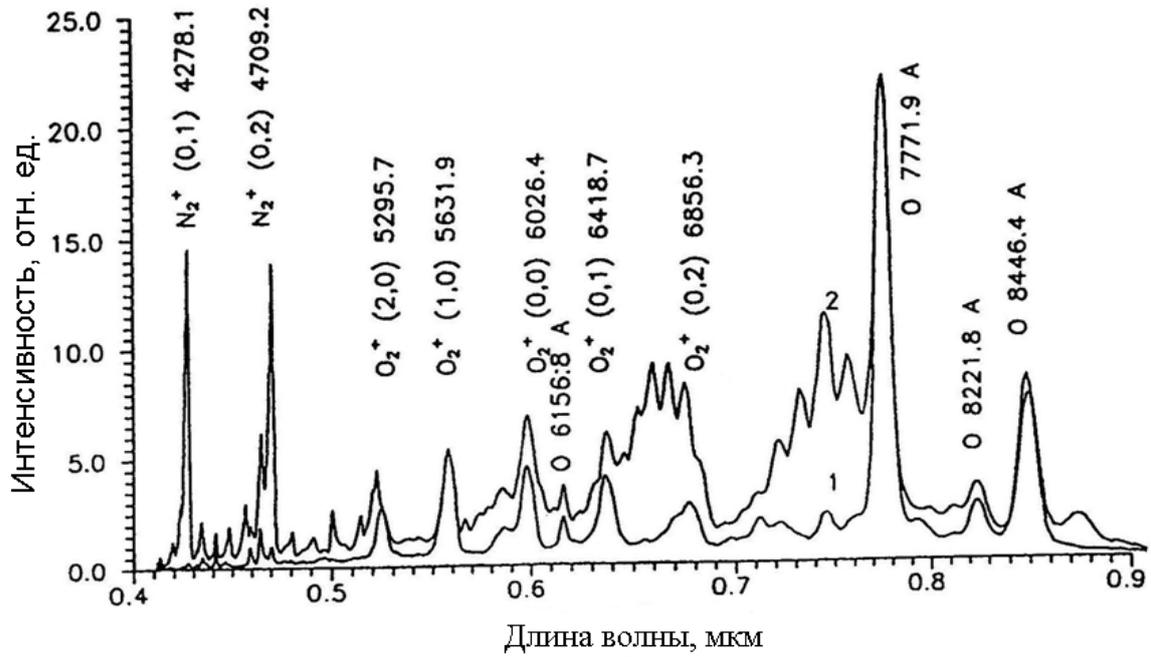


Рис. 3.5.2. Спектры излучения ЭПП кислорода (1) и воздуха (2).

Условия эксперимента: $E_b = 40$ кэВ, $I_b = 15$ мА и $P_m = 12$ Торр и 6 Торр для кислорода и воздуха соответственно.

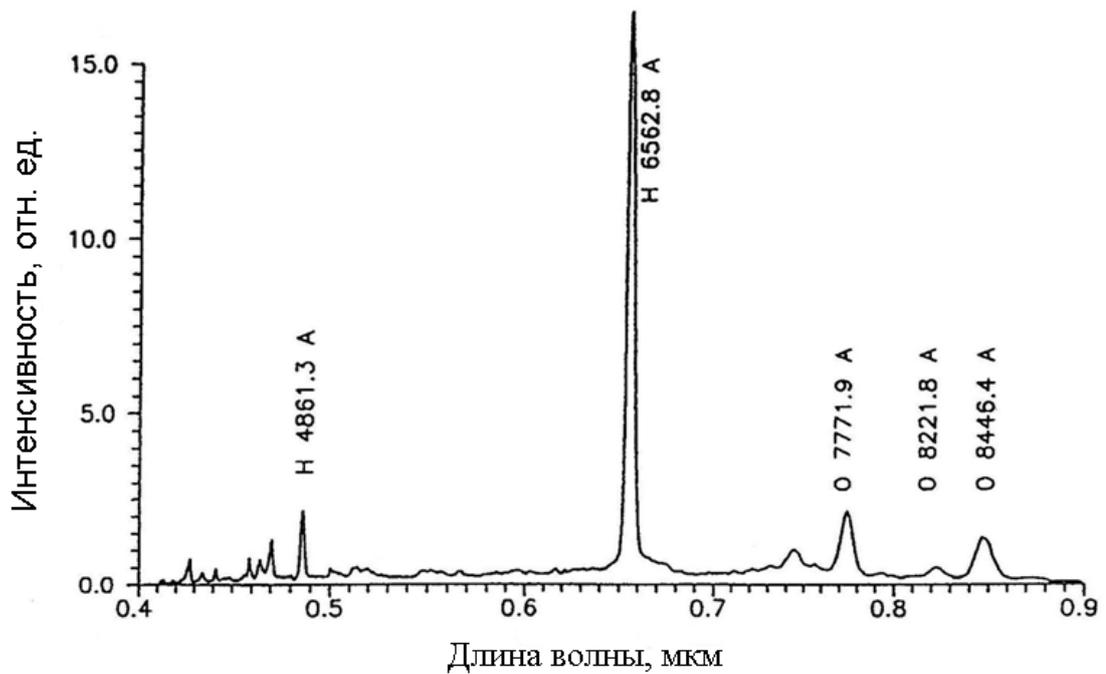


Рис. 3.5.3. Спектры излучения ЭПП водяного пара.

Условия эксперимента: $E_b = 40$ кэВ, $I_b = 20$ мА и $P_m = 6$ Торр

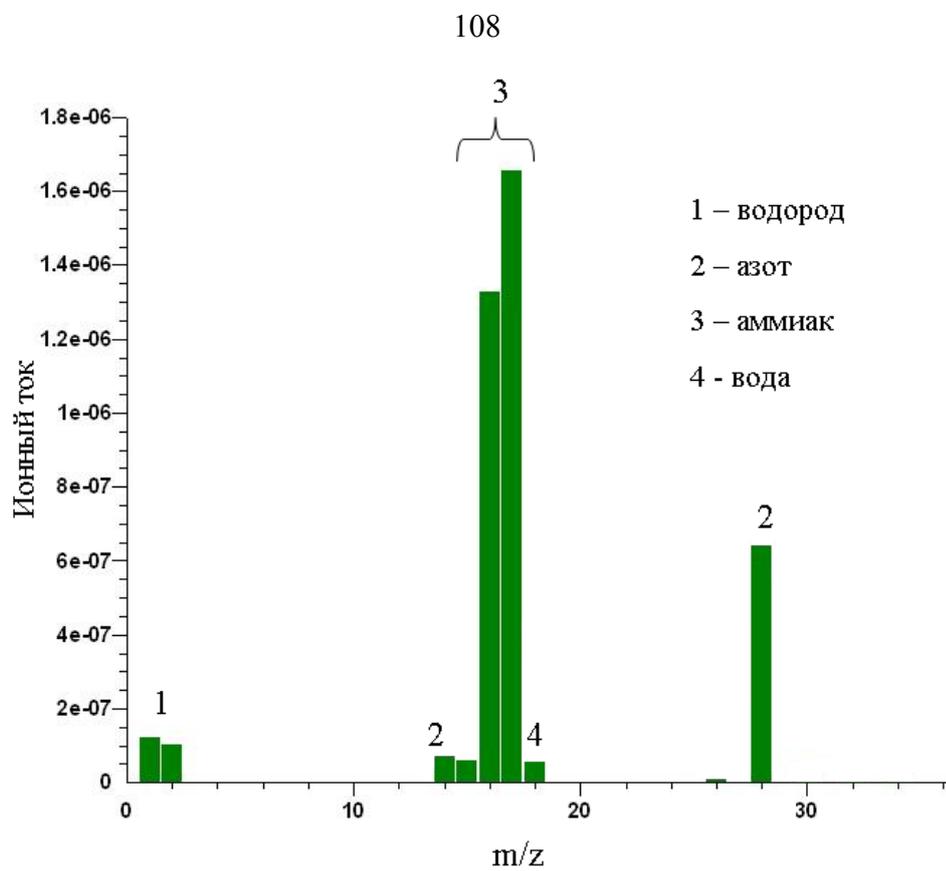


Рис. 3.5.4. Масс-спектр ЭПП аммиака

Таблица 3.1.1. Основные системы пучково-плазменного реактора Обозначения – в соответствии с рисунком 3.1.4.

Система реактора	Элементы системы реактора	№ позиции на рис. 3.1.4	Марка; производитель	Основные характеристики	Диапазон регулировок (для лабораторного образца реактора)	Назначение; функциональная связь с другими системами и/или элементами систем
1	2	3	4	5	6	7
Система генерации электронного пучка	Электронно-лучевая пушка	1.1	КЭП-2М-1, СССР	Ускоряющее напряжение: 25-45 кВ Ток ЭП: 0,2-300 мА Мощность, макс.: 10 кВт	27-30 кВ 0,2-100 мА 5,0 Вт-3,0 кВт	Генерация и формирование электронного пучка.
	Высоковольтный источник питания	1.2	SR30*6 Spellman High Voltage Electronics Corporation, USA	Напряжение, макс.: 60 кВ Ток, макс.: 1 А	27-30 кВ 100 мА	Питание электронной пушки (1.1).
	Блок управления генератором ЭПП	1.3	Инситек ИПЭ-2-60-2.0, Томск, Россия	Выходное напряжение, макс.: 50 кВ Управляющее напряжение: –5 кВ относительно выходного напряжения	Макс.:30 кВ –3,5 кВ	Управление электронной пушкой (1.1) и высоковольтным источником питания (1.2).
	Выводное окно	1.4	МФТИ	Перепад давления: Мин.: $1,0 \times 10^{-5}$ Торр Макс.: $1,0 \times 10^2$ Торр	Мин.: $2,5 \times 10^{-5}$ Торр Макс.: $7,0 \times 10^1$ Торр	Проводка ЭП из высоковакуумной камеры (1.5) в рабочую камеру (4.1).

	1	2	3	4	5	6
Система позиционирования плазменного облака	Контроллер электронного пучка	2.1	EBS-530; Sycon, США	Ток в нагрузке, макс: ± 5 А	Ток в нагрузке, макс: ± 5 мА	Выдача переменного напряжения на отклоняющую систему (2.2).
	Отклоняющая система двухкоординатная	2.2	МФТИ		Сопротивление обмоток: по оси x – 4 Ом по оси y – 5,2 Ом	Управление направлением оси инъекции и развёрткой электронного пучка.
Вакуумная система	Форвакуумный насос	3.1	XDS35i Scroll Vacuum Pump, Edwards Limited, Великобритания	Предельный вакуум: $8,0 \times 10^{-3}$ Торр Производительность, макс.: $35,0 \text{ м}^3 \text{ч}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-2}$ Торр $35,0 \text{ м}^3 \text{ч}^{-1}$	Предварительная откачка высоковакуумной камеры (1.5). Насос предварительного разрежения для насоса (3.2).
	Высоковакуумный насос	3.2	Насос диффузионный паромасляный Н-400, ВАКМА, Россия	Предельный вакуум: 5×10^{-7} Торр Производительность, макс.: 5600 л/с	$1,5 \times 10^{-5}$ - $2,0 \times 10^{-4}$ Торр 5600 л/с	Откачка высоковакуумной камеры (1.5).
	Форвакуумный насос	3.3	XDS10 Scroll Vacuum Pump, Edwards Limited, Великобритания	Предельный вакуум: $5,3 \times 10^{-3}$ Торр Производительность, макс.: $9,3 \text{ м}^3 \text{ч}^{-1}$	1×10^{-1} - 1,0 Торр $8,5 \text{ м}^3 \text{ч}^{-1}$	Откачка шлюзовых камер выводного окна (1.4).
	Форвакуумный насос	3.4	XDS10 Scroll Vacuum Pump, Edwards Limited, Великобритания	Предельный вакуум: $5,3 \times 10^{-3}$ Торр Производительность, макс.: $9,3 \text{ м}^3 \text{ч}^{-1}$	1×10^{-1} Торр $8,5 \text{ м}^3 \text{ч}^{-1}$	Поддержание динамического вакуума в рабочей камере (4.1).

1	2	3	4	5	6	7
	Вакуумметр AVT (Атмосфера-Вакуум)	3.5	MKS series 979B, MKS Instruments, США	Давление, макс: 760 Торр. Давление, мин.: 5×10^{-10} Торр.	$760-1,5 \times 10^{-5}$ Торр	Измерение давления в высоковакуумной камере (1.5). Выдача сигнала на блок индикации PDR900 (1.6).
	Блок индикации	3.6	PDR900, MKS Instruments, США			Индикация давления в высоковакуумной камере (1.5). Выдача релейного сигнала на аварийное отключение системы генерации электронного пучка.
	Измерительный комплекс давления	3.7	ИКД-100; СССР	Диапазон измерений: 5-100,0 Торр	20,0-100,0 Торр	Измерение полного давления в рабочей камере (4.1).
Реакционная камера	Корпус с люками, смотровыми окнами и присоединительными фланцами	4.1	МФТИ Завод «Элион», СССР	<u>Вариант 1.</u> Форма: параллелепипед. Объем: $0,08 \text{ м}^3$ Давление: 10^{-2} - 10^2 Торр. <u>Вариант 2.</u> Форма: цилиндр. Объем: $0,25 \text{ м}^3$ Давление: 10^{-3} -50 Торр		

1	2	3	4	5	6	7
	Многофункциональный фланец	4.2	МФТИ	Гермовводы низкого и высокого напряжения. ВЧ-гермовводы. Оптоволоконные шайбы. Гермовводы для технологических жидкостей.		Ввод-вывод электрических и оптических сигналов для диагностического комплекса. Ввод-вывод охлаждающих жидкостей.
	Окно ZnSe	4.3	ООО «Электростекло», Россия	Диапазон пропускания: 3-14 мкм.	Диапазон пропускания: 8-14 мкм.	ИК-прозрачное окно для оптического измерения температуры образцов
	Окно ТФ-5	4.4	ООО «Лыткаринский завод технического стекла», Россия	Ø 250 мм. Толщина 80 мм.		Радиационно-защитное окно для визуальных наблюдений, фотографирования и видеозаписи.
Система формирования плазмообразующей среды	Генератор газа/пара	5.1	МФТИ	Генерация H ₂ , NH ₃ , пара H ₂ O и др.		Производство плазмообразующего газа/пара.
	Газовые баллоны	5.2	Баллоны с плазмообразующим газом	Давление макс.: 150 бар Объем: 40 л	10-150 атм.	Хранение запаса плазмообразующего газа.

1	2	3	4	5	6	7
	Редукционный вентиль	5.3	GCE; Gas Control Equipment, Чехословакия	Давление на входе, макс.: 200 бар Давление на выходе: 150-1,5 бар	Давление на входе, макс.: 150 атм. Давление на выходе, макс.: 2,0 бар	Поддержание давления на входе регулятора расхода газа (5.4).
	Регулятор массового расхода газа	5.4	MKS Mass flow controller модель 1179B; MKS Instruments, США	Давление на входе, макс.: 6,5 бар Расход газа, макс.: 500 см ³ /мин.	Давление на входе, макс.: 2,0 бар. Расход газа, макс.: 100 см ³ /мин.	Управление расходом газа, подаваемого в рабочую камеру (4.1). Измерение расхода газа, подаваемого в рабочую камеру. Индикация величины расхода газа, подаваемого в рабочую камеру.
	Блок индикации и регулирования	5.5	MKS PR 4000; MKS Instruments, США	Двухканальный микропроцессорный блок.	Один канал - управление регулятором массового расхода газа	Управление регулятором массового расхода газа (5.4). Индикация величины массового расхода газа.
	Баратрон	5.6	Baratron model 626AX12TDE; MKS Instruments Deutschland GmbH, Германия	Диапазон измерений: 5,0×10 ⁻³ -20,0 Торр	1,0×10 ⁻² -20,0 Торр	Измерение давления в рабочей камере (4.1). Выдача сигнала обратной связи на блок (5.7).

	Блок индикации и регулирования	5.7	MKS Series 600; MKS Instruments, США	Двухканальный микропроцессорный блок. 5 программируемых контрольных точек.	Два канала: • баратрон, • ПИД-регулятор мотылькового клапана.	Управление мотыльковым клапаном (5.8). Индикация величины давления в рабочей камере (4.1).
	Клапан с мотыльковой заслонкой	5.8	Модель 253; MKS Instruments, США	Изменение проводимости тракта от 0 до 100%. Рабочее давление: 1 бар - 10^{-8} Торр	Изменение проводимости тракта от 0 до 100%. Рабочее давление: 1 бар - $5,0 \times 10^{-3}$ Торр	Регулирование производительности откачки газа из рабочей камеры (4.1).
Система охлаждения	Промышленный охладитель жидкости	6.1	ANG-02; Россия-Турция	Хладопроизводительность, макс.: 2,9 Вт. Напор насоса: 3,0 бар. Расход теплоносителя: 0,6 м ³ /ч.	Напор насоса: 3,0 бар. Расход теплоносителя: 0,4 м ³ /ч.	Охлаждение электронной пушки (1.1), высоковакуумного насоса (3.2) и выводного окна.
	Трубопроводы. Соединительная, запорная и регулирующая арматура	На схеме не изображены				

Таблица 3.1.2. Основные системы диагностического комплекса. Обозначения – в соответствии с рисунком 3.5.1.

Система диагностического комплекса	Элементы диагностического комплекса	№ позиции на рис. 3.5.1	Марка; производитель	Основные характеристики	Диапазон регулировок (для лабораторного образца реактора)	Назначение; функциональная связь с другими системами и/или элементами систем
1	2	3	4	5	6	7
Система измерения температуры образцов	Оптический пирометр	7.1	Optris LS, Optris GmbH, Германия	Диапазон измерений: –35-900°С. Спектральный отклик: 8-14 мкм.	Диапазон измерений: 25-200°С. Спектральный отклик: 8-14 мкм. Геометрическое разрешение: 0,1-2 мм.	Неконтактные локальные измерения температуры образцов.
	Термопара	7.2	ВР 5/20; МЭЛЗ, СССР	Диапазон измерений: 100-1800°С	Диапазон измерений: 100-800°С	Контактные локальные измерения температуры образцов.
	Терморезистор	7.3	HEL-775; Honeywell International Inc., США	Диапазон измерений: –55-150°С	Диапазон измерений: 0-100°С	Контактные локальные измерения температуры образцов.
	Устройство позиционирования оптического пирометра	На схеме не изображено	МФТИ	Геометрическое разрешение: 0,1-2 мм.	Геометрическое разрешение: 0,5-2 мм.	Прицеливание оптического пирометра в заданную точку.

1	2	3	4	5	6	7
Система контроля состава плазмообразующей среды	Масс-спектрометр	8.1	HALO 201-RC, Hiden Analytical, Великобритания	Предел измерений: 200 а.м.	2-75 а.м	Контроль состава газовой пробы, отбираемой из рабочей камеры.
	Вакуумный откачной пост	8.2	HiCube 80 Eco; Pfeiffer Vacuum GmbH, Германия	Предельный вакуум: не менее $7,5 \times 10^{-8}$ Торр	Рабочее давление: 10^{-6} - 10^{-4} Торр	Создание и поддержание вакуума, необходимого для масс-спектропии плазмообразующей среды в рабочей камере.
	Минизатвор	8.3	Минизатвор сверхвысоковакуумный с ручным приводом; Vacuumvalves AG, Швейцария	Рабочий диапазон давлений от $7,5 \times 10^{-11}$ до 1500 Торр Перепад давлений на тарели до 1500 Торр	Перепад давлений 0,5 - 20,0 Торр	Регулирование давления на входе масс-спектрометра.
	Блок управления откачным постом	8.4	HiCube 80 Eco; Pfeiffer Vacuum GmbH, Германия			Управление вакуумным откачным постом. Выдача сигнала на отключение масс-спектрометра при превышении допустимого давления на его входе.
	Баратрон	8.5	PKR 251 ; Pfeiffer Vacuum GmbH, Германия	Диапазон измерений: 750- $3,8 \times 10^{-9}$ Торр	Диапазон измерений: 750- $1,0 \times 10^{-6}$ Торр	Измерение давления на входе масс-спектрометра.

1	2	3	4	5	6	7
Система эмиссионной спектроскопии	Спектрометр видимого и УФ-диапазонов	9.1	AvaSpec-2048-2, Avantes, Нидерланды	Волновой диапазон: 200-1100 нм	350-1000 нм	Регистрация спектров излучения и поглощения плазмы. Регистрация спектров излучения образцов, в том числе спектров люминесценции.
	ИК-спектрометр	9.2	AvaSpec-NIR256-1.7, Avantes, Нидерланды	Волновой диапазон: 1000-1750 нм	1000-1750 нм	Регистрация спектров излучения плазмы и образцов.
	Оптоволоконный кабель	9.3	FC-UV(IR)400-1(2)-ME; Avantes, Нидерланды	Диапазоны пропускания: UV/VIS – 200-800 nm IR – 350-2000 nm, SMA - окончания	350-1750 нм	Соединение спектрометра и коллимационной линзы (9.4).
	Коллимационная линза	9.4	UV/VIS/NIR фокусируемая коллимационная линза	Диапазон пропускания 200-2500 нм, SMA - окончания	350-1750 нм	Фокусировка падающего потока излучения на торце оптического волокна (9.3).
	Оптоволоконная шайба	9.5	Вакуумный переходник для UV(IR) 400 мкм	Диапазон пропускания UV/VIS – 200-800 nm IR – 350-2000 nm, SMA - окончания	350-1750 нм	Передача оптического сигнала через стенку рабочей камеры.
	Калибровочная лампа	На схеме не обозначена	AvaLight Hal-Cal, Avantes, Нидерланды	Эталонный источник света для диапазона 350-2500 нм	350-1750 нм	Калибровка УФ- и ИК-спектрометров.

3.6. Условия проведения экспериментов и общие свойства ЭПП различных плазмообразующих сред

В общем случае свойства и состав ЭПП, а также геометрия плазменного облака определяются параметрами инжектируемого ЭП (энергией первичных электронов E_b , полным током пучка I_b и плотностью тока j_b), свойствами плазмообразующей среды (химическим и фазовым составом, давлением P_m , температурой T_m), продолжительностью инъекции. В принципе, все перечисленные параметры можно варьировать независимо, подбирая оптимальную комбинацию E_b , I_b , j_b , P_m для конкретных условий плазмохимической обработки материала. В работе генерация сильнонеравновесной низкотемпературной ЭПП и плазмохимическая обработка материалов проводились при следующих условиях:

- Ускоряющее напряжение электронной пушки – 25-30 кВ;
- Мощность электронного пучка – 0-4 кВт;
- Ток пучка – 1,5-3,5 мА;
- Давление в реакционной камере – 0,01-100 Торр;
- Плазмообразующие газы – воздух и его компоненты, инертные газы, газообразные углеводороды, аммиак, фторсодержащие газы, пары неорганических и органических веществ, парогазовые смеси различного состава;
- Режимы работы генератора ЭПП – непрерывный и импульсно-периодический с регулируемой длительностью и скважностью импульсов.

В экспериментах с гибридной плазмой ЭПП комбинировалась с плазмой газового ВЧ-разряда. Для этого внутри реакционной камеры устанавливались электродные системы различных конструкций, на которые подавалось питание с частотой 13,6 МГц от генератора с максимальной мощностью 1 кВт.

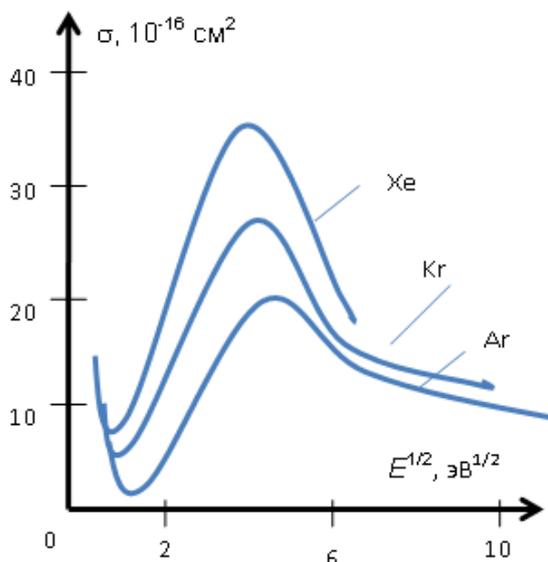


Рис. 3.6.1. Полное сечение упругого рассеивания на атомах инертных газов

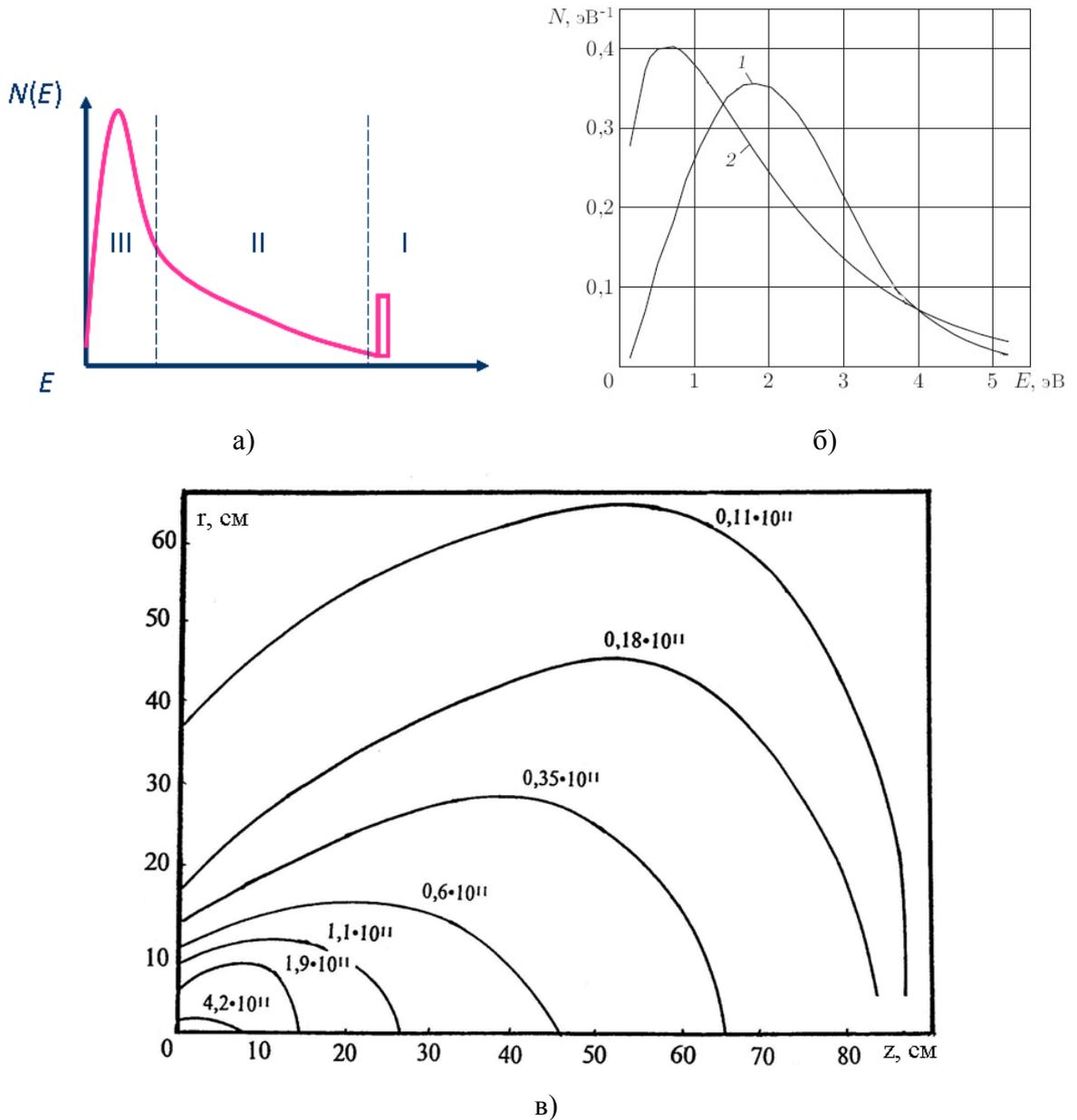


Рис. 3.6.2. а) – Вид функции распределения электронов по энергиям в ЭПП (комментарии в тексте); б) - ФРЭЭ в плазме аргона при $E_b = 0,6$ кэВ, $I_b = 170$ мА [3.6.1]; в) – пространственное распределение концентрации электронов в плазменном облаке: плазма азота, $E_{b0} = 25$ кэВ, $I_b = 200$ мА, $P_m = 10$ Торр

При прохождении через плазмообразующую среду ЭП рассеивается в упругих столкновениях (в качестве примера на рис. 3.6.1 приведены полные сечения упругого рассеяния электронов на атомах инертных газов). Энергия быстрых электронов постепенно расходуется в различных неупругих процессах взаимодействия со средой ионизации, возбуждения атомов и молекул с возможной диссоциацией последних, и др.

Состав ЭПП сложен: в общем случае в ней присутствуют молекулы, атомы, радикалы и ионы в основном и в возбужденном состояниях, а также плазменные электроны и электроны инжектируемого пучка. Функция распределения электронов по энергиям (ФРЭЭ) в ЭПП – немаксвелловская с тремя характерными энергетическими областями (рис. 3.6.2а):

I – область энергий, близких к энергии электронов E_b первичного ЭП, являющаяся источником вторичных электронов;

II – область промежуточных значений вторичных электронов от пороговых (~ 10 эВ) до $\sim E_b/2$, которые наряду с первичными электронами способны осуществлять ионизацию, диссоциацию и возбуждение электронных состояний молекул;

III – область электронов относительно низких энергий, которые производят колебательное и вращательное возбуждение молекул.

Точный расчет ФРЭЭ основывается на решении уравнений Больцмана и Пуассона для чего необходимо знание кинетики (в первую очередь сечений) элементарных процессов для конкретного плазмообразующего газа в конкретных условиях генерации ЭП. На рис. 3.6.2б представлена ФРЭЭ в плазме аргона при $E_b = 0,6$ кэВ, $I_b = 170$ мА [3.6.1].

Если не предпринять специальных мер (например, сканирования пучка), плазменное облако, генерируемое тонким ЭП, пространственно неоднородно. Рис. 3.6.2в иллюстрирует распределение концентрации электронов по объему плазменного облака, а на рис. 3.6.3а приводится фотография плазменного облака. На рис. 3.6.3б это изображение представлено в виде изолиний яркости излучения плазмы; оно иллюстрирует пространственное распределение энергоклада ЭП в плазмообразующий газ.

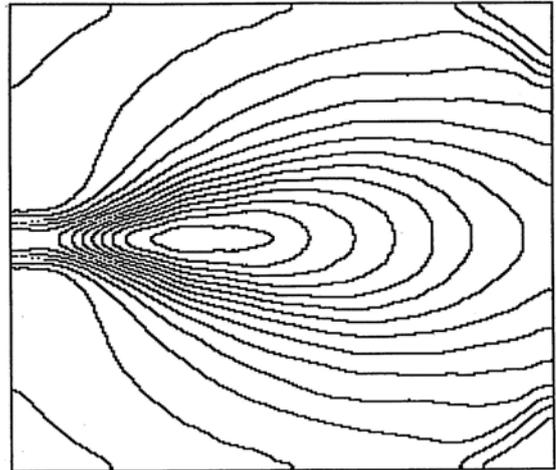
В общем случае свойства и состав ЭПП, а также геометрия плазменного облака определяются параметрами инжектируемого ЭП (энергией первичных электронов E_b , полным током пучка I_b и плотностью тока j_b), свойствами плазмообразующей среды (химическим и фазовым составом, давлением P_m , температурой T_m), продолжительностью инжекции. В принципе, все перечисленные параметры можно варьировать независимо, подбирая оптимальную комбинацию E_b , I_b , j_b , P_m , исходя из специфики решаемой технологической задачи.

Разнообразие частиц, присутствующих в ЭПП, обусловлено многочисленными элементарными процессами столкновения электронов с атомами и молекулами и химическими реакциями (Таблицы 3.6.1 и 3.6.2), которые протекают и в газовом объеме, и на поверхности твердого тела, помещенного в плазму для обработки. Эти реакции, как правило, являются неравновесными, причем многие из таких реакций не возможны в

равновесных условиях, а некоторые из них не наблюдаются даже в плазме, возбуждаемой другими способами. Следует отметить, что кинетика плазмохимических реакций, доминирование тех или иных процессов в цепочках плазмохимических превращений и, в конечном счете, концентрации различных частиц в ЭПП сильно зависят от температуры плазмообразующей среды и ее состава.



а)



б)

Рис. 3.6.3. Электронно-пучковая плазма азота:

а) – плазменное облако при $P_m = 5$ Торр, $E_{b0} = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА; б) – изолинии интенсивности излучения в плазменном облаке

Определяющим механизмом потери энергии плазменных электронов в молекулярном газе является процесс возбуждения колебательных состояний молекул при электронно-молекулярных соударениях. Поскольку энергия, теряемая при таких соударениях, значительно превышает энергию, теряемую электроном при упругих электронно-молекулярных соударениях, средняя энергия электронов в ЭПП молекулярного газа значительно ниже, чем в плазме атомарного газа. Поэтому в пучковой плазме молекулярного газа возрастает роль процесса тройной рекомбинации заряженных частиц, эффективность которого возрастает с уменьшением средней энергии электронов.

ЭПП чистых газов, паров и парогазовых смесей идеальна, однако идеальность плазмы аэрозолей может нарушаться из-за сильного кулоновского взаимодействия частиц конденсированной дисперсной фазы (см. раздел 4.4).

Оптические свойства ЭПП также сильно зависят от фазового состава плазменного облака. В частности, в условиях проводившихся экспериментов плазма чистых газов, паров и парогазовых смесей является оптически тонкой. ЭПП аэрозолей, особенно при

высоких концентрациях дисперсных частиц, становится оптически толстой, что существенно осложняет задачу ее оптической диагностики.

Таблица 3.6.1. Элементарные процессы столкновения электрона с атомными частицами и молекулами. Элементарные процессы при столкновении атомов и молекул [1.5.77].

Процесс	Схема процесса	Примечание
Упругое столкновение электрона с атомами (молекулами)	$e + A \leftrightarrow e + A$	
Ионизация атома (молекулы) электронным ударом	$e + A \rightarrow 2e + A^+$	
Неупругие переходы между электронными состояниями атома (молекулы) в результате столкновения с электроном	$e + A \rightarrow e + A^*$	A^* - электронно-возбужденное состояние атома (молекулы)
Переходы между уровнями молекулами: а) вращательными б) колебательными	$e + AB(J) \rightarrow e + AB(J')$ J – вращательный момент $e + AB(v) \rightarrow e + AB(v')$ v – колебательное квантовое число молекулы	
Диссоциативное прилипание электрона к молекуле	$e + AB \rightarrow A^- + B$	Процесс протекает через образование автоионизационного состояния AB^- молекулы AB ; A^- - отрицательный ион
Диссоциативная рекомбинация	$e + AB^+ \rightarrow A + B$	AB^+ - молекулярный ион
Трехчастичное прилипание электрона к молекуле	$e + A + B \rightarrow A^- + B$	Вносит существенный вклад в кинетику процессов в ЭПП электроотрицательных газов
Электрон-ионная рекомбинация при тройных соударениях	$e + A^+ + B \rightarrow A + B$	A^+ - положительный ион
Диссоциация молекулы электронными ударами	$e + AB \rightarrow e + A + B$	
Тройная рекомбинация	$2e + A^+ \rightarrow A + e$	Электрон, сталкиваясь в поле иона с другим свободным электроном, захватывается в одно из возбужденных состояний атома (молекулы) с энергией ионизации порядка T_e так, что энергия связи

		захватываемого электрона уносится вторым электроном. Последующие многократные соударения возбужденного атома (молекулы) с электронами плазмы и спонтанное излучение возбужденного атома с переходом в менее возбужденное состояние приводят к образованию атома (молекулы) в нормальном состоянии.
Диссоциативная рекомбинация	$e + AB^+ \rightarrow A + B$	Энергия связи рекомбинирующего электрона преобразуется в кинетическую энергию продуктов
Тушение электронно-возбужденного состояния при столкновении с молекулой	$A^* + BC \rightarrow A + BC$ $\rightarrow A + B + C$	
Процесс Пеннинга	$A^* + B \rightarrow A + B^+ + e$	Атом A^* находится в метастабильном состоянии, энергия его возбуждения превышает потенциал ионизации атома B
Образование молекул при тройных соударениях	$A + B + C \rightarrow AB + C$	Константа скорости при тепловых энергиях порядка $10^{-32} \text{ см}^6/\text{с}$
Химические реакции	$A + BC \rightarrow AB + C$	

Таблица 3.6.2. Элементарные процессы с участием ионов [1.5.77]

Процесс	Схема процесса	Примечание
Резонансная перезарядка	$A^+ + A \rightarrow A + A^+$	
Нерезонансная перезарядка	$A^+ + B \rightarrow A + B^+$	
Ион-ионная рекомбинация (взаимная нейтрализация)	$A^+ + B^- \rightarrow A + B$	
Разрушение отрицательного иона при столкновении с атомной частицей	$A^+ + B^- \rightarrow AB + e$ $\rightarrow A + B + e$	
Ион-молекулярные процессы (реакции)	$A + BC^+ \rightarrow AB^+ + C$ $\rightarrow AB + C^+$	Подобны химическим реакциям
Превращение атомных ионов в молекулярные (конверсия) при тройных соударениях	$A^+ + B + C \rightarrow AB^+ + C$	При тепловых энергиях электронов для простых систем константа скорости реакции имеет порядок 10^{-31} см ⁶ /с; при участии сложных молекул может достигать 10^{-27} см ⁶ /с
Ион-ионная рекомбинация при тройных соударениях	$A^+ + B^- + C \rightarrow A + B + C$	

Сложный вид ФРЭЭ, высокие концентрации заряженных и возбужденных частиц, разнообразие элементарных процессов и неравновесных химических реакций, наличие эксимерных молекул дают основание классифицировать ЭПП как сильнонеравновесную.

ГЛАВА IV. ФОРМИРОВАНИЕ РЕАКЦИОННОЙ ЗОНЫ В ПУЧКОВО-ПЛАЗМЕННЫХ РЕАКТОРАХ

4.1. Генерация ЭПП в замкнутом объеме

Рис. 3.1.4 главы III иллюстрирует принцип генерации ЭПП в свободном объеме, когда облако ЭПП формируется в реакционной камере, размеры которой существенно превышают размеры плазменного образования. В этом случае взаимодействие плазмы со стенками реакционной камеры не оказывает никакого влияния на процессы, протекающие в плазменном объеме, форма и размеры облака ЭПП определяются только характеристиками электронного пучка (силой тока пучка и ускоряющим напряжением пушки), давлением и химическим составом плазмообразующей среды, а также особенностями конструкции выводного окна.

Однако схема генерации ЭПП в свободном объеме практически никогда не реализуется в реальных конструкциях реакторов, в которых осуществляется пучково-плазменная обработка материалов. В действительности, при обработке массивных изделий и тонкопленочных образцов (см. главу II) облако ЭПП ограничено, по крайней мере, с одной стороны поверхностью твердого тела: плоские образцы ограничивают плазменный объем по оси z , а при обработке внутренней поверхности труб плазма полностью локализована внутри трубы. Такие же условия генерации ЭПП характерны для изображенного на рис. 4.1.1 трубчатого реактора, который использовался в экспериментах по обработке порошкообразных материалов.

Следовательно, корректное описание рабочего процесса в реальных условиях проведения плазмохимической обработки материалов требует учета целого ряда физических и химических процессов, которые не играют существенной роли, если ЭПП возбуждается в объеме, не ограниченном твердыми стенками. Таким образом, возникает задача описания генерации ЭПП внутри контейнера с учетом взаимодействия плазмы с его стенками. К числу процессов, которые в этом случае могут повлиять на свойства плазмы, следует отнести¹:

- нагрев стенок контейнера;
- многократное отражение электронов от стенок контейнера;
- электростатическую зарядку стенок контейнера и дифференциальную электростатическую зарядку элементов контейнера, если какие-либо из них (или контейнер целиком) изготовлены из диэлектрических материалов;

¹ Физическая модель генерации ЭПП в пространстве, ограниченном твердыми стенками, подробно описана в разделе 7.1.

- изменение условий теплообмена между обрабатываемым образцом и окружающей средой при наличии стенок, ограничивающих реакционный объем;
- генерация излучений, которые не характерны для ЭПП, возбуждаемой в неограниченном пространстве, например – люминесценция стенок контейнера;
- изменение физических, в частности – электрофизических, и химических свойств поверхностей, контактирующих с плазмой.

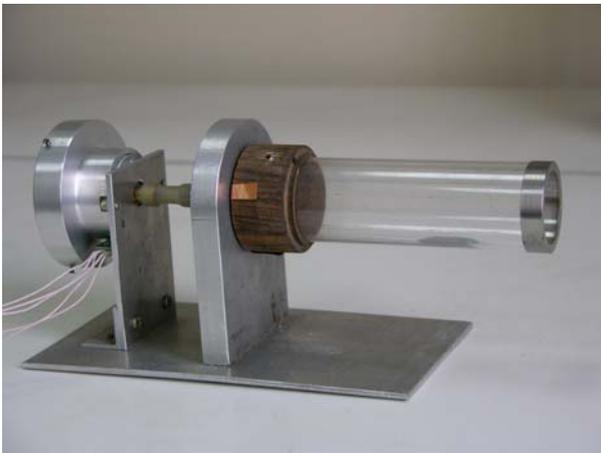
Рассмотрим некоторые проявления перечисленных выше процессов. На рисунке 4.1.2 представлен спектр излучения ЭПП азота, локализованной внутри цилиндрического контейнера, стенка которого представляет собой отрезок кварцевой трубы (см. рис. 4.1.1). На спектре хорошо видны линии спектра азотной плазмы в суперпозиции с непрерывным спектром люминесценции кварца, облучаемого быстрыми электронами. На рисунке 4.1.3 представлены продольные профили температуры $T_w(z)$ стенки контейнера – отрезка кварцевой трубы внутренним диаметром 22 мм, нормированные на максимальное значение температуры $(T_w)_{max}$ на данном отрезке трубы. Плазмообразующая среда – неподвижный воздух при давлении $P_m = 10$ Торр или воздушный поток со статическим давлением 10 Торр. Для тех же условий генерации ЭПП на рисунке 4.1.3 приведены продольные профили интенсивности свечения плазмы, $B(z)$, нормированные на максимальное значение B_{max} . Как видно из рисунка, максимумы интенсивности свечения и температуры стенки контейнера находятся приблизительно в одном и том же сечении трубы, т.е. продувка газа не оказывает влияния на положение максимумов, однако абсолютные значения температуры отличаются существенно: $(T_w)_{max} = 120$ °С для неподвижного газа и $(T_w)_{max} = 80$ °С для воздушного потока (скорость потока ≈ 150 м/с).

Результаты, относящиеся к экспериментам с продувкой газа вдоль контейнера, иллюстрируют работу одной из исследовавшихся в настоящей работе модификаций реактора с цилиндрической реакционной камерой, а именно – реактора канального типа. В них реализована непрерывная, как правило, – тангенциальная, подача газа или смеси газов внутрь реакционной камеры в целях выравнивания продольного профиля температуры и снижения ее максимальных значений. В отличие от реактора, изображенного на рисунке 4.1.1, реакционная камера не имеет дна, и газ, вдуваемый через один из торцов трубы, может свободно вытекать через второй торец. Иными словами, в контейнере формируется внутреннее течение ЭПП. Такие условия генерации плазмы характерны для задач ЭПП-стимулированного синтеза функциональных слоев на внутренней поверхности цилиндрических труб (см. главу VI).

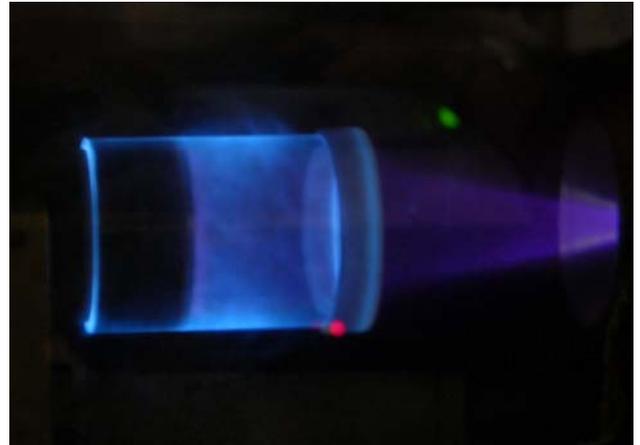
Необходимо особо отметить, что при высокой плотности энерговыделения ЭП в газе, заполняющем теплоизолированный контейнер, например, когда сила тока

инжектируемого пучка достаточно велика, может происходить интенсивный разогрев плазмообразующего газа, сопровождающийся резким возрастанием плотности вторичных электронов плазмы. Так в горячем аргоне n_{ep} может достигнуть величины $\sim 10^{13} \text{ см}^{-3}$ и даже выше; в этих условиях может возникать раскачка ленгмюровских колебаний, приводящая, в конечном счете, к зажиганию пучково-плазменного разряда (см. раздел 7.3), и приводящая к потере устойчивости плазменным объемом (см. также раздел 4.4). В экспериментах с ЭПП аргона это явление наблюдалось при $I_b > 10 \text{ мА}$, если температура плазмы, заполняющей контейнер, достигала значений $T_g \approx T_w \sim 1000 \text{ К}$.

При низких давлениях плазмообразующего газа ($P_m < 1,0 \text{ Торр}$) может иметь место электростатическая зарядка стенок контейнера. Это явление иллюстрируется рисунком 4.1.4, на котором показана зависимость от P_m потенциала U изолированного от «земли» металлического дна цилиндрического контейнера с кварцевой боковой стенкой.



а)



б)

Рис. 4.1.1. Внешний вид пучково-плазменного реактора, изготовленного из кварцевой трубы с металлическим дном:

- а) – реактор с отношением длины к диаметру реакционной камеры 5:1 во время испытаний в атмосфере;
- б) – реактор с отношением длины к диаметру реакционной камеры 1:1 во время эксперимента по обработке порошкообразных материалов

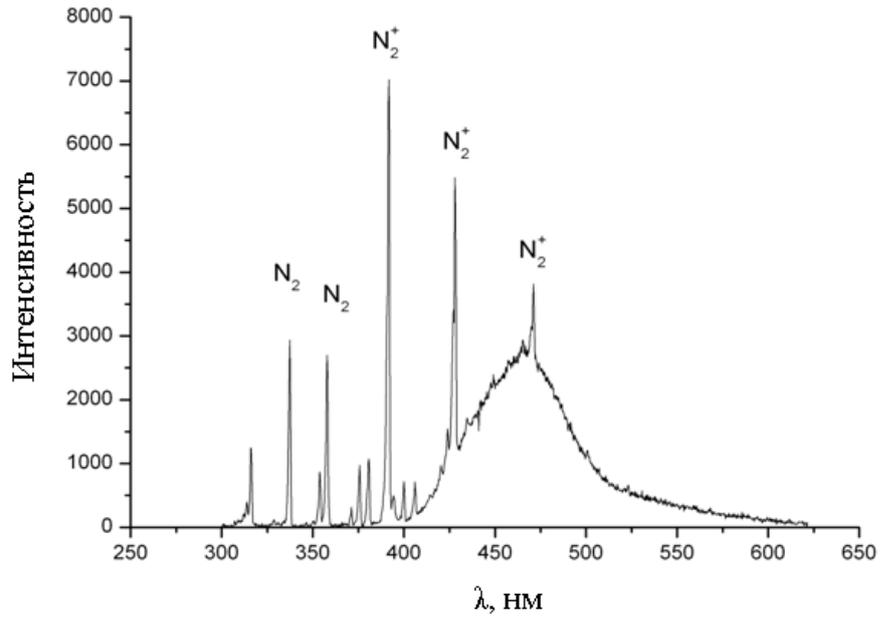


Рис. 4.1.2. Спектр излучения кварцевого контейнера, внутри которого генерируется ЭПП азота.

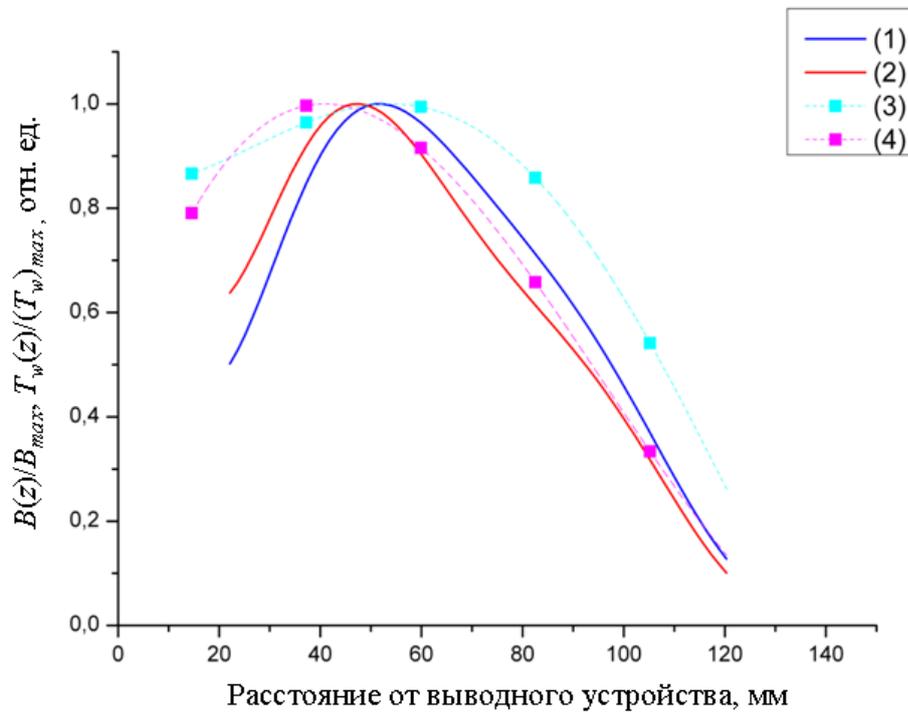


Рис. 4.1.3. Продольные профили интенсивности свечения плазмы воздуха, $B(z)/B_{max}$ (кривые 1 и 2), и температуры стенки трубы, $T_w(z)/(T_w)_{max}$ (кривые 3 и 4): кривые 1 и 3 – продувка газа вдоль контейнера; кривые 2 и 4 – неподвижный газ.

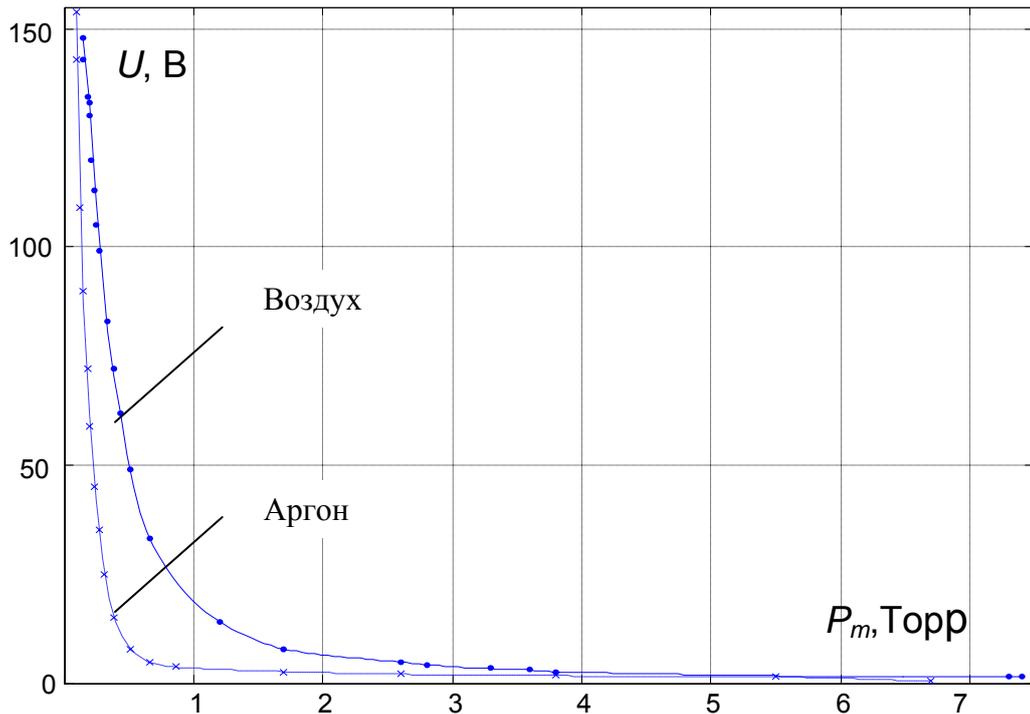


Рис. 4.1.4. Зависимость потенциала металлического дна цилиндрического реактора с кварцевой стенкой как функция давления плазмообразующего газа.

4.2. Инжекция электронного пучка в газ, содержащий конденсированную дисперсную фазу

В данном разделе приведены результаты экспериментов, в которых исследовались процессы, протекающие в реакционной зоне, содержащей конденсированную дисперсную фазу (КДФ) из порошков биополимеров, и отрабатывались способы обеспечения управляемости процесса, равномерности и однородности обработки биополимеров. Характеристики реакционного объема, представляющего собой пылевую плазму, были исследованы в специальных методических экспериментах для различных условий генерации плазмы и для различных способов подачи порошка. Было изучено формирование реакционного объема двумя способами:

- а) Хаотично запыленный объем электронно-пучковой плазмы в виде *кипящего слоя*.

Способ формирования реакционного объема в виде «кипящего слоя» применялся в большинстве экспериментов по плазмохимической модификации порошков биополимеров. Рис. 4.2.1 иллюстрирует схему процесса обработки белков и полисахаридов в кипящем слое.

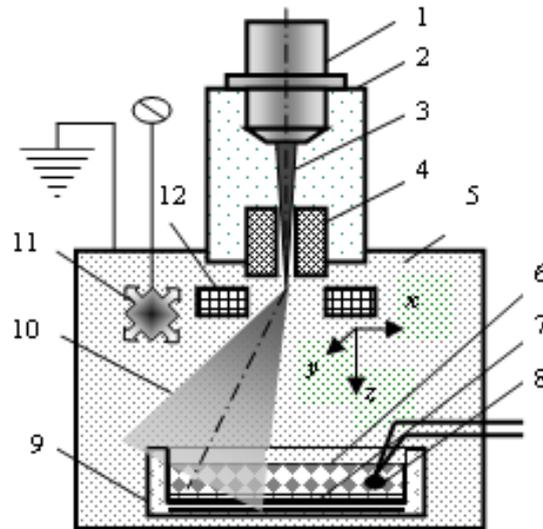


Рис. 4.2.1. Процедура обработки порошков биополимеров:

1 – электронно-лучевая пушка; 2 – высоковакуумная камера; 3 – электронный пучок; 4 – выводное окно; 5 – рабочая камера; 6 – конденсированная дисперсная фаза (обрабатываемый порошок); 7 – пьезокерамическая пластина; 8 – датчик температуры; 9 – стеклянный контейнер; 10 – плазменное облако; 11 – регулируемый нагреватель; 12 – отклоняющая система.

Кипящий слой 6 из частиц порошка формировался внутри стеклянного контейнера 4 (с диаметром 100 мм). Предварительно измельченный порошок насыпался на дно контейнера слоем толщиной не более 0,2 мм) над непрерывно вибрирующей пьезоэлектрической пластиной 5. При вибрации пластины в контейнере формировался слой аэрозоля 6, в котором и происходила обработка биополимеров. Частично рассеянный при распространении в плазмообразующем газе, который заполнял рабочую камеру 1, электронный пучок 3 инжектировался в область кипящего слоя 6. Инжекция осуществлялась при сканировании ЭП по осям x и y с формированием круглого или прямоугольного растра. Большинство экспериментов выполнено при развертке ЭП в круглый растр с диаметром, на 20-30 мм превышающей диаметр контейнера, в который помещался образец биополимера.

Однородность параметров плазмы внутри кипящего слоя и поддержание оптимального температурного режима обработки порошка обеспечивались надлежащим выбором амплитуды и частоты синусоидальных напряжений, питающих электромагнитную отклоняющую систему 2 и регулировкой тока пучка I_b ($1 < I_b < 100$ мА). При этом температура обрабатываемого белка T_s во избежание тепловой денатурации и деструкции не превышала 40 °С даже при весьма длительных временах обработки τ ,

которые могли достигать 20 мин (обычно время τ варьировалось в диапазоне 1-5 мин), а температура порошков полисахаридов варьировалась в пределах 30-90 °С. Температура частиц порошка контролировалась миниатюрным термодатчиком, погруженным в кипящий слой, а также бесконтактным оптическим ИК-пирометром Optris LS (Optris GmbH, Германия).

б) Хаотично запыленный объем электронно-пучковой плазмы внутри вращающегося барабана (пучково-плазменный реактор трубчатого типа, изображенный на рис. 4.1.1). Схема процедуры пучково-плазменной обработки образцов в таком устройстве показана на рис. 4.2.2.

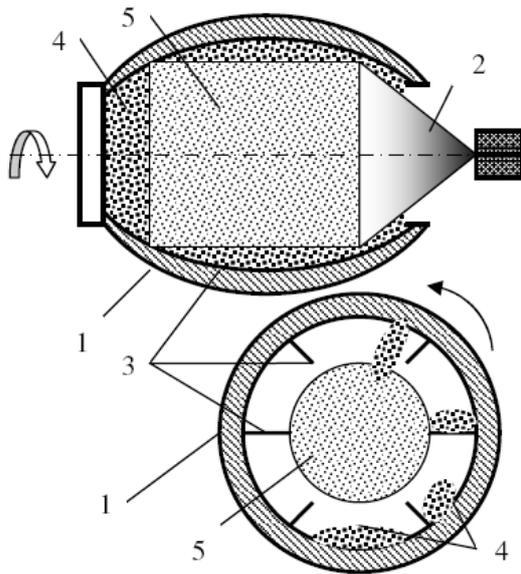


Рис. 4.2.2. Схема обработки образцов во вращающемся барабане.

1 – цилиндрическая кварцевая труба; 2 – облако ЭПП; 3 – внутренние ребра; 4 – порошок обрабатываемого биополимера; 5 – реакционная зона.

Для хаотично запыленного реакционного объема были исследованы рассеяние и поглощение ЭП слоем аэрозоля, для чего были проведены сравнительные измерения ряда энергетических характеристик ЭП при различных условиях генерации плазмы, содержащей твердые частицы.

На рис. 4.2.3 изображен вариант формирования реакционной зоны b в объеме неподвижного облака ЭПП 2 с помощью вибрирующего контейнера 3, дно которого представляло собой сито с размером ячейки $\approx 1,5d_d$ (d_d – характерный размер частицы порошка). Толщина реакционной зоны d в направлении оси z задавалась соответствующим размером сита, а процессы рассеяния ЭП в запыленном газе определяли ее размеры по направлениям осей x и y . Количество частиц порошка в единице объема реакционной зоны, n_d , регулировалась в диапазоне $n_d = 10^3 - 10^6 \text{ см}^{-3}$ изменением частоты и амплитуды вибраций сита. В качестве плазмообразующей среды использовались инертные газы (He, Ar), воздух и его компоненты (O_2 , N_2), пары воды и некоторых

органических соединений. Материалами конденсированной дисперсной фазы были порошки керамических оксидов (Al_2O_3), углерода и ацетилсалициловой кислоты.

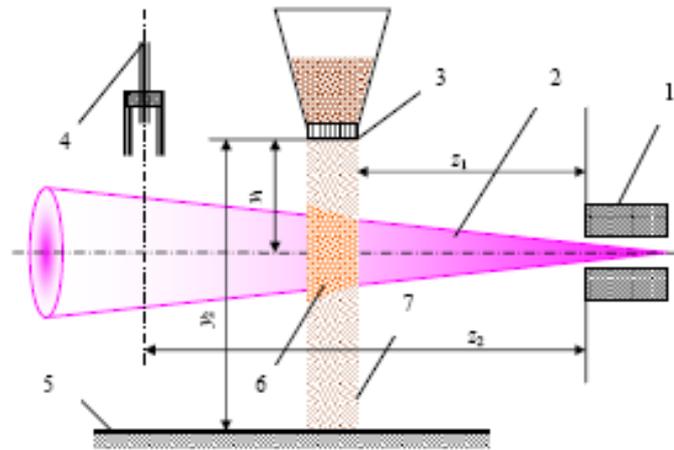


Рис. 4.2.3. Постановка эксперимента по исследованию энергетических характеристик ЭП, прошедшего слой аэрозоля, и динамики частиц конденсированной дисперсной фазы:

1 – выводное окно; 2 – ЭПП; 3 – вибрирующий контейнер с ситом; 4 – оптический зонд; 5 – плоский экран; 6 – пылевая ЭПП; 7 – частицы порошка, прошедшие ЭПП.

В ходе экспериментов были измерены следующие характеристики ЭП и полученной плазмы:

- ток пучка I_b ;
- давление газа в рабочей камере P_m ;
- радиальное распределение плотности тока в различных поперечных сечениях плазменного облака за слоем пыли;
- потенциал U_p микрозонда (шарик из стали 1X18H10T \varnothing 1мм), помещенного в различные точки облака плазмы – внутри и снаружи пылевого слоя. При этом исходили из предположения, что потенциал U_p эквивалентен плавающему потенциалу в газоразрядной плазме;
- радиальные распределения интенсивности оптического излучения в различных поперечных сечениях плазменного облака;
- тепловых потоков, поглощаемых телом, помещенным в различные области плазменного облака.

Начальная энергия электронов на выходе из выводного устройства определялась как ускоряющее напряжение электронной пушки с учетом торможения электронов пучка в канале выводного устройства. Потери энергии ЭП в выводном устройстве и начальный угловой разброс $\delta\theta$ траекторий быстрых электронов в выходном сечении выводного окна были рассчитаны (см. раздел 7.4, в котором рассматривается компьютерное

моделирование ЭПП). Величина $\delta\theta$ также могла дополнительно регулироваться посредством электромагнитной сканирующей системы, расположенной на входе в рабочую камеру реактора (см. разделы 2.2 и 2.3).

Величина тока ЭП, прошедшего ВУ, I_b , измерялась цилиндром Фарадея, смонтированным на задней крышке реакционной камеры. Измерения I_b проводились при достаточно глубокой откачке камеры ($P_m < 0,1$ Торр), когда плазма остаточного газа не искажает показания цилиндра Фарадея.

В предположении, что интенсивность излучения B_λ единичного объема ЭПП пропорциональна удельной мощности энергоклада Q , спектральные измерения позволяют получить зависимость $Q(x)$. Проводили измерения профиля $Q(x)$ в некотором поперечном сечении облака ЭПП при нескольких значениях тока пучка сначала в среде чистого газа, а затем в запыленной среде. Рис. 4.2.4 иллюстрирует схему эксперимента. Один из концов оптоволокнуна 1 с коллимационной трубкой 2, помещенный в область плазменного облака, служил приемником излучения, а другой конец оптоволокнуна был соединен со спектрометром. Приемник излучения перемещали в радиальных направлениях поперечного сечения облака пылевой плазмы 3 таким образом, чтобы коллимационная трубка оставалась перпендикулярной направлению перемещения. При пересечении приемником облака плазмы радиальное распределение интенсивности излучения $B_\lambda(x)$, интегрированной вдоль хорд, было получено как отношение интенсивности определенной линии спектра излучения ЭПП к максимальной величине $(B_\lambda)_{\max} = B_\lambda(x=0)$. Одна из таких хорд 4 изображена на рис. 4.2.4а, а спектр пылевой ЭПП воздуха с частицами Al_2O_3 представлен на рис. 4.2.3б. Радиальные распределения $B_\lambda(r)$ были получены при пересчете измеренных $B_\lambda(x)$ с помощью преобразования Абеля. Очевидно, что $B_\lambda(x=0) = B_\lambda(r=0)$.

Эта же зависимость была измерена калориметрическими методами с помощью миниатюрных термосенсоров (Honeywell, США) с характерными размерами 2×2 мм и толщиной 0,5 мм. Датчики могли работать как в стационарном, так и нестационарном режимах. В первом случае время экспозиции τ (время контакта датчика с ЭПП) было достаточным для установления термодинамического равновесия между сенсором и окружающей его плазмой. Во втором случае температура сенсора T_s измерялась в течение некоторого времени t . Зная зависимость $T_s(t)$ и полагая, что передача тепла между термосенсором и плазмой происходит за счет излучения и теплопроводности газа, можно рассчитать величину теплового потока, поглощенного калориметром. Полученные данные также сравнивались с рассчитанными в ходе вычислительных экспериментов распределениями установившейся температуры частиц порошка $T_m(x)$.

Эксперименты показали, что при малой плотности пыли ($n_d < 10^4 \text{ см}^{-3}$), умеренных токах пучка ($I_b < 5 \text{ мА}$) и достаточно высоких давлениях газа ($P_m > 10 \text{ Торр}$) непрерывный ЭП не влияет на пространственное распределение пылевых частиц. При этом происходит равномерное поглощение мощности ЭП пылевыми частицами, а основным механизмом рассеивания ЭП являются его упругие столкновения с молекулами плазмообразующего газа. Столкновениями электронов с пылевыми частицами можно пренебречь.

На рис. 4.2.5 сведены воедино данные измерений, выполненных в сечении $z = 20$ мм облака ЭПП воздуха при $P_m = 4,0 \text{ Торр}$. Значения всех величин, отложенных по оси ординат, нормированы на значения тех же величин в центре плазменного облака ($x = 0$). Кривые 2 и 3 относятся к плазме чистого воздуха и получены с помощью соответственно калориметра нестационарного теплового режима и оптическими методами. Кривая 1 представляет результаты компьютерного моделирования, выполненного для тех же условий. Кривая 4 построена по данным измерения установившейся температуры термосенсоров, линейка которых устанавливалась поперек плазменного облака в том же сечении $z = 20$ мм. На рис. 4.2.4 приведены также экспериментальные данные для $T_m(x)$, полученные при сканировании ЭП по оси x с амплитудой ± 50 мм (кривая 5). В ходе вычислительных экспериментов было показано, что температуры частиц порошка и термосенсоров приблизительно одинаковы и близки к температуре газа $T_m(x)$.

На рис. 4.2.6 показана радиальная зависимость интенсивности одной из спектральных линий излучения плазмы, которая характеризует рассеивание ЭП и его поглощение вследствие взаимодействия с пылевыми частицами. Из графика видно, что частицы пыли поглощают лишь $\approx 10\%$ мощности ЭП и при указанных выше условиях слабо рассеивают ЭП.

Следует отметить, что потенциал пылевых частиц U_p в данных условиях не превышает нескольких вольт и практически не отличается от потенциала слоя незапыленной плазмы на таком же расстоянии z от выводного окна. Таким образом, в рассматриваемых условиях электростатической зарядки пылевых частиц не происходит.

Иная картина наблюдается, когда ток ЭП достаточно велик. На рис. 4.2.7 представлены профили плотности тока ЭП с интегральным $I_b > 10 \text{ мА}$ в некотором поперечном сечении облака плазмы за слоем пыли. Те же профили были сняты сразу же после выключения вибрирующего контейнера. Данные, полученные в ходе таких измерений, характеризуют долю суммарного тока, сконцентрированную в окружности с радиусом R , и дают возможность оценить влияние пыли на радиальное распределение мощности ЭП для пучков с различной начальной расходимостью. Как видно из рис. 4.2.6, профили $j_b(r)$ расфокусированного ЭП ($\delta\theta \sim 10$) становятся более компактными.

Вследствие взаимодействий ЭП с пылевыми частицами значительная доля мощности ЭП концентрируется вблизи его оси.

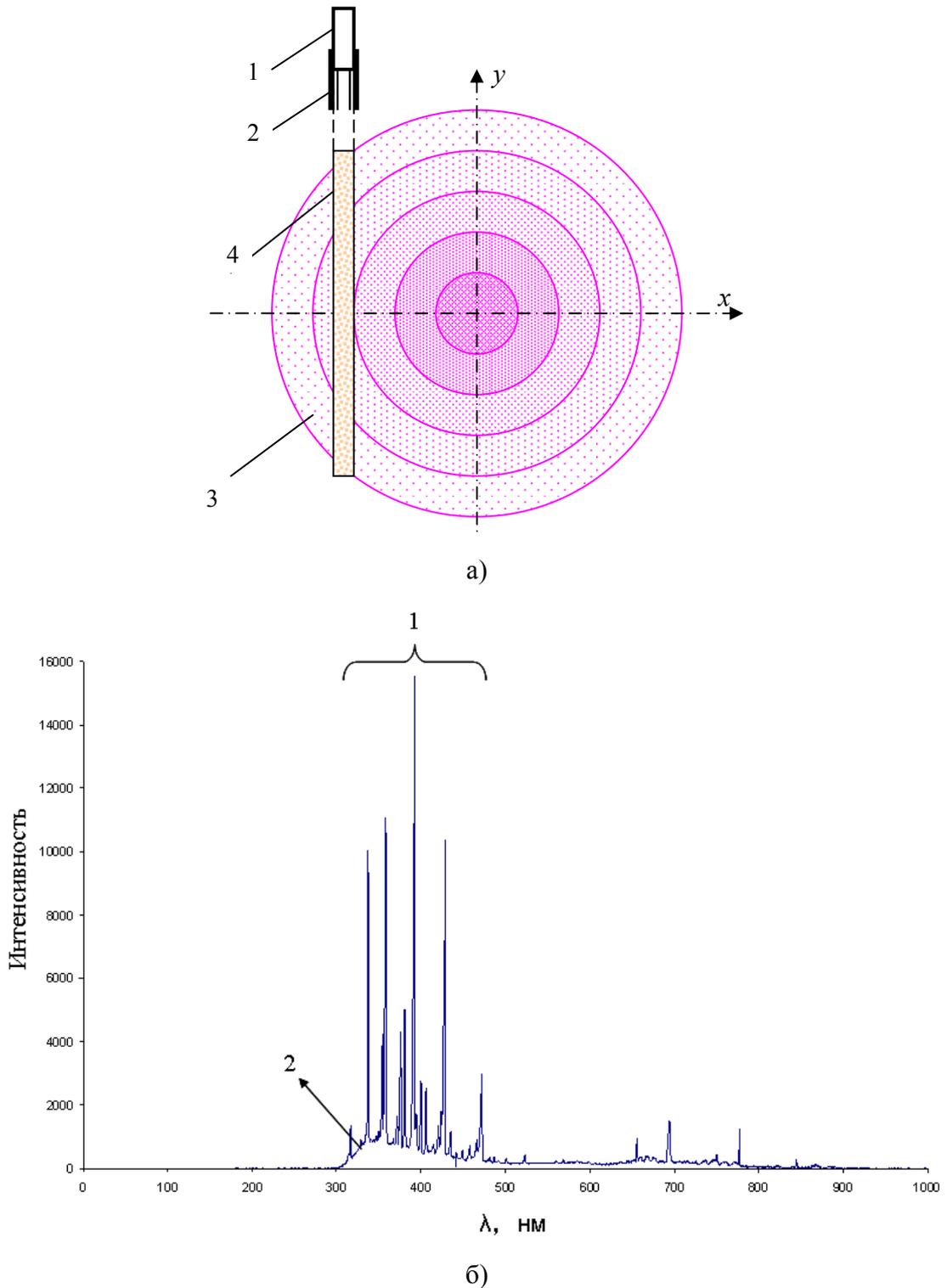


Рис. 4.2.4. Оптическая диагностика ЭПП

а) оптический зонд: 1 – оптоволокно, 2 – коллимационная трубка, 3 – поперечное сечение плазменного облака, 4 – объем плазмы, в котором измеряется интенсивность излучения;
 б) спектр излучения пылевой ЭПП: 1 – спектральные линии ЭПП воздуха, 2 – непрерывный спектр излучения частиц Al_2O_3 .

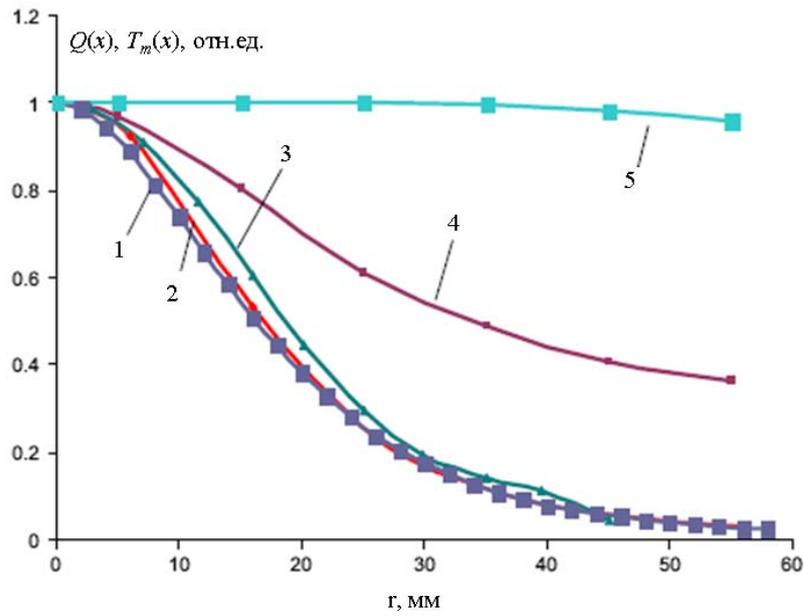


Рис. 4.2.5. Распределение мощности $Q(x)$ энерговыделения ЭП, инжескированного в воздух при $P_m = 4,0$ Торр, в плоскости $z = 20$ мм (кривые 1-3) и установившейся температуры $T_m(x)$ (кривые 4, 5).

1 – результаты компьютерного моделирования; 2 – оптические измерения; 3 – измерения, выполненные калориметром нестационарного теплового режима; 4, 5 – установившаяся температура пылевых частиц $T_m(x)$ в облаке ЭП, генерируемом неподвижным и сканирующим ЭП соответственно.

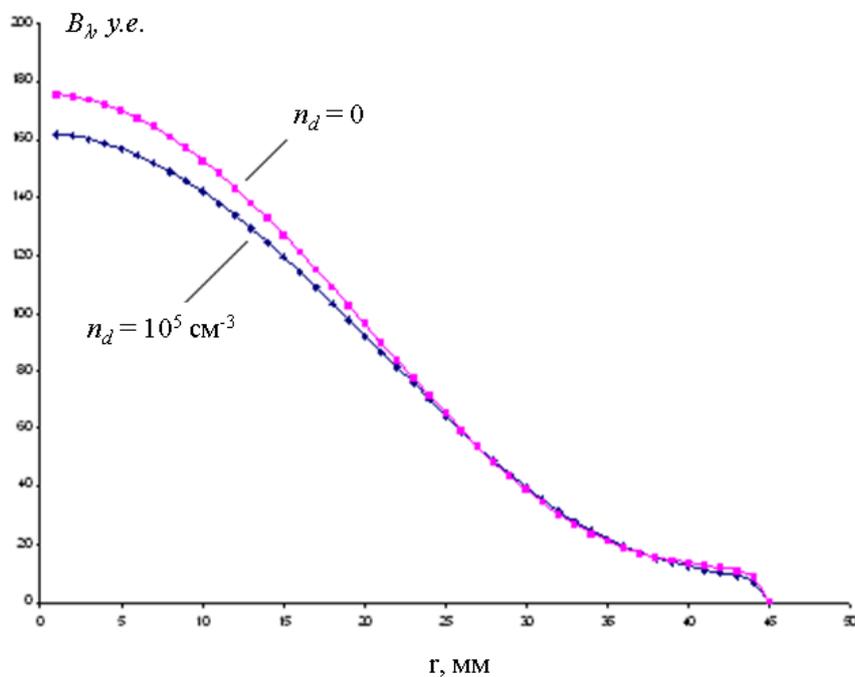


Рис. 4.2.6. Поглощение и рассеивание ЭП слоем запыленной плазмы с различной концентрацией частиц конденсированной дисперсной фазы n_d .

Пылевые частицы незначительно влияют на профили $j_b(r)$ слабо расходящихся пучков ($\delta\theta \sim 1$), причем влияние частиц обнаруживается в основном на периферии ЭП. В результате экспериментов было показано, что данный эффект наблюдается при достаточно высоких плотностях пыли ($n_d > 10^5 \text{ см}^{-3}$) как для сфокусированного, так и расфокусированного ЭП.

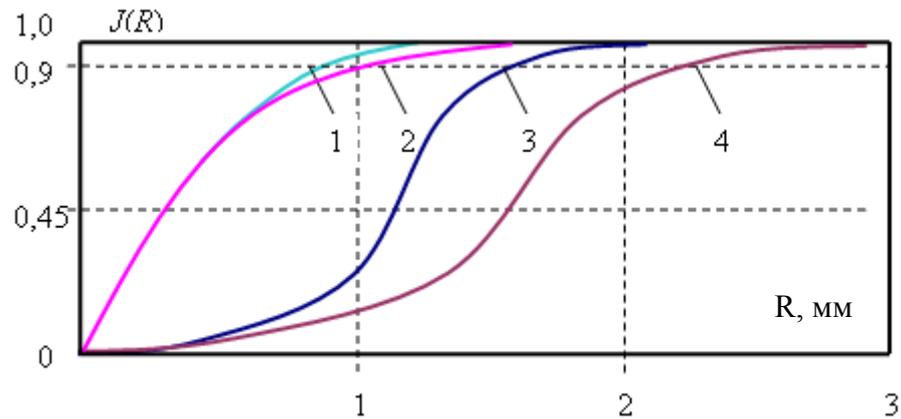
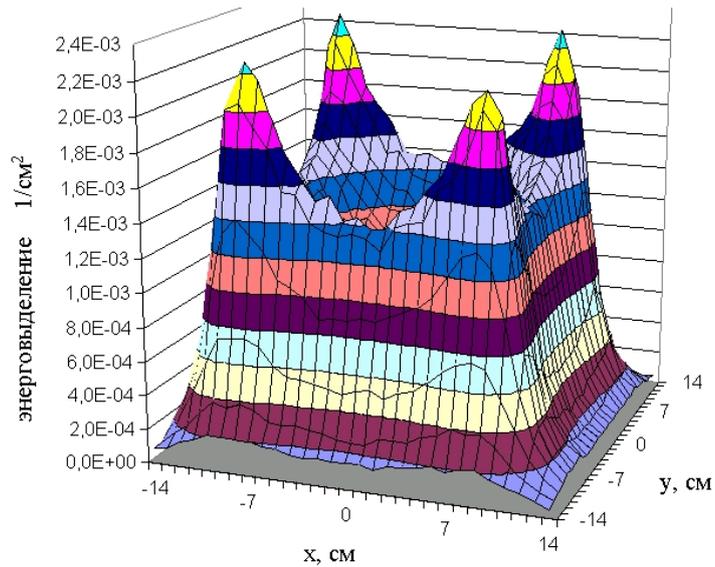


Рис. 4.2.7. Интегральные профили плотности тока ЭП, измеренные в поперечных сечениях облака ЭПП сразу за слоем пылевых частиц: 1 – сфокусированный ЭП, запыленная ЭПП; 2 – сфокусированный ЭП, ЭПП без пылевых частиц; 3 – расфокусированный ЭП, запыленная ЭПП; 4 – расфокусированный ЭП, ЭПП без пылевых частиц.

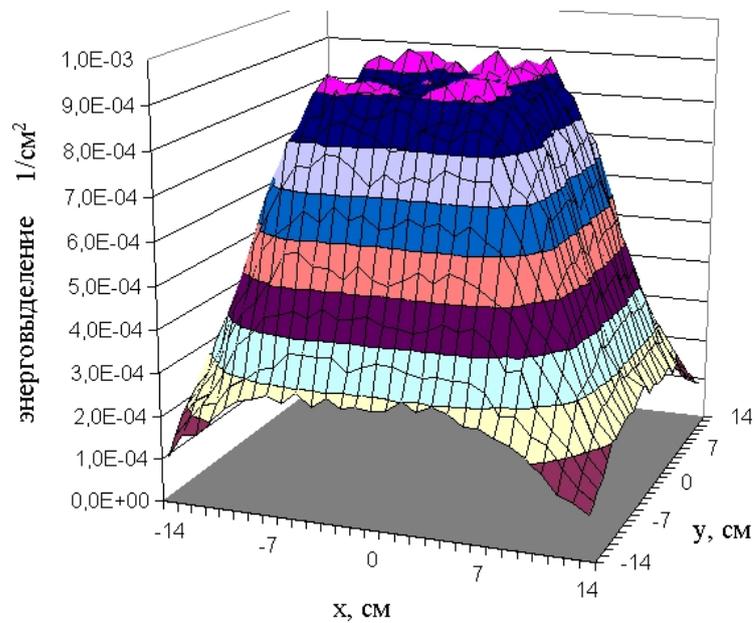
Условия эксперимента: пылевые частицы – Al_2O_3 , $P_m = 2 \times 10^{-2}$ Торр, плазмообразующий газ – воздух.

Проведенные эксперименты вместе с результатами компьютерного моделирования определенно показывают, что для формирования реакционного объема с равномерным по радиусу профилем энерговыделения необходимо сканирование ЭП по координатам x и y . Программируемый контроллер электронного пучка БУЭП-2 (поз. 2.1 на рис. 3.1.4), входящий в состав системы позиционирования плазменного облака, позволяет реализовать самые разные режимы сканирования, однако, как показали эксперименты, не все режимы сканирования обеспечивают равномерность профиля энерговыделения в реакционном объеме. В качестве иллюстрации на рис. 4.2.8 даны рассчитанные установившиеся профили энерговыделения в плоском тонкопленочном образце из белкового препарата, обрабатываемом в плазме водяного пара в двух режимах:

- когда выведенный в реакционную камеру пучок разворачивается в прямоугольный растр размером 10×10 см (рис. 4.2.8а), или
- когда пучок сканируется по окружностям, диаметр которых с частотой ~ 100 Гц изменяется от нуля до 10 см (рис. 4.2.8б).



а)



б)

Рис. 4.2.8. Сравнение профилей энерговыведения в плоском образце белкового препарата, обрабатываемого ЭПП водяного пара при различных способах развертки электронного пучка в реакционной камере:

а) – развертка пучка в прямоугольный растр 10×10 см,

б) – сканирование пучка по окружностям переменного во времени диаметра (пояснения в тексте)

Сравнение этих рисунков показывает, что только во втором случае удастся добиться равномерной обработки всей поверхности образца и поэтому второй вариант свипирования пучка применялся в большинстве экспериментов.

Анализируя весь массив накопленных данных, можно заключить, что:

- при умеренных давлениях плазмообразующего газа профили плотности энерговыделения, измеренные оптическими и калориметрическими методами, качественно и количественно совпадают между собой, а также с профилем $Q(x)$, полученным компьютерным моделированием;
- профиль установившейся температуры частиц конденсированной дисперсной фазы $T_m(x)$ повторяет профиль плотности энерговыделения $Q(x)$;
- если ЭПП генерируется неподвижным пучком, то профили $T_m(x)$, $Q(x)$ и $n_e(x)$ имеют явно выраженный максимум на оси плазменного облака ($x = 0$), что не позволяет равномерно обрабатывать порошки даже в реакционных зонах малой толщины h и создает угрозу локального перегрева порошка в приосевой зоне;
- сканирование ЭП, инжектированного в рабочую камеру, является эффективным средством управления реакционным объемом с целью оптимизации температурного режима обработки и обеспечения ее однородности.

4.3. Устойчивость реакционного объема

От решения проблемы устойчивости реакционного объема во многом зависит управляемость процесса обработки порошкообразных материалов, а также обеспечение ее равномерности и однородности. Как показали наши эксперименты, работа пучково-плазменного реактора может сопровождаться появлением и развитием неустойчивостей различной физической природы. В разделе 4.1 было упомянуто зажигание пучково-плазменного разряда, как одного из возможных механизмов потери устойчивости плазмы чистого (без примеси конденсированной дисперсной фазы) газа. Условие зажигания пучково-плазменного разряда (7.3.2) оказывается выполненным, если в ЭПП достигается высокая плотность вторичных электронов, $n_{ep} \sim 10^{13} \text{ см}^{-3}$. Такие значения n_{ep} удалось получить только в специальных экспериментах с плазмой спектрально чистого аргона при температуре $T_g \approx 1000 \text{ К}$, возбуждаемой внутри кварцевого контейнера. Моделирование аргоновой плазмы (см. раздел 7.4) показало, что даже незначительные, менее 1%, загрязнения аргона азотом и, особенно, кислородом резко снижают максимально достижимые значения n_{ep} , поскольку плазменные электроны эффективно гибнут в реакциях с участием атомов и молекул упомянутых примесей. В физических и технологических экспериментах с реальными плазмообразующими средами (кислород, азот, водяной пар) зажигание пучково-плазменного разряда нами не регистрировалось.

При определенных условиях в технологических экспериментах с ЭПП, содержащей КДФ, (см. раздел 4.2) в реакционном объеме наблюдалась неустойчивость другой физической природы, а именно – нарушение однородности облака КДФ, обусловленное

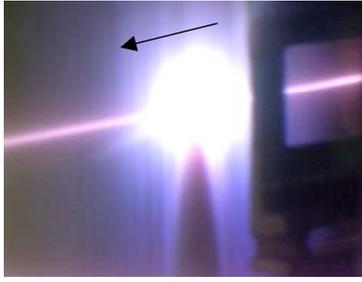


Рис. 4.4.1. Раздвоение пелены частиц ацетилсалициловой кислоты при инъекции в нее ЭП (ЭПП воздуха при $P_m = 0,5$ Торр)

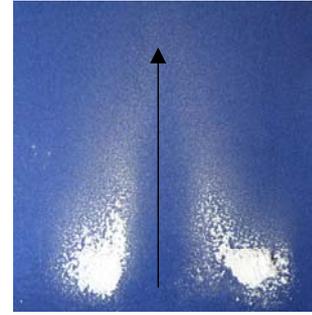


Рис. 4.4.2. След частиц на экране после инъекции ЭП в пелену ацетилсалициловой кислоты (ЭПП кислорода при $P_m = 0,5$ Торр, $z = 35$ мм)

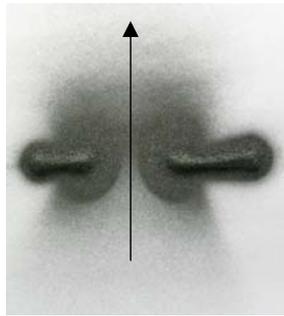


Рис. 4.4.3. След частиц на экране после инъекции ЭП в пелену углерода (ЭПП кислорода при $P_m = 0,5$ Торр, $z = 35$ мм)



Рис. 4.4.4. След частиц на экране после инъекции ЭП в пелену углерода (ЭПП кислорода при $P_m = 5$ Торр, $z = 35$ мм)



Рис. 4.4.5. Интенсивный разлет частиц КДФ (Al_2O_3) при инъекции ЭП (ЭПП воздуха при $P_m = 0,1$ Торр)

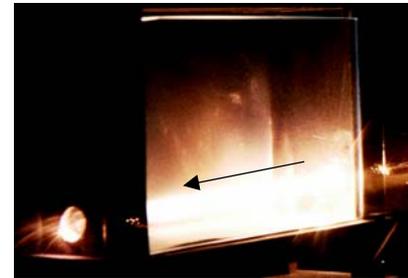


Рис. 4.4.6. Устойчивый реакционный объем Пыль Al_2O_3 в прямоугольном контейнере, $P_m > 5,0$ Торр (ЭПП воздуха)

кулоновским взаимодействием электростатически заряженных пылевых частиц. В работе [4.4.1] показано, что заряд, приобретаемый пылевой частицей при непосредственном воздействии на нее электронного пучка, может достигать 5×10^7 зарядов электрона. Это соответствует удельному заряду 10^6 зарядов электрона на микрон, что более чем на два порядка превышает характерные значения заряда частиц такого же размера в традиционно используемых газовых разрядах. Эксперименты, проведенные нами с помощью

помещенного в облако ЭПП микрозонда, имитирующего пылевую частицу, показали, что потенциал пылевой частицы может достигать нескольких сотен вольт¹.

Однополярная электростатическая зарядка КДФ приводит к взаимному отталкиванию частиц дисперсной фазы, которое вызывает изотропный разлет этих частиц в направлении от оси инъекции ЭП и вынос пылевых частиц на периферию реакционного объема. Кроме силы электростатического взаимодействия, F_e , на частицу действуют силы, связанные с ее нагревом за счет поглощения энергии электронов пучка, F_{th} , и сила увлечения макрочастиц электронами пучка, F_b . Сила F_b не является изотропной и имеет выделенное направление действия вдоль оси инъекции пучка. В ту же сторону направлена и сила F_{th} , порождаемая испарением материала с поверхности частицы, более интенсивным со стороны, облучаемой пучком. Совместное действие перечисленных сил определяет пространственное распределение частиц КДФ по реакционному объему.

Рассмотрим некоторые результаты наших экспериментов по инъекции ЭП с энергией 25-30 кэВ в газ, запыленный полидисперсными частицами ацетилсалициловой кислоты, аморфного углерода и оксида алюминия Al_2O_3 (керамика) с характерным размером ≈ 50 мкм. Рисунок 4.4.1 иллюстрирует типичную постановку эксперимента (см. также рис. 4.2.2): ЭП инжектируется в вертикальную пелену пылевых частиц перпендикулярно ее плоскости; пелена формируется вибрирующим ситом, а твердые частицы, образующие пелену, падают вниз под действием силы тяжести. На рисунке хорошо видна зона пелены, в которой пылевые частицы практически отсутствуют. Улавливание пылевых частиц экраном, расположенным ниже этой зоны, позволило выявить следующие закономерности разлета аэрозоля в реакционном объеме.

1. Вынос частиц в радиальном направлении происходит в ЭПП, содержащей частицы любой химической природы.
2. Вынос частиц в направлении оси инъекции ЭП происходит в случае, когда вещество частицы имеет относительно низкие температуру и удельную теплоту испарения. В наших экспериментах такой вынос наблюдался только в экспериментах с ацетилсалициловой кислотой (см. рис. 4.4.2); разлет частиц углерода и Al_2O_3 оставался изотропным по крайней мере при плотности инжектируемого пучка $j_b < 10^2$ А/м². При более высоких j_b вынос частиц КДФ в осевом направлении наблюдался и для углеродных, и керамических частиц (см. рис. 4.4.5).

¹ Эксперименты показали, что потенциал U пылевой частицы зависит от химического состава и давления плазмообразующего газа. Характер зависимости $U(P_m)$ полностью аналогичен представленной на рис. 4.1.4 зависимости потенциала дна цилиндрического контейнера, заполненного ЭПП, от давления плазмообразующего газа.

3. Повышение давления плазмообразующего газа приводит к ослаблению как радиального, так и аксиального выноса частиц КДФ. При достижении величины давления $P_m \approx 5$ Торр вынос частиц любой химической природы прекращался полностью, а в диапазоне $0,5 < P_m < 5,0$ Торр интенсивность разлета существенно зависит от материала твердой дисперсной фазы и химического состава плазмообразующего газа, а также от величины P_m (см. рисунки 4.4.3 и 4.4.4). При давлениях $P_m < 0,5$ Торр разлет частиц КДФ становится столь интенсивным, что твердые частицы полностью выносятся из реакционного объема.
4. Увеличение размеров запыленной области качественно не меняет отмеченные выше закономерности. Так, в частности, при давлениях $P_m > 5,0$ Торр плазмы любого из исследованных нами газов реакционный объем в виде кипящего слоя остается однородным даже при высоких мощностях инжектируемого ЭП (см. рис. 4.4.6).

ГЛАВА V. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЭЛЕКТРОННО-ПУЧКОВОЙ ПЛАЗМЕ

5.1. ЭПП-стимулированная деструкция и модификация биополимеров

В данной главе приведены результаты исследования процессов ЭПП-стимулированной деструкции и модификации биополимеров (белков и полисахаридов), сопровождающихся образованием низкомолекулярных продуктов, которые, как предполагалось, могут обладать биологической активностью.

В экспериментах условия проведения пучково-плазменной обработки варьировались в следующих диапазонах:

- Ускоряющее напряжение электронной пушки – 25-30 кВ;
- Ток пучка – 1,5-3,5 мА;
- Плазмообразующие среды и давление в реакционной камере – пары воды (при давлении 2-10 Торр), кислород (при давлении 1-5 Торр), гелий (при давлении 10-40 Торр), аргон (при давлении 0,5-2 Торр), аммиак и азот (при давлении 1-5 Торр);
- Режимы работы генератора ЭПП – непрерывный и импульсно-периодический с регулируемой длительностью (0,01-1,0 с) и скважностью (0,1-0,9) импульсов;
- Время обработки – 2,5-20 мин в зависимости от целей эксперимента;
- Исходные образцы – порошки с характерным размером частиц 10-100 мкм, пленки толщиной 1-20 мкм, губки толщиной 2-5 мм и характерным диаметром пор 50-200 мкм;
- Температура обрабатываемых образцов:
 - белки: 20-40 °С;
 - полисахариды: 30-90 °С.

При этом ставилась задача выявить влияние изменений того или иного параметра, характеризующего режим обработки на структуру, свойства и биологическую активность получающегося продукта (продуктов), и найти оптимальные значения регулируемых параметров, обеспечивающих получение требуемого эффекта.

5.1.1. ЭПП-стимулированная модификация синтетических дериватов α -аминокислот, содержащих пиразолидиновый цикл

Обработку методики проводили на синтетических производных α -аминокислот, содержащих пиразолидиновый цикл и являющихся потенциальными ингибиторами тромбоцитарной агрегации (этил *N*-(1-ацетил-3-метил-2-фенилпиразолидин-5-ил)-(L)-триптофанат, фенилгидразид *N*-метоксикарбонил-(D,L)-фенилаланина, фенилгидразид *N*-*трет*-бутилоксикарбонилглицина, фенилгидразид *N*-*трет*-бутилоксикарбонилаланина). Антиагрегационная способность исходных соединений была показана с помощью специальной компьютерной программы PASS, разработанной в НИИ Биомедицинской Химии им. В.Н. Ореховича и позволяющей прогнозировать вероятность различных видов биологической активности веществ на основе их структурной формулы [5.1.1]. Однако практическое использование этих веществ невозможно вследствие их ограниченной растворимости в дистиллированной воде без нагрева до 70 °С, что может привести к тепловому разрушению аминокислот. Таким образом, синтетические производные аминокислот являлись удобными модельными соединениями для проведения предварительных экспериментов, поскольку изменение растворимости и появление биологического эффекта вследствие пучково-плазменного воздействия легко контролировать, а сами аминокислоты – основной компонент белков.

Условия ЭПП-обработки варьировались следующим образом:

- ускоряющее напряжение $U = 30$ кВ;
- $I_b = 1,5 - 3,5$ мА;
- плазмообразующие среды: воздух, пары воды, кислород и гелий;
- давление плазмообразующей среды в реакционной камере: 5 -10 Торр (воздух, пары воды и кислород) и 40 Торр (гелий);
- время обработки $\tau = 45 - 600$ с.

ЭПП-обработка дериватов аминокислот увеличивала их растворимость в воде и приводила к формированию продуктов, обладающих способностью ингибировать агрегацию тромбоцитов, причем степень проявления антиагрегационных свойств продуктов зависела от рода плазмообразующего газа: наиболее заметный биологический эффект приобретали соединения, обработанные в ЭПП паров воды и кислорода.

На следующем этапе работы было проведено исследование зависимости антиагрегационной активности продуктов ЭПП-модификации гетероциклических производных аминокислот от длительности обработки (τ) и теплового режима обработки (температуры T_s порошка в процессе обработки). В качестве тестового соединения был

выбран неароматический гетероциклический дериват аланина, продукты ЭПП-модификации которого обладали наиболее выраженными антиагрегационными свойствами. В ходе предварительных экспериментов было показано, что на антиагрегационные свойства продукта влияла природа плазмообразующего газа: дериват аланина, модифицированный в ЭПП паров воды, ингибировал агрегацию эффективнее, чем после обработки в плазме гелия. Поэтому при выполнении данной части работы модификацию исследуемого соединения проводили только в ЭПП водяного пара. Результаты представлены в таблице 5.1.1.

Таблица 5.1.1. Влияние фенилгидразида N-трет-бутилоксикарбонилаланина, обработанного в ЭПП водяного пара, на агрегацию тромбоцитов A_{max} *in vitro* в зависимости от температуры T_s , °С и длительности обработки τ , с

АДФ 1×10^{-5} М (контроль), %	АДФ + необра- ботанное соеди- нение, %	АДФ + продукт плазменной модификации, %					
		$\tau = 45,$ $T_s = 38$	$\tau = 90,$ $T_s = 38$	$\tau = 180,$ $T_s = 38$	$\tau = 180,$ $T_s = 55$	$\tau = 300,$ $T_s = 55$	$\tau = 600,$ $T_s = 55$
56±2	46±2	41±3 *	41±3 *	34±3 * **	32±3 * **	31±3 * **	30±2 * **

* - Достоверно по отношению к контролю АДФ 1×10^{-5} М ($p < 0,05$)

** - Достоверно по отношению к контролю АДФ + необработанное соединение ($p < 0,05$)

Степень ингибирования агрегации зависела от длительности обработки пороговым образом, т.е. при малых временах обработки ($\tau < 90$ с) снижения агрегации тромбоцитов либо не наблюдалось, либо оно было слабо выражено; при более длительной обработке антиагрегационный эффект продукта быстро нарастал, однако при $\tau > 180$ с нарастание прекращалось. Нагрев порошка во время плазменной обработки вносил дополнительный вклад в увеличение активности, однако этот вклад не превышал нескольких процентов и таким образом, температурный режим слабо влиял на антиагрегационную способность продукта.

Результаты предварительных экспериментов позволили предположить, что целенаправленная ЭПП-обработка более сложных биоорганических молекул (таких как белки и полисахариды) может кардинальным образом влиять на их структуру и физико-химические свойства и позволить получить низкомолекулярные продукты, обладающие биологической активностью. Также на основании полученных данных были определены наиболее активные плазмообразующие среды, которые были использованы в дальнейших

экспериментах, а именно пары воды и кислород, установлена пороговость эффекта ЭПП-обработки. Эта закономерность подробно обсуждается ниже (см. также рис. 5.1.19).

5.1.2. ЭПП-стимулированная деструкция белков

В первой части главы изучалось влияние пучково-плазменной обработки на структуру и свойства глобулярных и фибриллярных белков: БСА, лизоцима куриного яйца, коллагена I типа из бычьего пяточного сухожилия и фибрин-мономера (ФМ), выделенного из плазмы крови человека. Обработку белков проводили:

- а) в реакционном объеме, организованном в виде кипящего слоя
- б) в виде тонких пленок толщиной $\sim 0,2$ мм на поверхности плоской стеклянной подложки. Процедура получения пленок описана в главе II (раздел 2.1). Такой тип образцов был использован при обработке водорастворимых глобулярных белков – БСА и лизоцима.

Условия ЭПП-обработки были выбраны с учетом результатов предварительных тестовых экспериментов:

- ускоряющее напряжение $U = 30$ кВ;
- $I_b = 1,5 - 3,5$ мА;
- плазмообразующие среды: пары воды, кислород, гелий и аргон;
- давление плазмообразующей среды в реакционной камере: пары воды - 10 Торр, кислород - 5 Торр, гелий - 40 Торр и аргон - 2 Торр;
- время обработки $\tau = 2,5-20$ мин в зависимости от целей эксперимента. В большинстве экспериментов время экспозиции составляло 5 мин;
- во избежание тепловой денатурации белка ЭПП-обработку проводили при температуре $T_s = 37$ °С.

Под действием ЭПП происходило пожелтение пленок и порошков обработанных белков (причем наиболее интенсивная окраска достигалась в ЭПП кислорода, а интенсивность окраски возрастала с увеличением времени экспозиции образцов), и изменение их растворимости в воде. Так, плазмохимическая обработка в ЭПП различных плазмообразующих сред высокомолекулярных белков – фибрин-мономера и коллагена – приводила к повышению их растворимости, что косвенно свидетельствует о формировании низкомолекулярных продуктов деструкции.

Особенно заметно увеличение растворимости было в случае продуктов пучково-плазменной обработки фибриллярного белка коллагена, который, как известно, нерастворим в дистиллированной воде. В результате плазмохимической модификации

растворимость коллагена возрастала в среднем на 28,04%. Максимальную растворимость приобрели продукты 15-ти минутной модификации коллагена в ЭПП водяного пара (36,16%). Степень растворимости образцов возрастала при использовании в качестве плазмообразующей среды кислорода и паров воды, а также с увеличением времени обработки (Таблица 5.1.2), что, вероятно, связано с накоплением низкомолекулярных продуктов ЭПП-стимулированной деструкции.

Таблица 5.1.2. Изменение растворимости коллагена после ЭПП-обработки в различных условиях

Плазмообразующая среда	Время ЭПП-обработки, мин	Растворимость по отношению к необработанному коллагену, %
Пары воды $P_m = 10$ Торр	5 мин	21,62
	10 мин	28,41
	15 мин	36,16
Кислород $P_m = 5$ Торр	5 мин	24,58
	10 мин	29,27
	15 мин	28,20

Полученные продукты были охарактеризованы с помощью УФ- и ИК-спектроскопии, гелепроникающей ВЭЖХ и электрофоретических методик.

При проведении иммуноэлектрофореза было установлено, что действие ЭПП кардинально изменило структуру нативного фибрин-мономера. После обработки в ЭПП фибрин-мономер не вступал в реакцию со специфическими антителами, в то время как исходный фибрин-мономер давал линию преципитации (Рис. 5.1.1).



Рис. 5.1.1. Иммуноэлектрофорез фибрин-мономера до и после ЭПП-обработки (ФМ-К – исходный фибрин-мономер, ФМ-Н₂О – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП паров воды)

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр (пары воды), $\tau = 5$ мин

Образование низкомолекулярных пептидов было прямо показано при проведении электрофореза в агаровом геле и денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле, а также гельпроникающей хроматографии. С помощью электрофореза в 1,4% агаровом геле было установлено, что продукты ЭПП-обработки фибрин-мономера обладают электрофоретической подвижностью, во много раз превышающей таковую нативного белка.

При проведении PAGE необработанного фибрин-мономера в полиакриламидном геле была получена характерная для этого белка картина: несколько полипептидных цепей, имеющих молекулярную массу 66-50 кДа. При электрофоретическом анализе продуктов плазмохимической модификации фибрин-мономера было обнаружено множество пептидов с низкой молекулярной массой.

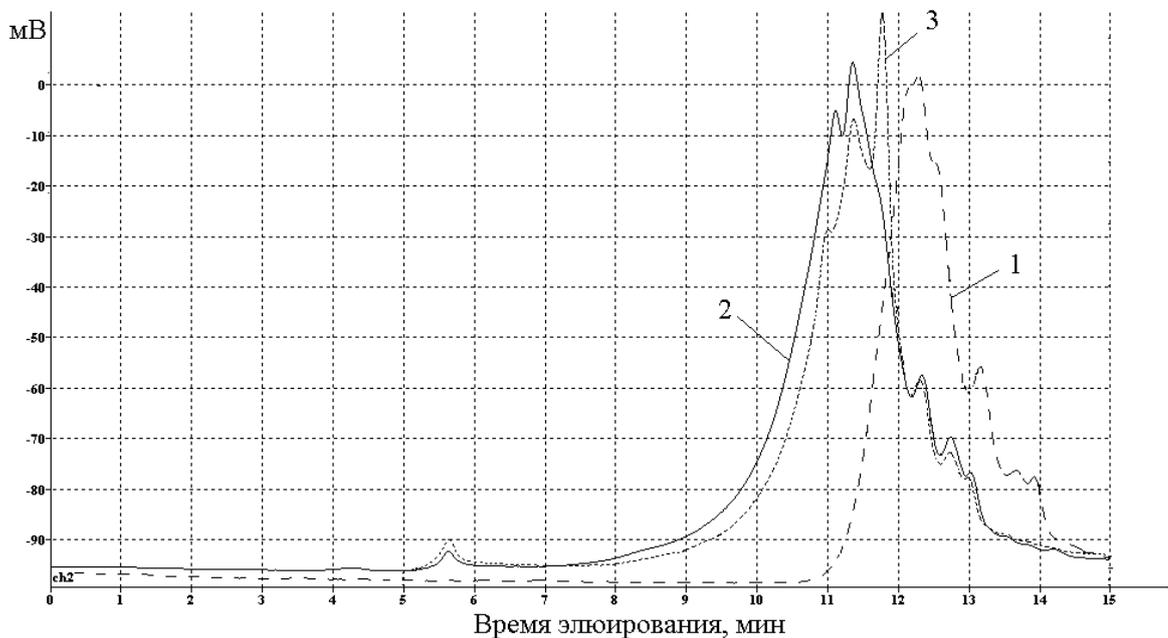


Рис. 5.1.2. Гельпроникающая хроматография продуктов ЭПП-обработки фибрин-мономера: 1, 2 – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП паров воды в течение 5 мин и 15 мин при пониженной плотности тока, 3 – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП гелия. Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр (пары воды) и 40 Торр (гелий), $\tau = 5$ мин

Для анализа молекулярных масс продуктов ЭПП-деструкции фибрин-мономера была проведена гельпроникающая хроматография образцов, обработанных в ЭПП различных сред в течение 5 мин (Рис. 5.1.2). Образец фибрин-мономера, обработанный в ЭПП гелия, содержал небольшое количество молекул с массой более 2000 кДа. Основная масса вещества имела массу менее 1400 Да. Выявлены пики шести индивидуальных низкомолекулярных веществ, имеющих продолжительность элюирования 11,00; 11,35; 11,75; 12,30; 12,74 и 13,13 минут. Фибрин-мономер, обработанный в ЭПП кислорода,

содержал полимеры с массой более 2000 кДа. Основная часть продуктов модификации была представлена низкомолекулярными пептидами с характерными временами элюирования 11,40; 11,78; 12,30 и 13,75 мин. Фибрин-мономер, обработанный в ЭПП водяного пара, вообще не содержал полимеров и был представлен низкомолекулярными пептидными фрагментами. В образце выявлены как минимум шесть пептидных веществ соответствующим пикам с продолжительностью элюирования 12,30; 12,55; 13,17; 13,70; и 13,94 мин. С увеличением продолжительности ЭПП-обработки возрастала доля водорастворимых веществ, и в них снижалось относительное содержание высокомолекулярных водорастворимых веществ (наиболее заметен данный эффект был при обработке в плазме кислорода).

Для исследования структуры полученных продуктов был проведен их более подробный анализ с помощью ИК-спектроскопии и определения содержания различных аминокислотных остатков в режиме 17 основных аминокислот.

При ИК-спектроскопии контрольного образца фибрин-мономера (ФМ-К) и продуктов его деструкции фибрин-мономера в ЭПП паров воды (ФМ-Н₂O) и гелия (ФМ-He) были выявлены существенные различия в спектрах (Рис. 5.1.3, Рис. 5.1.4):

- 1) Полоса поглощения 1163 см^{-1} является общей у контрольного образца ФМ и ЭПП-модифицированных образцов ФМ и свидетельствует об окислении дисульфидных связей в молекуле фибрин-мономера. Интенсивность полосы наиболее высока у образца ФМ-Н₂O.
- 2) Полоса поглощения $\nu = 1471 \text{ см}^{-1}$ характерна для групп $-\text{SO}_2$ и других сульфокислот. Интенсивность полосы также наиболее высока у образца ФМ-Н₂O.
- 3) Полоса поглощения $\nu = 1616 \text{ см}^{-1}$ характеризует деформационные колебания связи $-\text{N}-\text{H}-$ и валентные колебания связи $-\text{C}-\text{N}-$ в $-\text{C}-\text{NH}_2$.
- 4) Полоса поглощения $\nu = 1642 \text{ см}^{-1}$ характеризует валентные колебания связи $-\text{C}=\text{O}-$ (полоса амид I).
- 5) Группа полос $\nu = 1711-1714 \text{ см}^{-1}$ характеризует пептидные связи между аминокислотными остатками, образующими первичную структуру белка. Обращает внимание смещение максимума поглощения от $\nu = 1711 \text{ см}^{-1}$ у ФМ-К до $\nu = 1712 \text{ см}^{-1}$ у ФМ-He и $\nu = 1714 \text{ см}^{-1}$ у ФМ-Н₂O, что свидетельствует о частичной деструкции пептидных связей в ЭПП-обработанных образцах фибрин-мономера.
- 6) Полосы поглощения с $\nu = 3354 \text{ см}^{-1}$ и $\nu = 3475 \text{ см}^{-1}$ характеризуют валентные колебания связи $-\text{N}-\text{H}-$. Расширение полос поглощения в спектрах ФМ-He и ФМ-Н₂O является следствием образования продуктов деградации нативной белковой

молекулы. Следует отметить, что при обработке ЭПП паров воды образуется большее число разнообразных продуктов плазмохимической деструкции ФМ.

Анализ полученных ИК-спектров позволил предположить, что ЭПП-обработка исходного фибрин-мономера привела к частичной деструкции пептидных связей –СО–NH– между аминокислотными остатками, образующими первичную структуру белка, и к окислению дисульфидных связей, стабилизирующих его третичную структуру. Эти изменения более выражены при обработке фибрин-мономера в ЭПП водяного пара, что, по-видимому, связано с действием продуктов плазмолиза воды. (Особенно вероятно, что главная роль в ЭПП-модификации принадлежит радикалам $\cdot\text{OH}$ и синглетному кислороду $^1\text{O}_2$).

На УФ-спектрах фибрин-мономера, обработанного в ЭПП водяного пара и гелия, отмечалось сглаживание максимума на 280 нм, что позволяет сделать вывод об окислении и частичном разрушении ароматических аминокислотных остатков в структуре белка (Рис. 5.1.5).

Определение содержания различных аминокислотных остатков выполняли на анализаторе Т 339М («Mikrotechha-N. P.», Чехословакия) в режиме 17 основных аминокислот. При проведении анализа в продуктах ЭПП-стимулированной деструкции всех исследованных глобулярных и фибриллярных белков было обнаружено снижение массовой доли практически всех аминокислот. После ЭПП-обработки фибрин-мономера наиболее значительно (до 2 раз по сравнению с ФМ-К) снижалось содержание аминокислот лизина, треонина, глутаминовой кислоты, тирозина, фенилаланина (Таблица 5.1.3). Массовая доля аспарагиновой кислоты, серина, глицина, валина, метионина, лейцина и изолейцина уменьшалась в 1,3-1,5 раза по сравнению с нативным фибрин-мономером.

Изменения в содержании аминокислот зависели от состава плазмообразующей среды и были более выражены при обработке фибрин-мономера в ЭПП кислорода и водяного пара по сравнению с ЭПП инертных газов (сравнение проводили для образцов, полученных при фиксированном времени плазмохимического воздействия $\tau = 5$ мин).

В ФМ-Н₂О содержание аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, треонина, цистина и лейцина понижалось на 23,4%, 32,0%, 37,5%, 42,6% и 39,3%, соответственно, в то время как содержание этих аминокислот после обработки фибрин-мономера в плазме гелия уменьшилось на 17,2%, 24,5%, 25,0%, 25,0% и 20,8%. По сравнению с ФМ-He в образце ФМ-Н₂О достоверно снижалось содержание пролина (на 28,6%), валина (на 20,0%), метионина (на 26,7%) и изолейцина (на 28,5%).

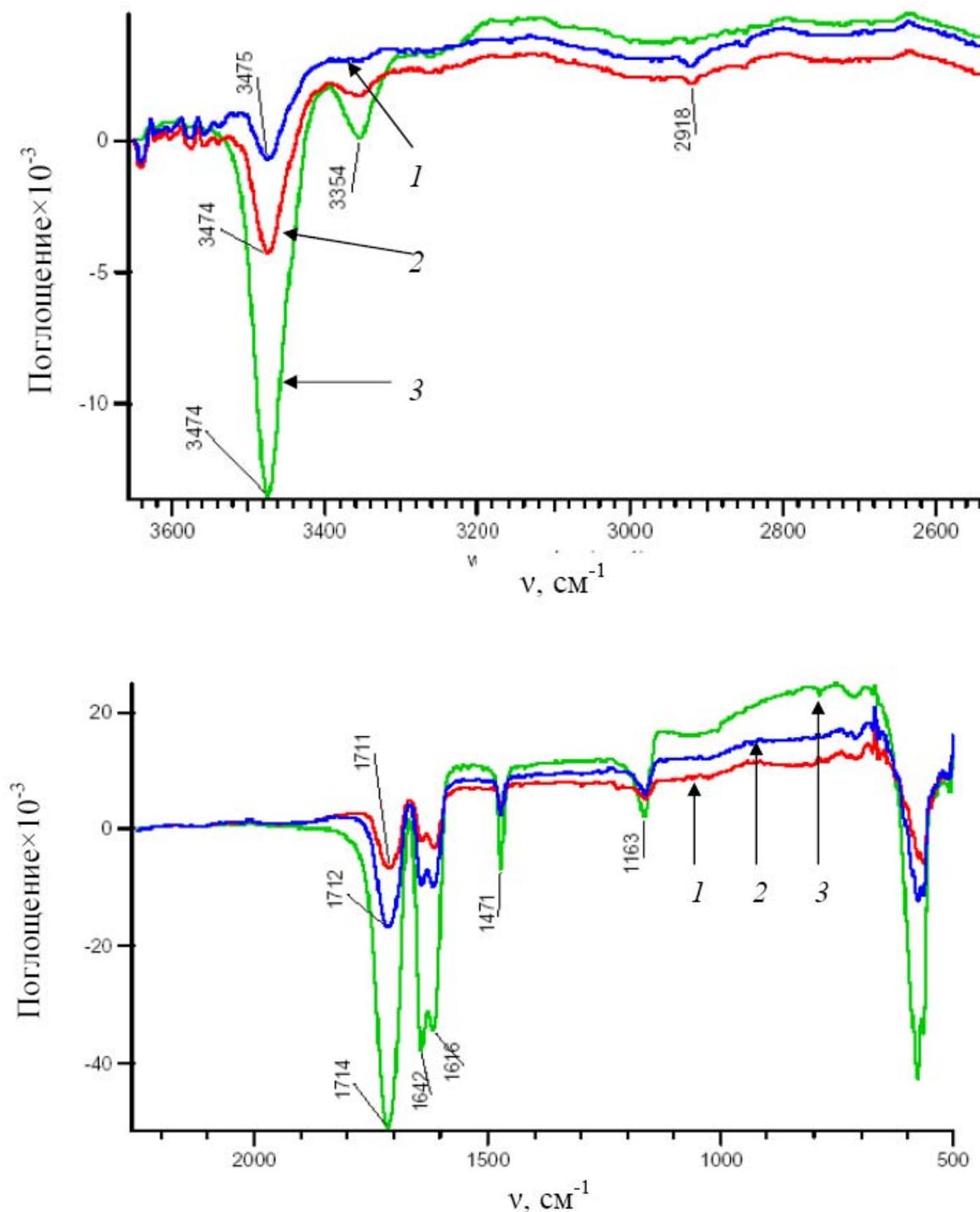


Рис. 5.1.3. ИК-спектры поглощения исходного и ЭПП-обработанного фибрин-мономера: 1 – необработанный фибрин-мономер; 2 – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП геля; 3 – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП паров воды

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр (пары воды), 40 Торр (гелий), $\tau = 5$ мин

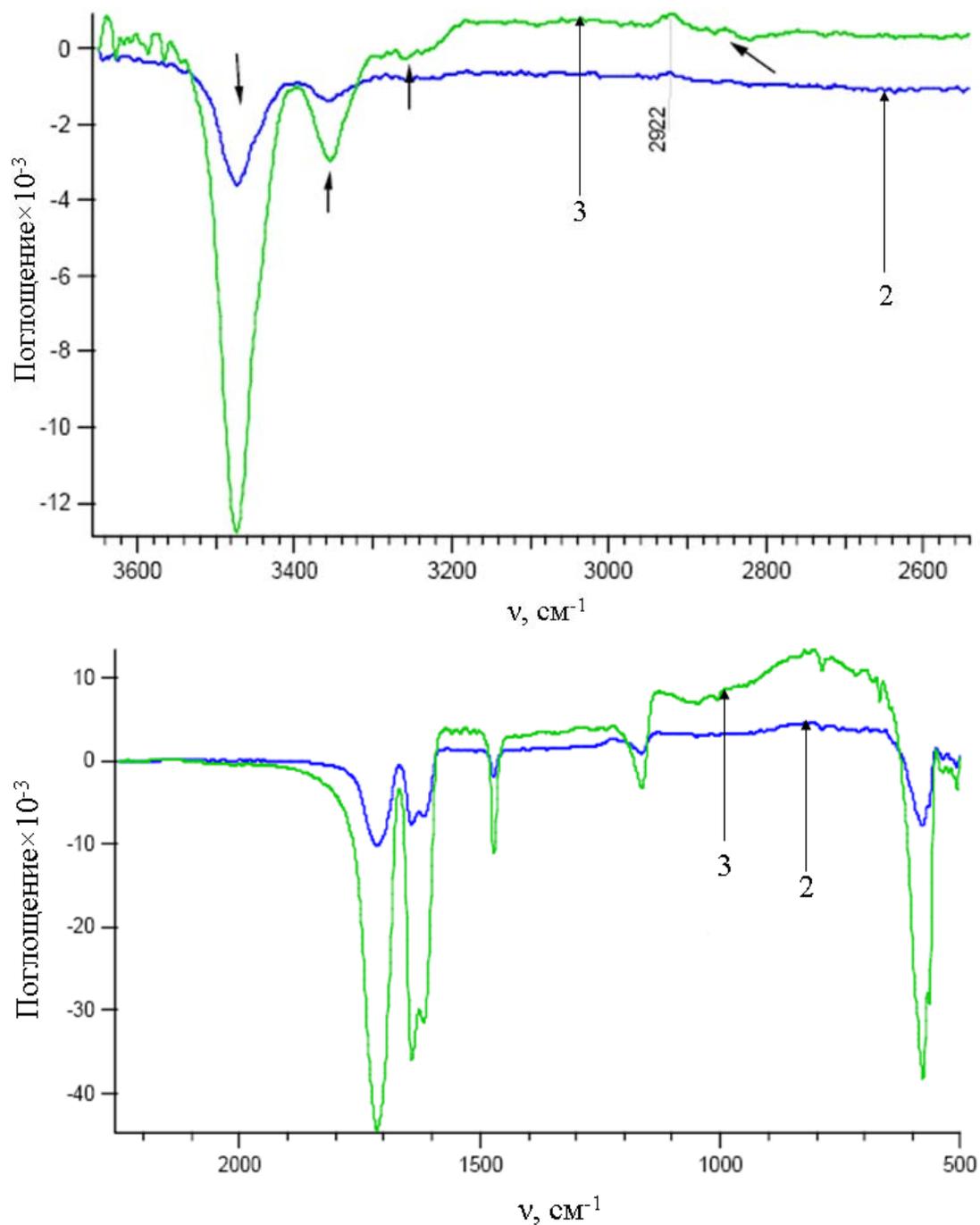


Рис. 5.1.4. Разностные ИК-спектры поглощения ЭПП-обработанного фибрин-мономера: 2 – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП гелия; 3 – фибрин-мономер, обработанный в ЭПП паров воды. Из спектров образцов 2 и 3 вычтен спектр образца 1.

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр (пары воды), 40 Торр (гелий), $\tau = 5$ мин

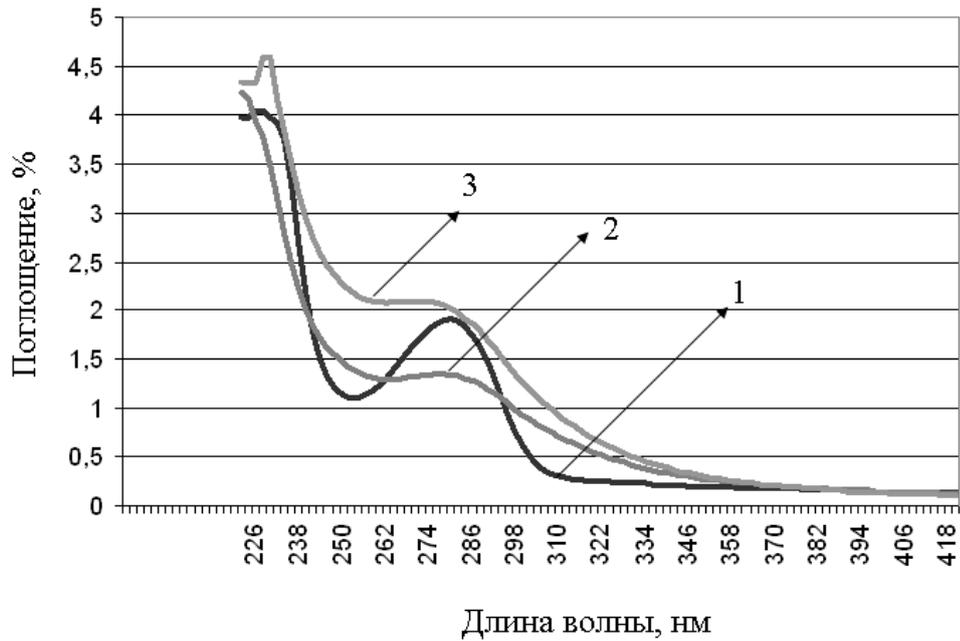


Рис. 5.1.5. УФ-спектры фибрин-мономера: 1 – контрольный ФМ; 2 – ФМ, обработанный в ЭПП паров воды; 3 – ФМ, обработанный в ЭПП гелия.

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр (пары воды), 40 Торр (гелий), $\tau = 5$ мин

Обращает на себя внимание увеличение содержания аланина после ЭПП-обработки ФМ в ЭПП водяного пара, а также увеличение содержания гистидина наиболее заметное после ЭПП-обработки в плазме гелия. По сравнению с ФМ-He в образце ФМ- O_2 снизилось содержание аспарагиновой кислоты, треонина и метионина. Тем не менее, по сравнению с ФМ- O_2 ЭПП-обработка фибрин-мономера в плазме паров воды приводила к уменьшению (помимо аспарагиновой кислоты, треонина и метионина) валина, изолейцина и лейцина. Таким образом, изменения содержания аминокислотных остатков в ЭПП-обработанных образцах фибрин-мономера возрастают в ряду: ЭПП-He \rightarrow ЭПП- O_2 \rightarrow ЭПП- H_2O .

Изменение содержания аминокислотных остатков при плазмохимической деструкции ФМ изучалось также в зависимости от длительности ЭПП-обработки на примере ЭПП кислорода.

При ЭПП-обработке ФМ в плазме кислорода в течение 5 мин происходило снижение содержания лизина, аспарагиновой кислоты, треонина, серина, глутаминовой кислоты, цистина, метионина, тирозина и фенилаланина. Содержание перечисленных аминокислот уменьшалось в 1,3-2,2 раза по сравнению с нативным ФМ. Особенно заметно было уменьшение содержания лизина (более чем в 2 раза) и цистина (в 1,7 раза) по

сравнению с контрольным образцом. Также отмечается незначительное увеличение содержания аланина (на 10%) (Таблица 5.1.4).

Увеличение времени экспозиции с 5 мин до 15 мин не приводило к дополнительному снижению содержания аминокислот, что подтверждает пороговую зависимость эффекта плазмохимического воздействия от времени экспозиции (Таблица 5.1.4). Таким образом, тенденции, показанные при анализе молекулярных масс продуктов ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера в плазме кислорода водяного пара и инертного газа, полностью сохранялись.

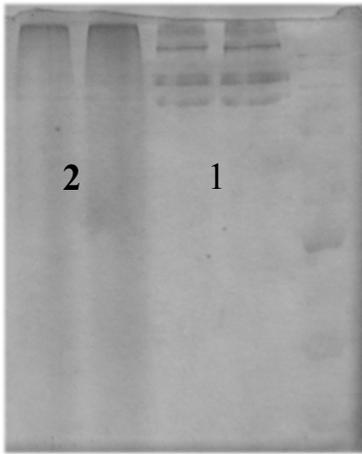


Рис. 5.1.6. PAGE-электрофорез образцов коллагена до и после его обработки в ЭПП водяного пара:

1 – исходный коллаген; 2 – коллаген, обработанный в ЭПП водяного пара в течение 10 мин, соответственно

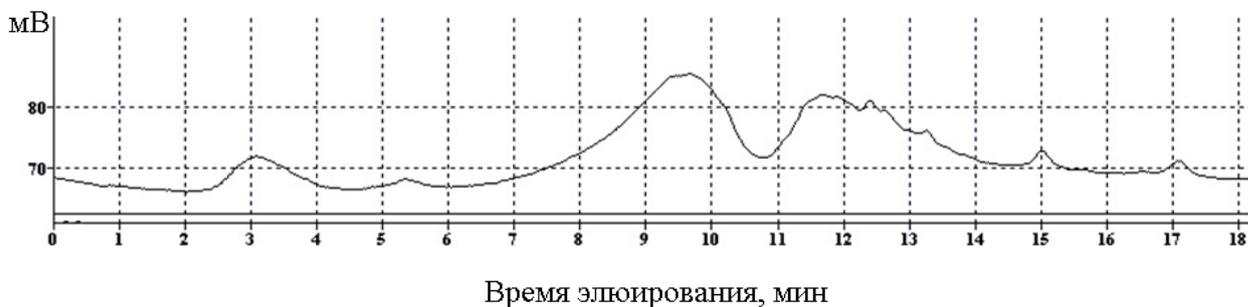
Условия обработки: $U_b = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, водяной пар при $P_m = 10$ Торр

Полученные при исследовании ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера закономерности подтвердились и при анализе продуктов плазмохимической обработки коллагена.

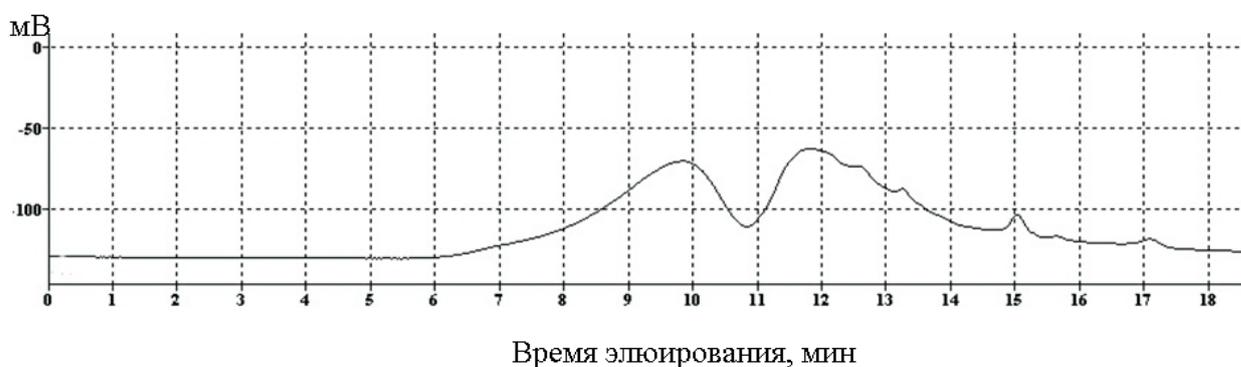
Накопление низкомолекулярных продуктов при ЭПП-обработке высокомолекулярного фибриллярного белка коллагена подтверждается результатами PAGE электрофореза (Рис. 5.1.6). Пучково-плазменная обработка волокон коллагена в ЭПП паров воды и кислорода приводила к формированию ряда низкомолекулярных соединений, большинство из которых имеет молекулярную массу менее 100 кДа.

При проведении гельпроникающей хроматографии было установлено, что состав экстрактов продуктов обработки коллагена как в ЭПП водяного пара, так и в ЭПП кислорода слабо изменялся с увеличением времени экспозиции. В обоих случаях происходило накопление, как высокомолекулярных водорастворимых веществ, так и низкомолекулярных продуктов. На хроматограммах были идентифицированы пики соединений, имеющие продолжительность элюирования 9,8; 11,8; 12,3; 13,4 и 15,0 мин. В образце коллагена, модифицированном в ЭПП водяного пара в течение 5 мин присутствовали продукты, имеющие молекулярную массу более 2000 кДа. (Рис. 5.1.7). При этом содержание высокомолекулярных соединений относительно

низкомолекулярных уменьшалось линейно от продолжительности обработки. Данный эффект наблюдался при любом плазмообразующем газе, но в случае кислорода на 13 % сильнее, чем в водяном паре.



а)



б)

Рис. 5.1.7. Гельпроникающая хроматография продуктов ЭПП-обработки волокон коллагена: а) $\tau = 5$ мин, б) $\tau = 10$ мин

Условия обработки: $U_b = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, водяной пар при $P_m = 10$ Торр

Определение содержания аминокислотных остатков в продуктах пучково-плазменной обработки коллагена в ЭПП паров воды показало, что наиболее значительные изменения в концентрации различных аминокислот наступали через 15 мин ЭПП-обработки. В образце в продуктах, полученных при обработке исходного белка в ЭПП паров воды в течение 15 мин, отмечалось снижение содержания глутаминовой кислоты, аланина и пролина. В то же время содержание гистидина повышалось по сравнению с исходным коллагеном. При меньшем времени ЭПП-обработки содержание аминокислотных остатков в полученных продуктах не изменялось по сравнению с контрольным образцом. Исключение составил гистидин, содержание которого увеличивалось уже через 5 мин ЭПП-обработки (Таблица 5.1.5). В образцах, обработанных в ЭПП кислорода, концентрация гистидина также увеличивалась уже через 5 мин (увеличение содержания гистидина сохранялось и при временах обработки 10 и 15

мин). Содержание остальных аминокислот в образце, обработанном в течение 5 мин, не изменялось. После обработки в ЭПП кислорода в течение 10 мин отмечалось уменьшение содержания треонина. В образце коллагена, обработанном в ЭПП кислорода в течение $\tau = 15$ мин, происходило уменьшение содержания глутаминовой кислоты, аланина, серина, метионина и пролина (Таблица 5.1.6).

Выход низкомолекулярных продуктов зависел от способа подготовки образца, что было показано при исследовании ЭПП-деструкции порошков и тонких пленок БСА и лизоцима. Обработка в ЭПП водяного пара или кислорода в течение $\tau = 2,5-20$ мин порошков БСА и лизоцима не приводила к формированию низкомолекулярных продуктов, что было показано при измерении растворимости, а также методами PAGE и гельпроникающей ВЭЖХ.

При электрофорезе в 7,5 % PAGE продуктов ЭПП-обработки порошка БСА не было обнаружено крупномолекулярных продуктов, что может быть следствием их низкой концентрации в образце или слишком большой молекулярной массы, в результате чего соединения не могли проникнуть в поры геля. Образцы БСА, модифицированные в виде порошка в ЭПП водяного пара в течение $\tau = 2,5$ мин, 5 мин и 10 мин и кислорода в течение $\tau = 10$ мин и 20 мин, не отличались от образца нативного БСА и имели такую же молекулярную массу 66 кДа (Рис. 5.1.8).

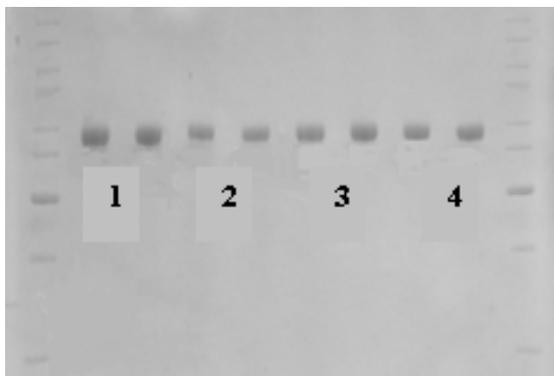


Рис. 5.1.8. PAGE-электрофорез образцов бычьего сывороточного альбумина (БСА) до и после его обработки в виде порошка в ЭПП водяного пара:

1 – исходный БСА; 2, 3, 4 – БСА, обработанный в ЭПП водяного пара в течение 2,5, 5 и 10 мин, соответственно

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр

Следует отметить, что при обработке порошка БСА концентрация белка в ЭПП-обработанных образцах практически не изменялась по сравнению с исходным БСА, что было также подтверждено прямым измерением по методу Лоури и методом гельпроникающей хроматографии. На хроматограммах отмечались лишь небольшие пики, соответствующие низкомолекулярным соединениям с массой менее 66 кДа. Таким образом, пучково-плазменная обработка порошка БСА не приводит к его заметной деградации (Рис. 5.1.9). Более того, с помощью гельпроникающей хроматографии была

показана полимеризация белковых молекул при обработке порошка БСА: были обнаружены высокомолекулярные соединения с массами более 800 кДа, 350 кДа и 150 кДа.

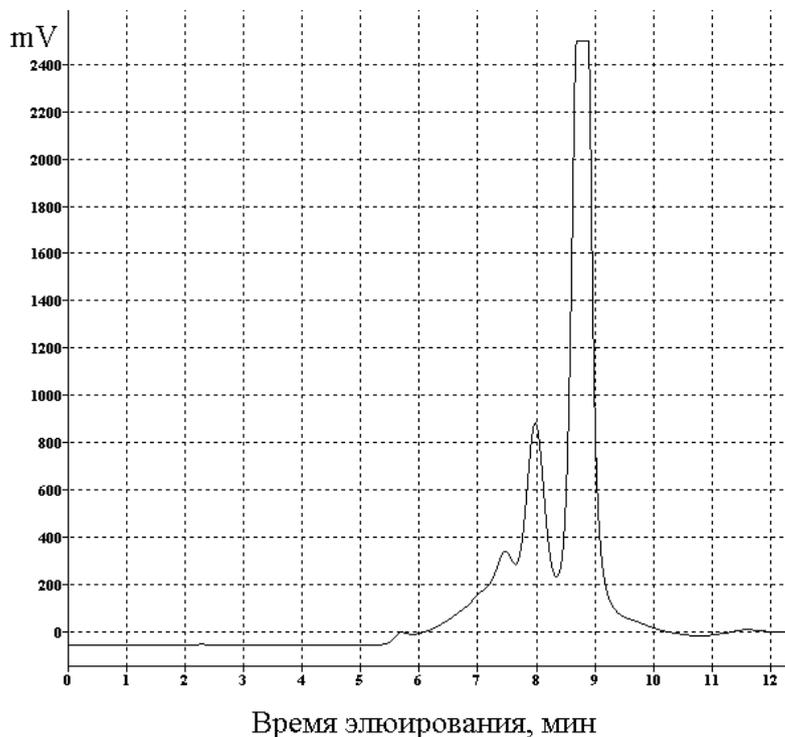


Рис. 5.1.9. Гельпроникающая хроматография продуктов ЭПП-обработки порошка БСА
Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, кислород при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 10$ мин

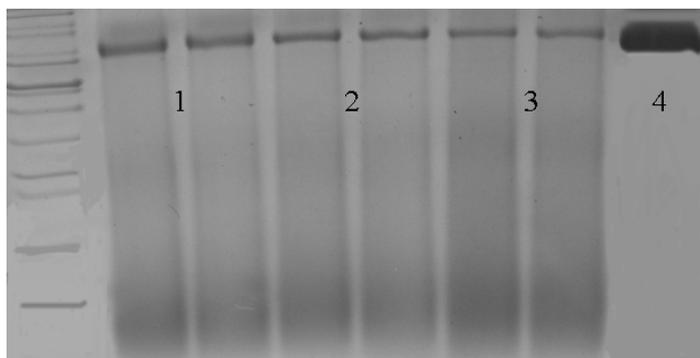


Рис. 5.1.10. PAGE-электрофорез образцов бычьего сывороточного альбумина (БСА) и после его обработки в виде тонкой пленки в ЭПП различных газов: 1, 2, 3 – БСА, обработанный в ЭПП паров воды, кислорода и аргона соответственно; 4 – исходный БСА
Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр (пары воды), 5 Торр (кислород) и 2 Торр (аргон), $\tau = 5$ мин

УФ- и ИК-спектроскопия контрольного и порошка БСА, обработанного в ЭПП-Н₂O в течение $\tau = 2,5$ мин и 10 мин, не выявила существенных отличий между этими

образцами. Тем не менее, при сравнении отношений ИК-спектров было показано усиление интенсивности колебаний C-H после ЭПП-обработки, что может быть следствием увеличения содержания -CH_3 и =CH_2 групп. В то же время содержание ароматических C-H и C=C-H не изменялось.

При определении содержания 17-ти основных аминокислот в БСА, обработанном в виде порошка в ЭПП водяного пара в течение $\tau = 2,5$ мин, 5 мин и 10 мин, было показано, что образцы являлись практически полностью идентичными друг другу. По сравнению с контрольным БСА во всех ЭПП-обработанных образцах снизилась массовая доля двух аминокислотных остатков: глицина (на 14,43-17,01%) и цистина (на 19,38-24,57%).

При определении содержания аминокислот в образцах порошков БСА было установлено, что обработка порошка БСА в ЭПП не приводит к значительным изменениям в содержании аминокислотных остатков по сравнению с исходным белком (в таблице 5.1.7 представлены данные для образца, обработанного в ЭПП кислорода в течение $\tau = 10$ мин). Среди всех определявшихся аминокислотных остатков незначительно снижалось только содержание цистина (на 10,4%), изолейцина (на 11,3%) и тирозина (на 16,3%).

Обработка исследованных глобулярных белков в виде тонких пленок позволила повысить равномерность и глубину обработки образца, что привело к формированию целого ряда пептидов с молекулярной массой менее 14 кДа. При электрофорезе образцов БСА, обработанных в виде пленки, в ЭПП водяного пара в течение $\tau = 2,5 - 10$ мин (БСА- H_2O), кислорода в течение $\tau = 5 - 20$ мин (БСА- O_2) и аргона (БСА- Ar) в течение $\tau = 5$ мин было обнаружено резкое сокращение интенсивности полосы, соответствующей альбумину (Рис. 5.1.10).

Следует отметить, что даже кратковременный нагрев (в течение 30 с до $T_s = 70$ °С) модифицируемого в ЭПП бычьего сывороточного альбумина приводил к полной деструкции белковых молекул в образце.

На хроматограммах были обнаружены многочисленные пики, соответствующие низкомолекулярным соединениям со временами выхода 11,8; 15,1 и 17 мин (Рис. 5.1.11). Концентрация низкомолекулярных соединений зависела от длительности ЭПП-обработки и рода плазмообразующего газа. В случае экспозиции $\tau = 5$ мин деструкция молекул БСА увеличивалась при смене плазмообразующей среды с инертного газа (гелий и аргон) на кислород или пары воды.

На УФ-спектрах БСА и лизоцима, обработанных в виде тонких пленок, отмечалось сглаживание максимума на 280 нм, что позволяет сделать вывод об окислении и частичном разрушении ароматических аминокислотных остатков в структуре белка.

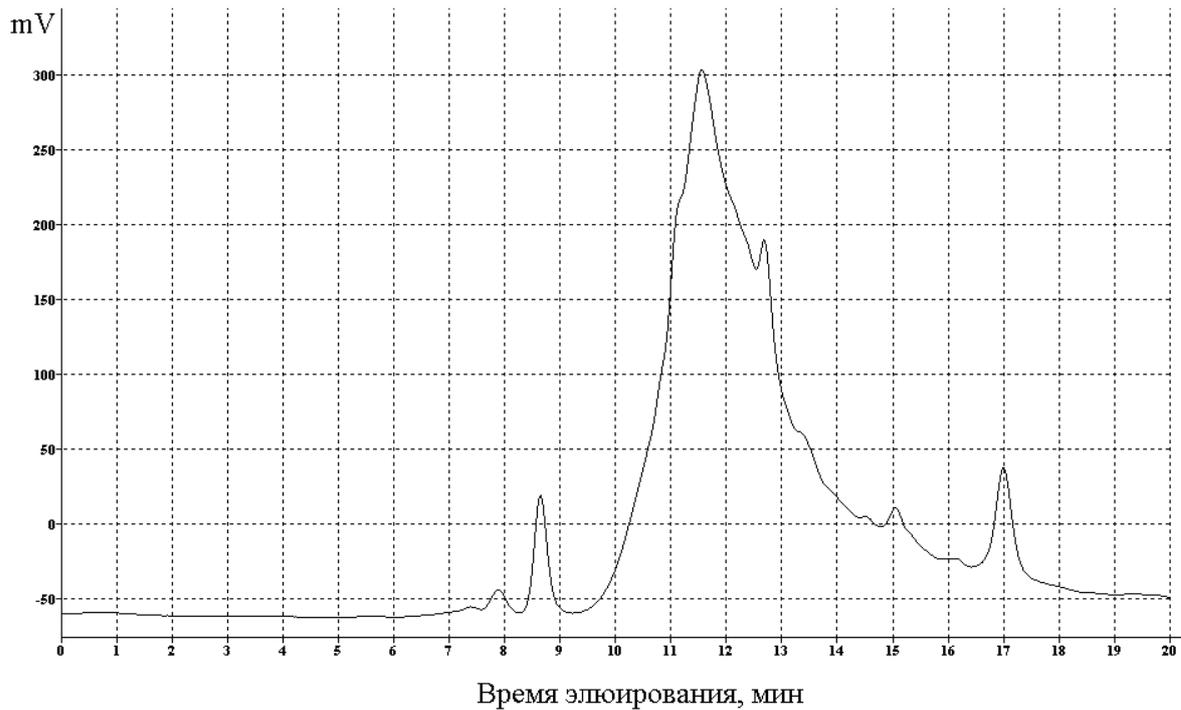


Рис. 5.1.11. Гельпроникающая хроматография БСА, обработанного в виде тонкой пленки в ЭПП кислорода в течение 10 мин

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, кислород при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 10$ мин

При определении содержания аминокислотных остатков в продуктах ЭПП-стимулированной деструкции тонких пленок БСА в ЭПП водяного пара, кислорода и инертных газов при $\tau = 5$ мин было обнаружено существенное уменьшение содержания практически всех аминокислотных остатков (Таблица 5.1.8). Максимальные изменения (более чем в 2-2,5 раза по сравнению с исходным БСА) в образцах, обработанных в ЭПП паров воды, наблюдались в случае лизина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, метионина, пролина, тирозина и цистина. Содержание аргинина, треонина, серина, лейцина, валина, изолейцина, фенилаланина уменьшалось в 1,5-1,8 раза по сравнению с нативным альбумином. С увеличением времени обработки τ до 10 мин происходило дальнейшее снижение содержания лизина и увеличение концентрации глицина. Содержание остальных аминокислотных остатков практически не изменялось по сравнению с образцом БСА, обработанным в течение 5 мин.

В тонких пленках БСА, обработанных в ЭПП кислорода в течение 10 мин, как и у образцов после ЭПП-стимулированной деструкции в парах воды, сохранялась та же направленность изменений: уменьшалась концентрация большинства аминокислотных остатков, повышалось содержание аланина и глицина. По сравнению с продуктами, полученными при обработке БСА в парах воды ($\tau = 10$ мин), в образце после воздействия ЭПП кислорода ($\tau = 10$ мин) дополнительно снижалось содержание аргинина, цистина, метионина, изолейцина и фенилаланина. Содержание остальных аминокислотных

остатков существенно не изменялось. Когда обработка тонких пленок БСА производилась в ЭПП аргона ($\tau = 5$ мин) характер изменений в содержании аминокислот оставался таким же, как при обработке в кислородной плазме (Таблица 5.1.9).

При определении содержания аминокислотных остатков в продуктах обработки пленок лизоцима в ЭПП кислорода и паров воды ($\tau = 5$ мин) было обнаружено снижение уровня лизина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, треонина, серина, цистина, валина, метионина, изолейцина, лейцина и тирозина в 1,2-1,5 раза по сравнению с нативным лизоцимом. При увеличении времени экспозиции до 10 мин происходило дальнейшее снижение содержания перечисленных аминокислотных остатков. Наибольшим изменениям (в 2-3 раза) подвергались лизин, треонин, глутаминовая кислота, тирозин и фенилаланин. По сравнению с лизоцимом, обработанным в течение 5 мин, достоверно снижался уровень аргинина, аланина и фенилаланина (Таблицы 5.1.10 и 5.1.11). Таким образом, изменения структуры всех исследованных глобулярных белков в результате их ЭПП-обработки носят одинаковый характер и имеют общие закономерности.

При анализе продуктов плазмохимического превращения аминокислотных остатков, образующихся при обработке тонких пленок БСА и лизоцима в ЭПП кислорода ($\tau = 5$ мин), было установлено, что в обоих образцах присутствуют разнообразные продукты радикального окисления аминокислот: пирролидон, 2,5-пирролидиндион, 2-пиперидион, 5-этилгидантоин, глутаминовый полуальдегид и т.д. Также было выявлено присутствие различных амидов.

Таблица 5.1.3. Содержание аминокислотных остатков в фибрин-мономере и продуктах его плазмохимической деструкции в ЭПП паров воды (ФМ-Н₂О) и гелия (ФМ-He) в течение 5 мин, % масс.

Аминокислоты	Исходный белок (контроль)	ФМ-Н ₂ О		ФМ-He	
		Содержание	Содержание	% изменения содержания	Содержание
Лизин	0,26±0,03	0,13±0,01	50,0	0,13±0,01	50,0
Гистидин	0,19±0,02	0,20±0,02	5,0	0,25±0,02	31,6
Аспарагиновая кислота	0,64±0,06	0,49±0,05	23,4	0,53±0,05	17,2
Треонин	0,24±0,02	0,15±0,01	37,5	0,18±0,02	25,0
Серин	0,29±0,03	0,22±0,02	24,1	0,21±0,02	27,6
Глутаминовая кислота	0,53±0,05	0,36±0,04	32,0	0,40±0,04	24,5
Пролин	0,14±0,01	0,18±0,02	28,6	0,12±0,01	14,3
Глицин	0,24±0,02	0,22±0,02	8,3	0,22±0,02	8,3
Аланин	0,15±0,01	0,24±0,02	60,0	0,17±0,02	13,3
Цистин	0,068±0,007	0,039±0,004	42,6	0,051±0,005	25,0
Валин	0,15±0,01	0,12±0,01	20,0	0,13±0,01	13,3
Метионин	0,15±0,01	0,11±0,01	26,7	0,12±0,01	20,0
Изолейцин	0,14±0,01	0,10±0,01	28,5	0,12±0,01	14,3
Лейцин	0,24±0,02	0,17±0,02	39,3	0,19±0,02	20,8
Тирозин	0,17±0,02	0,09±0,01	47,0	0,09±0,01	47,0
Фенилаланин	0,16±0,02	0,09±0,01	43,7	0,10±0,01	37,5

Таблица 5.1.4. Содержание аминокислотных остатков в фибрин-мономере и продуктах его пучково-плазменной обработки в ЭПП кислорода в течение 5 мин, 10 мин и 15 мин, % масс.

Аминокислоты, %масс	Исходный белок (контроль)	Продукты ЭПП-обработки фибрин-мономера					
		$\tau = 5$ мин		$\tau = 10$ мин		$\tau = 15$ мин	
	Содержа- ние	Содержа- ние	% изме- нения содер- жания	Содержа- ние	% изме- нения содер- жания	Содержа- ние	% изме- нения содер- жания
Лизин	0,22±0,02	0,10±0,01	54,5	0,08±0,01	63,6	0,10±0,01	54,5
Гистидин	0,09±0,01	0,08±0,01	11,1	0,09±0,01	0	0,10±0,01	11,1
Аспарагиновая кислота	0,42±0,04	0,32±0,03	23,8	0,31±0,03	26,2	0,33±0,03	21,4
Треонин	0,17±0,02	0,12±0,01	29,4	0,12±0,01	29,4	0,13±0,01	23,5
Серин	0,21±0,02	0,15±0,01	28,5	0,14±0,01	33,3	0,15±0,01	28,6
Глутаминовая кислота	0,41±0,04	0,32±0,03	21,9	0,31±0,03	24,3	0,33±0,03	19,5
Пролин	0,18±0,02	0,15±0,01	16,7	0,18±0,02	0	0,15±0,01	16,7
Глицин	0,16±0,02	0,15±0,01	6,2	0,17±0,02	6,25	0,18±0,02	12,5
Аланин	0,10±0,01	0,11±0,01	10,0	0,12±0,01	20	0,12±0,01	20,0
Цистин	0,07±0,01	0,04±0,004	42,8	0,05±0,01	28,6	0,04±0,004	42,8
Валин	0,10±0,01	0,09±0,01	10,0	0,10±0,01	0	0,10±0,01	0
Метионин	0,09±0,01	0,06±0,006	33,3	0,06±0,01	33,3	0,05±0,005	44,4
Изолейцин	0,09±0,01	0,08±0,01	11,1	0,08±0,01	11,1	0,09±0,01	0
Лейцин	0,17±0,02	0,13±0,01	23,5	0,14±0,01	17,6	0,15±0,01	11,7
Тирозин	0,11±0,01	0,08±0,01	27,3	0,06±0,01	45,4	0,10±0,01	9,1
Фенилаланин	0,12±0,01	0,08±0,01	33,3	0,07±0,01	41,7	0,11±0,01	8,3

Таблица 5.1.5. Содержание аминокислотных остатков в коллагене и продуктах его пучково-плазменной обработки в ЭПП водяного пара, % масс.

Аминокислоты, %масс	Исходный коллаген (контроль)	Продукты ЭПП-обработки коллагена		
		$\tau = 5$ мин	$\tau = 10$ мин	$\tau = 15$ мин
Лизин	2,43±0,24	2,42±0,24	2,18±0,22	2,33±0,23
Гистидин	0,77±0,08	0,95±0,09	1,03±0,10	1,01±0,10
Аргинин	6,47±0,65	6,36±0,64	6,12±0,61	6,85±0,68
Аспарагиновая кислота	6,12±0,61	5,26±0,53	5,48±0,55	5,83±0,58
Треонин	1,86±0,19	1,50±0,15	1,63±0,16	1,80±0,18
Серин	2,99±0,30	2,46±0,25	2,79±0,28	2,55±0,25
Глутаминовая кислота	9,46±0,95	8,03±0,80	8,49±0,85	7,07±0,71
Пролин	12,40±1,24	9,95±0,10	11,42±1,14	9,91±0,99
Глицин	15,54±1,55	15,29±1,53	16,61±1,66	14,13±1,41
Аланин	8,36±0,84	7,51±0,75	8,06±0,81	6,38±0,64
Цистин	0,09±0,01	0,10±0,01	0,08±0,01	0,09±0,01
Валин	1,98±0,20	1,93±0,19	2,05±0,20	1,89±0,19
Метионин	0,76±0,08	0,82±0,08	0,68±0,07	0,64±0,06
Изолейцин	1,15±0,11	1,32±0,13	1,32±0,13	0,99±0,01
Лейцин	2,64±0,26	2,53±0,25	2,54±0,25	2,38±0,24
Тирозин	1,04±0,10	1,19±0,12	1,20±0,12	1,31±0,13
Фенилаланин	2,03±0,20	1,94±0,19	1,95±0,19	2,36±0,24

Таблица 5.1.6. Содержание аминокислотных остатков в коллагене и продуктах его пучково-плазменной обработки в ЭПП кислорода, % масс.

Аминокислоты, %масс	Исходный коллаген (контроль)	Продукты ЭПП-обработки коллагена		
		$\tau = 5$ мин	$\tau = 10$ мин	$\tau = 15$ мин
Лизин	2,43±0,24	2,84±0,28	2,15±0,21	2,18±0,22
Гистидин	0,77±0,08	1,03±0,10	0,98±0,10	1,05±0,10
Аргинин	6,47±0,65	7,02±0,70	5,90±0,59	6,19±0,62
Аспарагиновая кислота	6,12±0,61	6,09±0,61	4,96±0,50	5,57±0,56
Треонин	1,86±0,19	1,78±0,18	1,25±0,12	1,59±0,16
Серин	2,99±0,30	2,94±0,29	2,84±0,28	2,41±0,24
Глутаминовая кислота	9,46±0,95	9,66±0,97	7,18±0,72	7,48±0,75
Пролин	12,40±1,24	10,78±1,08	10,24±1,02	9,51±0,95
Глицин	15,54±1,55	16,52±1,65	12,87±1,29	13,97±1,40
Аланин	8,36±0,84	8,22±0,82	8,20±0,82	6,58±0,66
Цистин	0,09±0,01	0,10±0,01	0,08±0,01	0,10±0,01
Валин	1,98±0,20	2,04±0,20	1,85±0,85	2,09±0,21
Метионин	0,76±0,08	0,77±0,08	0,76±0,08	0,77±0,08
Изолейцин	1,15±0,11	1,25±0,12	1,07±0,11	1,03±0,10
Лейцин	2,64±0,26	2,71±0,27	2,54±0,54	2,28±0,23
Тирозин	1,04±0,10	1,13±0,11	1,18±0,12	0,91±0,09
Фенилаланин	2,03±0,20	2,21±0,22	1,70±0,17	1,97±0,20

Таблица 5.1.7. Содержание аминокислот в исходном БСА и продуктах его плазмохимической деструкции, полученных при обработке порошка БСА в ЭПП кислорода в течение 10 мин, % масс.

Аминокислота	Контрольный БСА	Продукты обработки БСА в ЭПП кислорода
Лизин	10,25±1,02	9,44±0,94
Гистидин	3,67±0,37	3,95±0,39
Аргинин	5,39±0,54	5,39±0,54
Аспарагиновая кислота	9,17±0,92	10,27±1,03
Треонин	5,02±0,50	5,33±0,53
Серин	3,75±0,37	3,76±0,38
Глутаминовая кислота	16,78±1,68	16,20±1,62
Пролин	4,01±0,40	3,95±0,40
Глицин	1,45±0,14	1,24±0,12
Аланин	4,91±0,49	5,22±0,52
Цистин	4,73±0,47	4,24±0,42
Валин	4,45±0,44	4,19±0,42
Метионин	2,02±0,20	1,61±0,16
Изолейцин	1,85±0,18	1,64±0,16
Лейцин	9,61±0,96	9,15±0,91
Тирозин	4,30±0,43	3,60±0,36
Фенилаланин	5,01±0,50	4,96±0,05

Таблица 5.1.8. Содержание аминокислот в исходном БСА и продуктах его плазмохимической деструкции, полученных при обработке тонких пленок БСА в ЭПП кислорода (БСА-О₂) и паров воды (БСА-Н₂О) в течение 10 мин, % масс.

Аминокислота	Контрольный БСА	Продукты ЭПП-обработки БСА		
		БСА-Н ₂ О τ = 5 мин	БСА- Н ₂ О τ = 10 мин	БСА-О ₂ τ = 10 мин
Лизин	10,25±1,02	3,68±0,37	2,73±0,27	2,45±0,24
Гистидин	3,67±0,37	4,03±0,40	2,58±0,26	2,82±0,28
Аргинин	5,39±0,54	3,80±0,38	3,60±0,36	3,22±0,32
Аспарагиновая кислота	9,17±0,92	3,86±0,39	5,12±0,51	5,14±0,51
Треонин	5,02±0,50	2,65±0,26	2,63±0,26	2,27±0,23
Серин	3,75±0,37	2,03±0,20	2,11±0,21	1,89±0,19
Глутаминовая кислота	16,78±1,68	5,78±0,58	6,64±0,66	5,90±0,59
Пролин	4,01±0,40	Следы	Следы	Следы
Глицин	1,45±0,14	2,13±0,21	2,48±0,25	2,54±0,25
Аланин	4,91±0,49	5,82±0,58	5,72±0,57	6,12±0,61
Цистин	4,73±0,47	1,78±0,18	2,07±0,21	1,75±0,17
Валин	4,45±0,44	3,70±0,37	3,25±0,32	3,51±0,35
Метионин	2,02±0,20	0,76±0,08	0,89±0,09	0,63±0,06
Изолейцин	1,85±0,18	1,34±0,13	1,30±0,13	1,12±0,11
Лейцин	9,61±0,96	6,55±0,65	6,05±0,60	5,47±0,55
Тирозин	4,30±0,43	1,70±0,17	1,55±0,15	1,79±0,18
Фенилаланин	5,01±0,50	3,43±0,34	3,37±0,34	2,90±0,29

Таблица 5.1.9. Содержание аминокислот в исходном БСА и продуктах его плазмохимической деструкции, полученных при обработке тонкой пленки БСА в ЭПШ аргона в течение 5 мин, % масс.

Аминокислота	Контрольный БСА	Продукты обработки БСА в ЭПШ аргона
Лизин	10,25±1,02	3,01±0,30
Гистидин	3,67±0,37	3,22±0,32
Аргинин	5,39±0,54	3,20±0,32
Аспарагиновая кислота	9,17±0,92	3,66±0,37
Треонин	5,02±0,50	1,98±0,20
Серин	3,75±0,37	1,72±0,17
Глутаминовая кислота	16,78±1,68	6,22±0,62
Пролин	4,01±0,40	2,00±0,20
Глицин	1,45±0,14	2,06±0,21
Аланин	4,91±0,49	6,09±0,61
Цистин	4,73±0,47	1,87±0,19
Валин	4,45±0,44	3,73±0,37
Метионин	2,02±0,20	0,93±0,09
Изолейцин	1,85±0,18	1,35±0,13
Лейцин	9,61±0,96	6,63±0,66
Тирозин	4,30±0,43	1,99±0,20
Фенилаланин	5,01±0,50	3,23±0,32

Таблица 5.1.10. Содержание аминокислот в исходном лизоциме и продуктах его плазмохимической деструкции, полученных при обработке тонких пленок лизоцима в ЭПП паров воды, % масс.

Аминокислота	Контрольный лизоцим	Продукты ЭПП-обработки лизоцима	
		$\tau = 5$ мин	$\tau = 10$ мин
Лизин	5,48±0,55	3,90±0,39	2,83±0,28
Гистидин	1,65±0,16	1,82±0,18	1,71±0,17
Аргинин	10,58±1,06	9,53±0,95	8,42±0,84
Аспарагиновая кислота	20,54±2,05	15,28±1,53	14,38±1,44
Треонин	6,36±0,64	4,51±0,45	3,15±0,31
Серин	6,98±0,70	4,55±0,45	4,39±0,44
Глутаминовая кислота	6,13±0,61	3,98±0,40	3,33±0,33
Пролин	1,92±0,19	1,85±0,18	1,66±0,17
Глицин	6,26±0,63	5,71±0,57	5,60±0,56
Аланин	6,57±0,66	6,85±0,68	7,95±0,79
Цистин	4,33±0,43	3,40±0,34	3,15±0,31
Валин	3,51±0,35	2,65±0,26	2,93±0,29
Метионин	2,03±0,20	1,66±0,17	1,43±0,14
Изолейцин	3,54±0,35	2,86±0,29	2,41±0,24
Лейцин	6,34±0,63	4,46±0,45	3,77±0,38
Тирозин	3,40±0,34	2,48±0,25	1,67±0,17
Фенилаланин	4,37±0,44	4,18±0,42	1,43±0,14

Таблица 5.1.11. Содержание аминокислот в исходном лизоциме и продуктах его плазмохимической деструкции, полученных при обработке тонких пленок и порошков лизоцима в ЭПП кислорода, % масс.

Аминокислота	Контрольный лизоцим	Продукты ЭПП-обработки лизоцима		
		$\tau = 5$ мин пленка	$\tau = 10$ мин пленка	$\tau = 10$ мин порошок
Лизин	5,48±0,55	3,21±0,32	2,99±0,30	5,42±0,54
Гистидин	1,65±0,16	1,76±0,18	1,92±0,19	1,83±0,18
Аргинин	10,58±1,06	8,32±0,83	8,74±0,87	10,78±1,08
Аспарагиновая кислота	20,54±2,05	14,80±1,48	14,28±1,43	17,32±1,73
Треонин	6,36±0,64	3,82±0,38	3,55±0,35	5,87±0,59
Серин	6,98±0,70	5,84±0,58	5,62±0,56	7,46±0,75
Глутаминовая кислота	6,13±0,61	4,08±0,41	4,16±0,42	6,11±0,61
Пролин	1,92±0,19	1,14±0,11	1,11±0,11	1,83±0,18
Глицин	6,26±0,63	5,60±0,56	6,08±0,61	6,03±0,60
Аланин	6,57±0,66	7,59±0,76	8,31±0,83	7,38±0,74
Цистин	4,33±0,43	3,25±0,32	2,67±0,27	4,71±0,47
Валин	3,51±0,35	2,94±0,29	3,10±0,31	3,56±0,36
Метионин	2,03±0,20	1,49±0,15	1,37±0,14	2,64±0,26
Изолейцин	3,54±0,35	2,87±0,29	2,85±0,28	3,69±0,37
Лейцин	6,34±0,63	4,20±0,42	3,94±0,39	5,98±0,60
Тирозин	3,40±0,34	1,84±0,18	1,81±0,18	2,94±0,29
Фенилаланин	4,37±0,44	2,27±0,23	2,32±0,23	2,69±0,27

5.1.3. ЭПП-стимулированный гидролиз полисахаридов

Известно, что особый интерес как для большинства уже доведенных до реальных продуктов и технологий, так и для перспективных применений хитозана (Рис. 5.1.12а) представляют его водорастворимые низкомолекулярные (с молекулярным весом менее 10 кДа) формы [5.1.2]. В настоящее время в промышленных масштабах такие низкомолекулярные соединения получают методами химического или ферментативного гидролиза хитина (Рис. 5.1.12б) с хорошо известными ограничениями и недостатками, присущими этим технологиям [5.1.2]. Общими из них являются большие временные затраты и необходимость проводить гидролиз в растворе, что, учитывая низкую растворимость высокомолекулярного хитозана, сказывается на экономичности процесса, а также довольно сложные методы выделения целевого продукта и необходимость утилизации остальных реагентов. Также эти методы имеют и индивидуальные недостатки. Процессы химического гидролиза сопровождаются образованием значительных количеств токсичных побочных продуктов, содержащих белки, щелочи, кислоты и соли, и требуют весьма затратного обезвреживания отходов перед их сбросом в окружающую среду. Кроме того, для ферментативного гидролиза характерна высокая степень неоднородности (индекс полидисперсности достигает значения 6–7), а для химического – различные модификации структурных звеньев хитозана в зависимости от используемых реагентов.

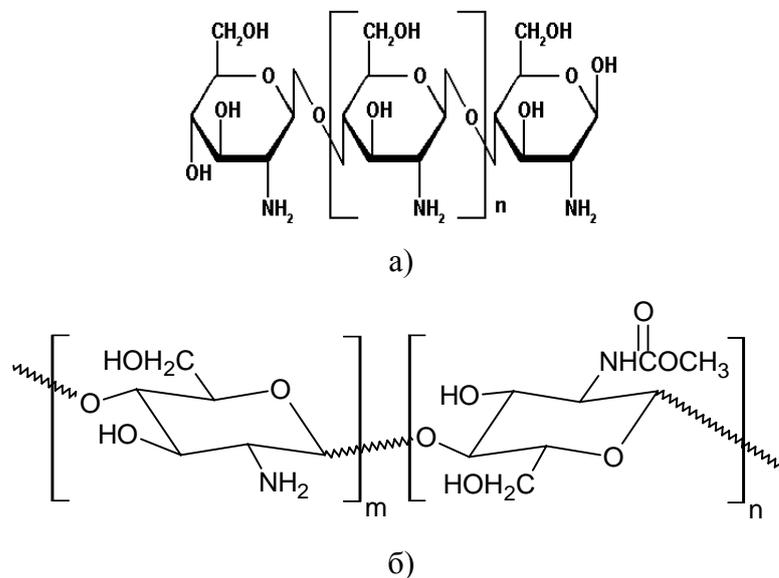


Рис. 5.1.12. Структурные формулы а) хитозана и б) хитина

Таким образом, разработка альтернативных экологически чистых методов управляемой деструкции хитозана, основанных на нетрадиционных воздействиях на вещество, остается крайне актуальной задачей. В данном разделе работы изучена

деструкция хитозанов при воздействии электронно-пучковой плазмы с целью получения растворимых олигомеров с заданной степенью полимеризации.

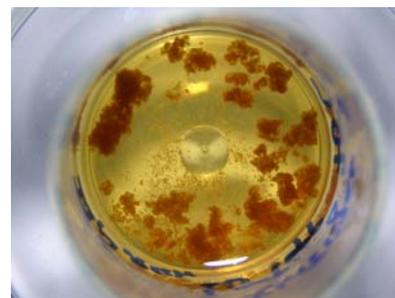
Образцы нерастворимых в воде порошкообразных высокомолекулярного хитина ($M_v = 1000$ кДа) и хитозанов ($M_v = 500$ и 200 кДа и $M_w = 17,7$ и 25 кДа) со степенью деацетилирования 85% и индексом полидисперсности 2.5 были обработаны в ЭПП четырех различных газов при следующих условиях:

- ускоряющее напряжение $U = 30$ кВ;
- $I_b = 1,0 - 15$ мА;
- плазмообразующие газы: кислород, азот и водяной пар при давлении 5 Торр, а также гелий при давлении 10 Торр.

Большинство экспериментов выполнено при развертке ЭП в круглый растр с диаметром, на 20-30 мм превышающей диаметр контейнера, в который помещался образец хитозана. При этом температура в реакционном объеме варьировалась в диапазоне 30-70 °С. Сила тока пучка подбиралась таким образом, чтобы поддерживать постоянными указанные выше значения температуры. Время обработки образцов хитозана варьировалось в пределах 1-60 мин.



а)



б)

Рис. 5.1.13. Изменение цвета и растворимости хитозана ($M_v = 500$ кДа) в процессе ЭПП-обработки: а) исходный хитозан, б) хитозан, обработанный в ЭПП

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, плазмообразующий газ кислород при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 15$ мин, $T_s = 70$ °С

Обработка хитозанов в ЭПП придавала исходным соединениям новые физико-химические свойства. Контрольные образцы хитозанов не растворялись в дистиллированной воде, в то время как продукты их модификации в ЭПП приобретали частичную растворимость (Рис. 5.1.13): хитозан, обработанный в ЭПП кислорода при 30 °С имел растворимость 65%, а обработанный при 70 °С – 95%. Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях плазмы происходит быстрая деполимеризация полисахарида с образованием смеси олигохитозанов с выходом более 70 %. С

увеличением времени экспозиции доля нерастворимых в воде соединений также возрастала.

Основным методом контроля процесса деструкции полисахаридов являлась высокоэффективная гель-проникающая хроматография. Поскольку хитозан растворим в водной среде в протонированной форме (NH_3^+), а хитин не растворим во всем диапазоне рН, получаемые хроматограммы отличались друг от друга. В случае хитина можно определить только короткие фрагменты ($n \leq 7$), тогда как при анализе хитозана виден весь спектр продуктов деструкции. Поэтому механизм деструкции полисахаридов исследовался в основном на хитозане.

При исследовании молекулярной массы продуктов, полученных в результате ЭПП-обработки хитозана в ЭПП азота, гелия, кислорода и паров воды при характерных временах обработки $\tau = 20-60$ мин было установлено, что в ходе плазмохимического воздействия происходит частичная деструкция исходных полимеров и формирование ряда низкомолекулярных продуктов с характерными среднечисловыми молекулярными массами от 400 до 2000 Да. Молекулярная масса для наибольшего пика у полученных хитоолигосахаридов варьировалась в пределах 570-815 кДа и практически не зависела от молекулярного веса исходного хитозана. Характерная хроматограмма представлена на рис. 5.1.14. Это позволяет предположить наличие общего механизма деполимеризации, вне зависимости от природы полисахарида и его молекулярной массы. Дополнительный нагрев образца до 90°C , который достигался увеличением силы тока ЭП, практически не влиял на молекулярную массу образующихся продуктов.

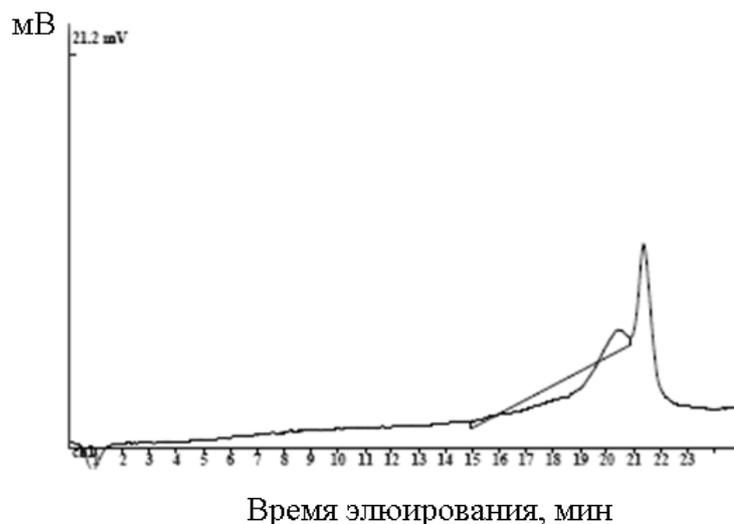
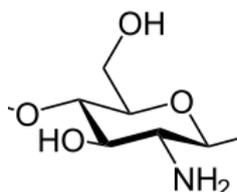


Рис. 5.1.14. Гельпроникающая хроматография хитозана ($M_v = 220$ кДа), обработанного в виде порошка в ЭПП кислорода. Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 2,4$ мА, кислород при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 20$ мин, $T_s = 70^\circ\text{C}$

Степень деструкции зависела от рода плазмообразующего газа: наиболее эффективная наработка низкомолекулярных соединений наблюдалась в ЭПП кислорода и водяного пара, что, вероятно, связано с действием активных форм кислорода (O , O^* , синглетный кислород) и продуктов плазмолиза воды (например, OH^*).

При больших временах экспозиции ($\tau = 20-60$ мин) степень деструкции практически не зависела от времени обработки. Поэтому в следующей серии экспериментов время экспозиции было уменьшено и варьировалось в пределах $\tau = 1-20$ мин. При этом было установлено, что степень деструкции зависела от времени обработки τ пороговым образом, и при увеличении времени обработки с 1 до 5 мин наблюдалось и увеличение степени деструкции, однако при больших временах экспозиции ($\tau > 5$ мин) нарастание прекращалось и дополнительного снижения молекулярной массы полученных продуктов не происходило.

Образцы обработанного в ЭПП кислорода ($\tau = 5$ мин) хитозана со средневесовой молекулярной массой 17,7 кДа проанализированы методом MALDI масс-спектрометрии в диапазоне m/z 2000-15000 (для продуктов ЭПП-деструкции с молекулярными массами до 4 кДа) и в области низких масс с m/z 700-2000 и 300-1100. Во всех исследованных диапазонах имеется ярко выраженное чередование полос через 161 Да, что характерно для олигомеров, отличающихся на одно мономерное звено (Рис. 5.1.15, Рис. 5.1.16):



Независимо от молекулярного веса образцов хитозанов, выход на плато происходил в течение первых двух минут после начала обработки (Рис. 5.1.17) (для БСА такой эффект достигался через 5 мин обработки). Свидетельством этого является исчезновение при $\tau > 2$ мин пика исходного полимера на ВЭЖ-хроматограммах (Рис. 5.1.18), а также неизменность средневесовой молекулярной массы продуктов деструкции при дальнейшей плазменной обработке. Следует отметить, что резкое возрастание интенсивности окраски и растворимости в воде наблюдалось у образцов, обработанных в ЭПП в течение 2-х минут. Значения средневесовых и среднечисловых молекулярных масс продуктов деструкции соответствуют набору олигомеров хитозана от димера до тетрамера, с преобладанием тримера.

Сдвиг распределения по молекулярным массам в область низкомолекулярных фрагментов при увеличении времени ЭПП-гидролиза исходного хитозана (τ) с 1 до 8 мин

также показан и с помощью MALDI Performance масс-спектрометрии, при этом в продуктах, полученных на 8-й минуте, преобладали димеры.

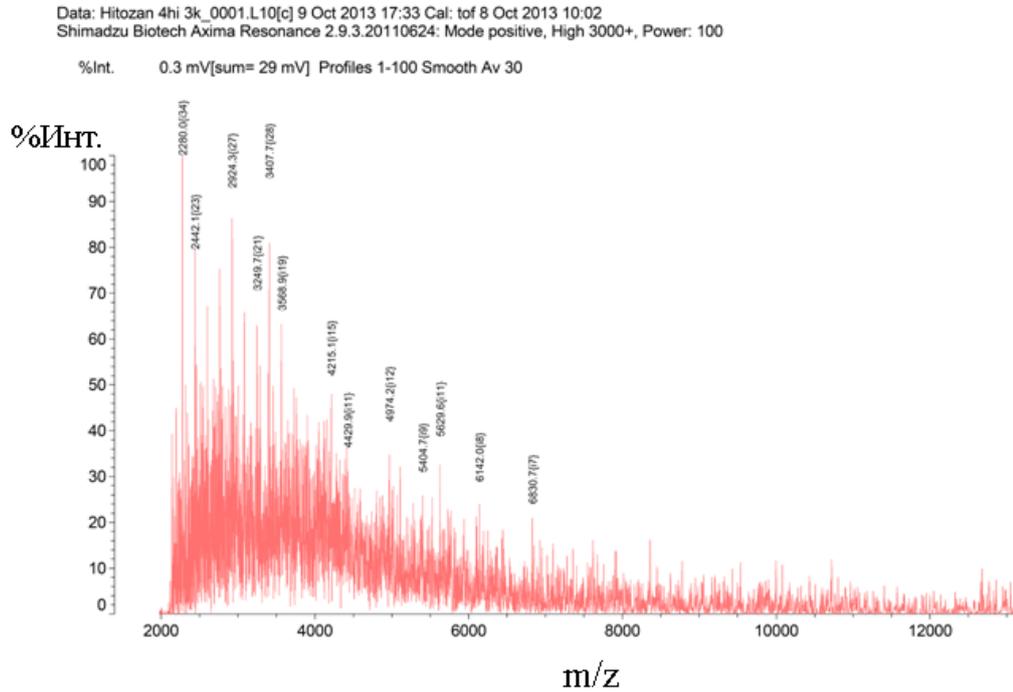


Рис. 5.1.15. MALDI Масс-спектр хитозана ($M_v = 17,7$ кДа) в диапазоне m/z 2000-15000. (Использовано подавление сигналов ионов с $m/z < 3000$)

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, кислород при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 5$ мин, $T = 70$ °С

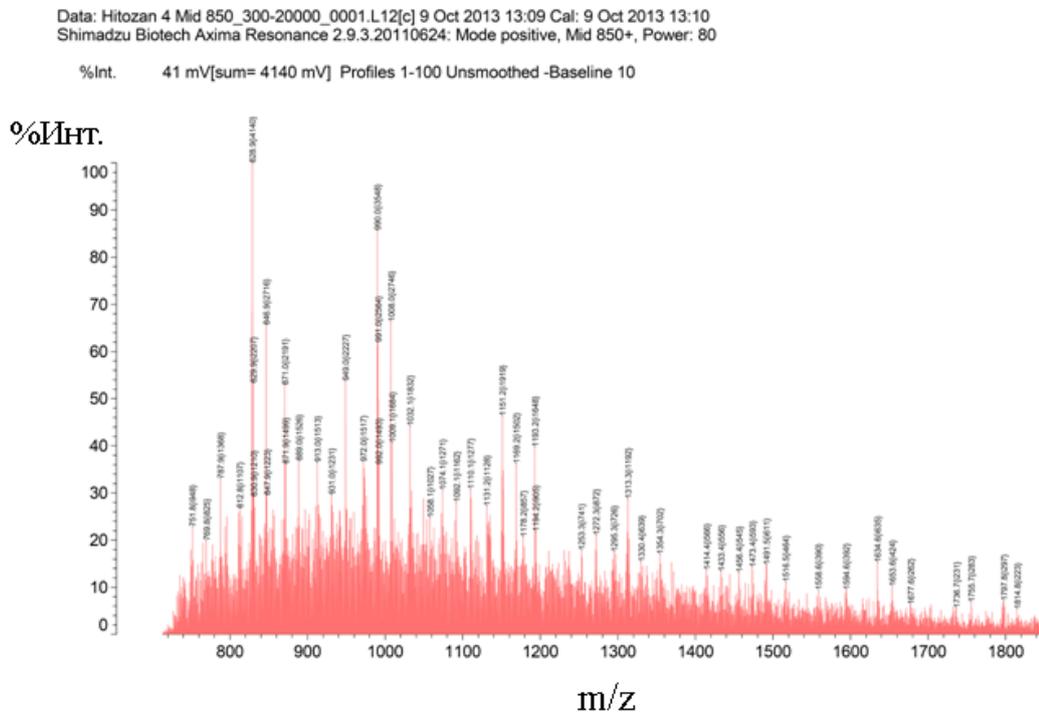


Рис. 5.1.16. MALDI Масс-спектр хитозана ($M_v = 17,7$ кДа) в диапазоне m/z 700-2000. (Использовано подавление сигналов ионов с $m/z < 850$)

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, кислород при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 5$ мин, $T = 70$ °С

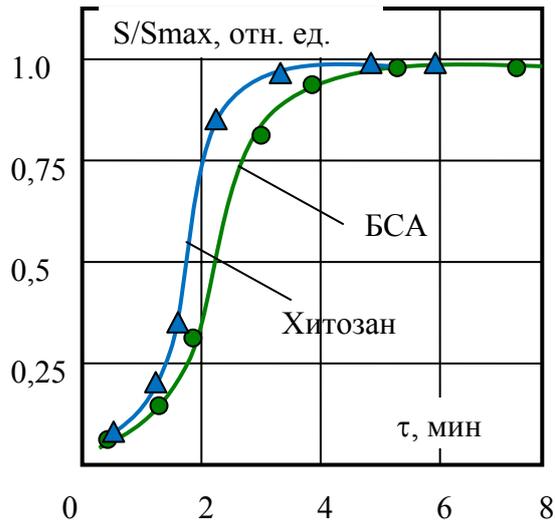


Рис. 5.1.17. Изменение количества низкомолекулярных продуктов ЭПП-деструкции БСА и хитозана в зависимости от времени обработки τ

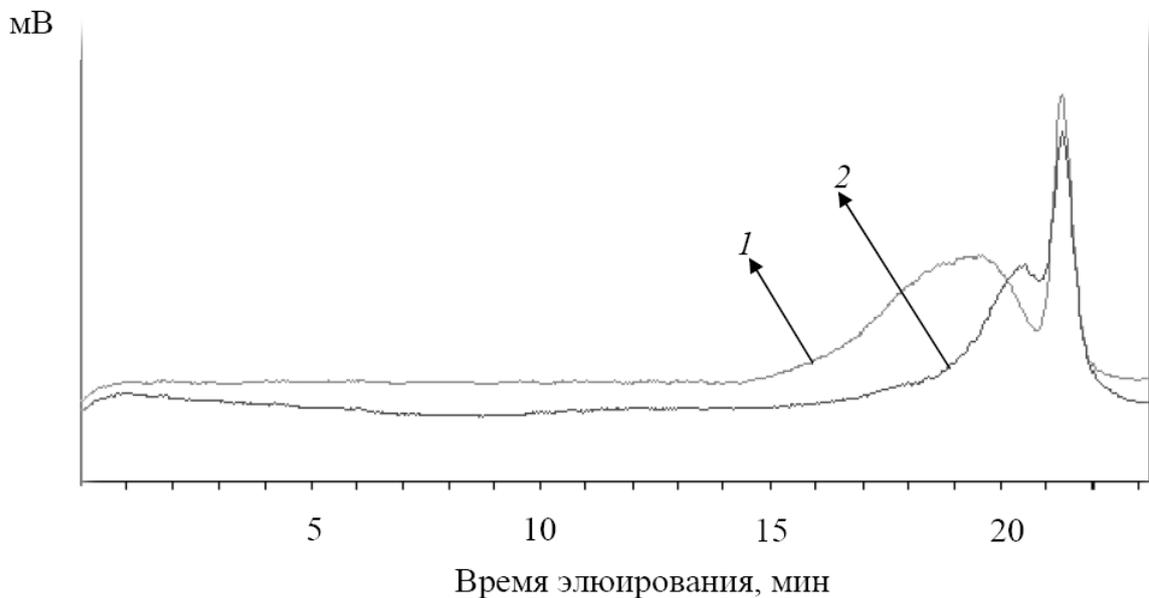


Рис. 5.1.18. Хроматограммы продуктов обработки хитозана ($M_v = 27$ кДа) в ЭПП кислорода при варьировании времени обработки τ : 1 - $\tau = 1$ мин ($M_n = 2258$ Да, $M_w = 8755$ Да, $M_w / M_n = 3,88$), 2 - $\tau = 2$ мин ($M_n = 542$ Да, $M_w = 818$ Да, $M_w / M_n = 1,51$).
Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 2,4$ мА, $P_m = 5$ Торр, $T = 70$ °С.

Время обработки $\tau > 10$ мин приводило к появлению продуктов конденсации олигомеров хитозана, что было обнаружено при гелепроникающей хроматографии и MALDI и приводило к снижению растворимости продуктов в дистиллированной воде (Рис. 5.1.13б). Конденсация быть связана с взаимодействием альдегидных и аминогрупп, а также продуктов деструкции сахаридных звеньев и процессами внутримолекулярной циклизации, приводящей к возникновению ароматических структур (фурановых циклов)

на концах олигосахаридов и мономеров, образующихся при длительном ЭПП-воздействии. Так, при $\tau = 20$ мин на MALDI масс-спектре исчезает характерная очередность полос, соответствующим по молекулярной массе мономерным фрагментам, что подтверждает предположение о плазмохимической модификации мономеров.

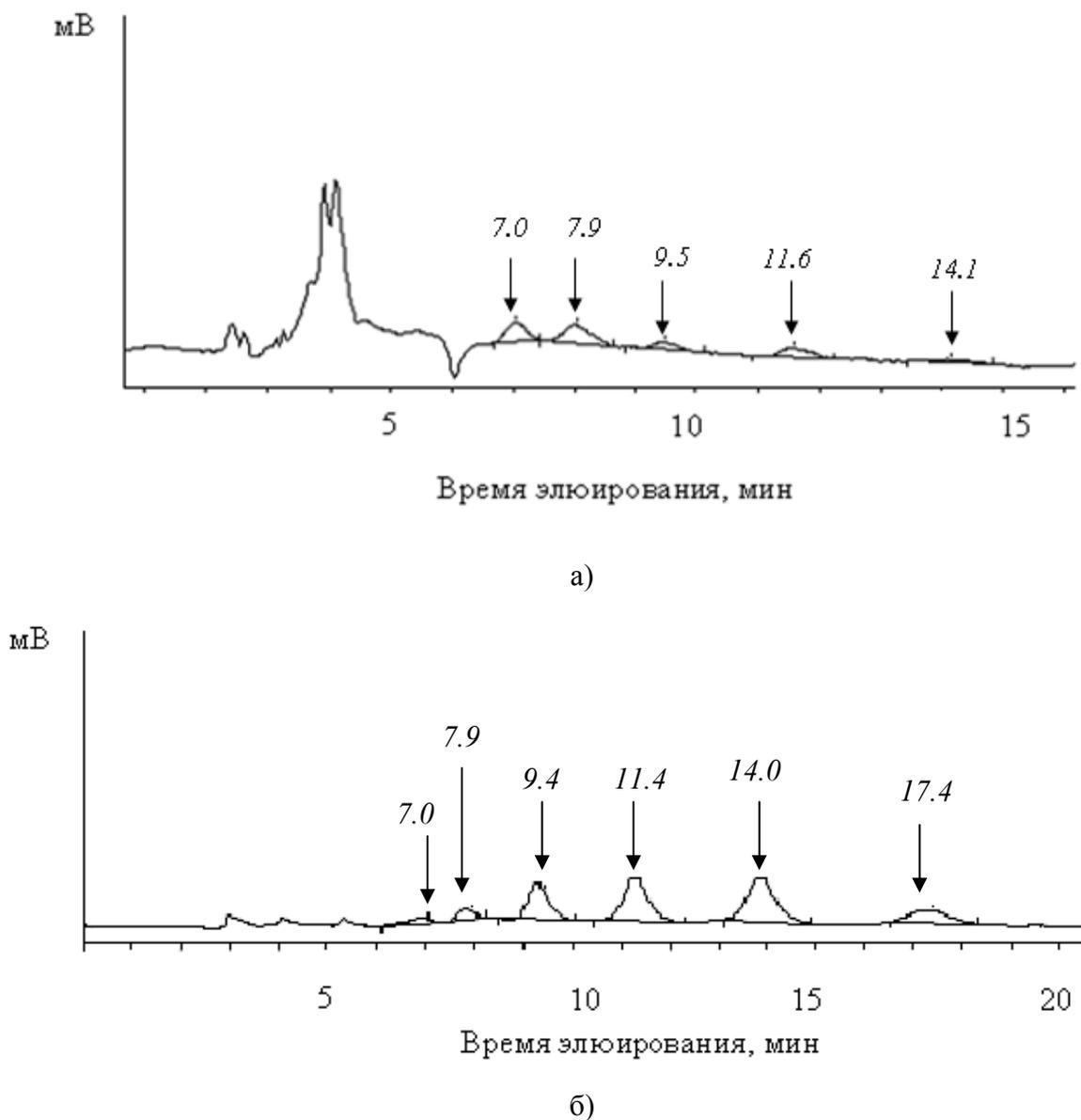


Рис. 5.1.19. Результаты обращенно-фазовой хроматографии продуктов обработки хитина в ЭПП кислорода ($M_n = 461$ Да, $M_w = 1110$ Да, $M_w / M_n = 2.38$) (а) и модельной смеси индивидуальных олигомеров N-ацетилглюкозамина со степенью полимеризации $n = 1-6$ (б). Цифрами у стрелок указано время элюирования соединений.

Формирование ароматических структур было прямо показано с помощью ^1H ЯМР-спектроскопии. Также при проведении хромато-масс-спектрометрии были обнаружены соединения, содержащие пирановые циклы и продукты окисления пиррола и пиридина.

Средневесовые молекулярные массы продуктов плазмохимической модификации хитина, полученные в оптимальных условиях и при $\tau < 10$ мин, находились в пределах 1000–2000 Да, позволяет предположить наличие общего механизма деполимеризации хитина и хитозана, вне зависимости от природы полисахарида. Для подтверждения того факта, что продуктами плазмохимической обработки хитина при $\tau < 10$ мин являются немодифицированные олигомеры (в пределах чувствительности метода), была использована обращенно-фазовая хроматография. Как видно из Рис. 5.1.19, времена выхода продуктов деструкции хитина совпадают с соответствующими параметрами маркеров. Кроме того полученные данные хорошо коррелируют с результатами гельпроникающей хроматографии.

Ряд экспериментов был выполнен с целью отработки подходов к масштабированию процесса ЭПП-стимулированной деградации порошков полисахаридов. Для этого было использовано размещенное в реакционной камере устройство, которое обеспечивало перемешивание значительного количества (вплоть до нескольких десятков граммов) порошка полисахаридов во время ЭПП-обработки (Рис. 4.1.1, 4.2.2). Устройство представляло собой цилиндрический контейнер, состоящий из кварцевой трубы, оснащенной внутренними ребрами, и металлического днища. Второй торец трубы был открыт, и через него осуществлялась инъекция ЭП в полость контейнера. Устройство приводилось во вращение шаговым электродвигателем, который позволял вращать контейнер как в непрерывном, так и импульсном режимах, осуществлять реверс и изменять скорость вращения. Подбором режимов вращения устройства удалось добиться равномерности обработки всей массы навески порошка и обеспечить поддержание требуемого температурного режима.

Первая серия экспериментов была выполнена в следующих условиях: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, плазмообразующие газы - кислород или воздух при $P_m = 1, 3$ и 5 Торр, $\tau = 5-20$ мин, $T_s = 70$ °С. Параметры перемешивающего устройства: длина цилиндрической части контейнера 10 мм, ее диаметр 20 мм. В качестве тестовых образцов использовали хитозаны со средневязкостной молекулярной массой 500 и 200 кДа, а также хитин.

При анализе полученных продуктов с помощью гельпроникающей хроматографии было показано, что молекулярная масса для наибольшего пика во всех образцах хитозана, обработанных в ЭПП кислорода, варьировалась в пределах 500-800 Да, а индекс полидисперсности – в пределах 2,1-3,6. При обработке в воздухе были получены продукты, с молекулярной массой наибольшего пика ~ 2 кДа и индексом полидисперсности 2,4-3,5. Аналогичные результаты были получены и при обработке

хитина в ЭПП кислорода или воздуха. Кроме того, наблюдалось незначительное (~5%) деацетилирование молекул хитина.

С целью оптимизации условий ЭПП-обработки было выполнено компьютерное моделирование распределения энерговклада по реакционному объему (см. раздел 7.4). С учетом данных, полученных при моделировании, для повышения эффективности и равномерности ЭПП-обработки порошкообразных образцов конструкция устройства была модернизирована. Внутренняя поверхность контейнера была покрыта тефлоном для предотвращения налипания порошка на стенки во время обработки, а размеры контейнера были изменены: длина контейнера была уменьшена до 50 мм, а его диаметр, напротив, увеличен до 50 мм. Изменение геометрии контейнера потребовало подбора нового режима сканирования ЭП и увеличения рабочего давления в реакционной камере до 5 Торр и оптимизации времени ЭПП-стимулированного гидролиза.

При этом было установлено, что и при такой геометрии реакционного объема сохраняется пороговый характер зависимости выхода низкомолекулярных хитоолигосахаридов от времени обработки. В этом случае максимальный выход низкомолекулярных продуктов ЭПП-гидролиза хитина наблюдался через 10 мин после начала обработки (Рис. 5.1.20), а затем начинались процессы вторичной полимеризации.

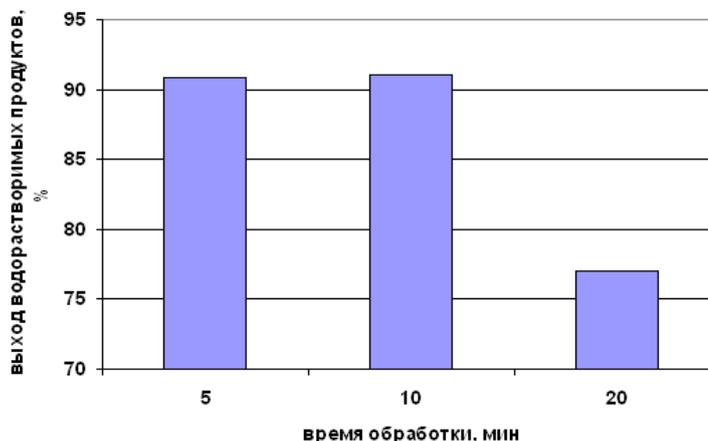


Рис. 5.1.20. Выход низкомолекулярных продуктов ЭПП-деструкции хитина (%), полученных при ЭПП-стимулированном гидролизе во вращающемся перемешивающем устройстве в зависимости от времени обработки.

При обработке хитина в ЭПП кислорода в оптимизированных условиях выход низкомолекулярных продуктов составил 90% (Рис. 5.1.20), при проведении обращено-фазовой хроматографии была получена картина, аналогичная представленной на Рис. 5.1.19а, процентное содержание каждой из фракций в общей смеси приведено в таблице 5.1.12.

Таблица 5.1.12. Содержание фракций (%) в смеси хитоолигосахаридов, полученных при ЭПП-стимулированном гидролизе хитина ($M_v = 1000$ кДа) во вращающемся перемешивающем устройстве в течение $\tau = 10$ мин

Номер фракции	Время выхода фракции, мин	Содержание фракции, %
1	7,008	26,84
2	7,082	34,16
3	9,484	12,06
4	11,640	19,40
5	14,130	7,54

Таким образом, в данной серии физических и вычислительных экспериментов были накоплены экспериментальные данные, характеризующие эффект пучково-плазменного воздействия на хитин и хитозан в различных условиях. При этом были найдены значения (и диапазоны вариации) параметров, характеризующих режимы управляемой плазмохимической деградации хитозанов: химический состав и давление плазмообразующей среды, энергия инжектируемых электронов, мощность пучка и режим его сканирования по реакционному объему. Полученные экспериментальные данные, позволили также оптимизировать процесс обработки хитозанов подбором времени экспозиции и температурного режим во время пучково-плазменного воздействия. Для обработки хитозанов во вращающемся контейнере оптимальное время экспозиции составляло $\tau = 5$ мин, а температурный диапазон был ограничен интервалом 60-70 °С.

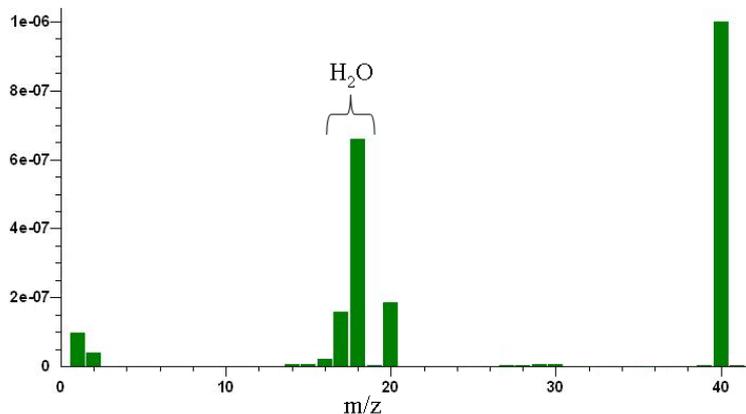


Рис. 5.1.21. Масс-спектр ЭПП аргона с внесенным в нее порошком биополимера.

Обобщая результаты исследования влияния пучково-плазменной обработки на структуру и свойства белков и полисахаридов, можно утверждать, что:

1) Эффект пучково-плазменной обработки белков определяются параметрами ЭПП: родом плазмообразующей среды, давлением плазмообразующего газа в реакционной камере, длительностью обработки образца. Изменения свойств белков (растворимость в воде, молекулярная масса, содержание аминокислот) более выражены при обработке белков в ЭПП водяного пара и кислорода, что, по-видимому, связано с действием активных форм кислорода, образующихся в результате плазмохимических процессов, и

продуктов плазмолиза воды. Особенно вероятно, что главная роль в ЭПП-модификации принадлежит радикалам $\cdot\text{OH}$ и синглетному кислороду $^1\text{O}_2$.

Деструкция и окисление биополимеров в ЭПП инертных газов, вероятно, объясняется плазмохимическими превращениями связанной с молекулами белков и полисахаридов воды. По крайней мере, наличие воды было показано при масс-спектрометрии ЭПП, содержащей порошки биополимеров (Рис. 5.1.21).

2) Эффект плазмохимического воздействия на биополимеры зависит от длительности обработки τ . При этом следует особо отметить два фундаментальных результата, имеющих чрезвычайно важное практическое значение:

- пороговый характер зависимости, связывающей степень деструкции биополимера с длительностью пучково-плазменного воздействия, что позволяет оптимизировать процесс обработки и исключить непроизводительные энергозатраты;
- вероятность появления побочных, не растворимых в воде соединений в составе продуктов пучково-плазменной модификации хитозанов – эффекта, обусловленного обратной полимеризацией образующихся низкомолекулярных продуктов при неоптимальном выборе условий обработки.

2) Глубина ЭПП-воздействия и связанный с ней массовый выход низкомолекулярных продуктов ЭПП-обработки биополимеров определяются не только параметрами самой ЭПП, но и характеристиками обрабатываемого образца. Для порошкообразных образцов характерно наличие тонкого приповерхностного слоя (толщиной не более 10 мкм), в котором происходит эффективная деструкция и модификация биополимера.

В отличие от порошкообразных, образцы белков в виде лиофилизированной пленки толщиной ~ 1 мкм удастся равномерно обрабатывать по всей глубине, так как в тонких пленках плазмохимические реакции протекают во всем объеме образца. Таким образом, возможно увеличить выход низкомолекулярных продуктов.

3) Показано, что процесс управляемой ЭПП-стимулированной деградации полисахаридов возможно масштабировать. При этом при оптимизации характеристик плазмообразующей среды (химический состав, давление) и электронного пучка (плотность энерговклада Q) возможно получать водорастворимые низкомолекулярные биоактивные продукты с заданными свойствами в количествах, достаточных для практического использования.

5.1.4. Модификация тонких пленок и губок полисахаридов в электронно-пучковой и гибридной плазме

В разделе 5.1.3. рассматривалось изменение структуры и свойств полисахаридов, обработанных в ЭП в виде порошков, в данном разделе исследовалась плазмохимическая модификация материалов в формах пленок и губок, изготовленных из различных полисахаридов. Актуальность модификации полисахаридных материалов (хитозана (Рис. 5.1.12), целлюлозы, альгиновой кислоты (Рис. 5.1.22)) в таких формах связана с тем, что они являются перспективными гемостатическими средствами местного действия [5.1.2– 5.1.5].

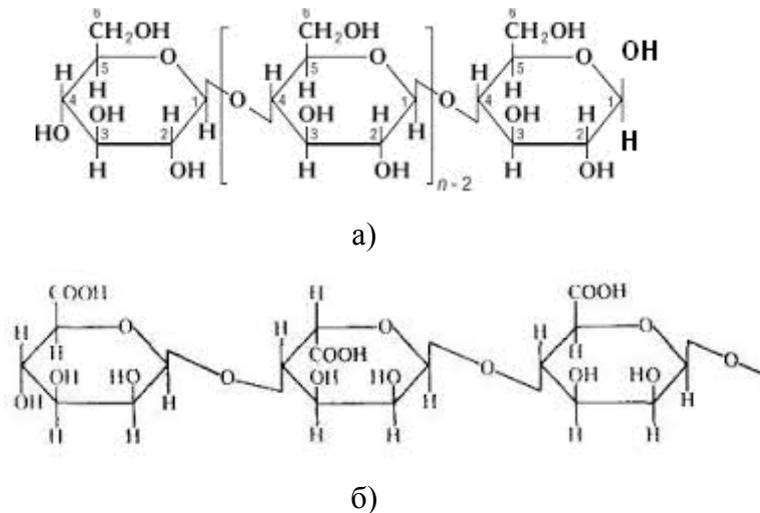


Рис. 5.1.22. Структурные формулы а) – целлюлозы и б) – альгиновой кислоты.

В настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке практически отсутствуют российские гемостатики [5.1.6-5.1.8], а многие средства для остановки кровотечений, традиционно применяемые в медицине, малоэффективны и не приводят к снижению кровопотери, вызывающей опасные вторичные осложнения в виде синдрома диссеминированного свертывания крови, некрозов тканей жизненно важных органов и т.д. [5.1.9]. Можно утверждать, что применение местных гемостатиков выгодно еще и экономически как для клиники, так и для системы здравоохранения в целом [5.1.10].

В качестве материалов были использованы:

- пленки, изготовленные из 1-3% растворов хитозана с $M_v = 500$ кДа, степенью деацетилирования 85% и индексом полидисперсности 2.5. В экспериментах на тонких пленках белков (толщина 0,02 мкм) было показано, что плазмохимические реакции протекают во всем объеме образца (см. раздел 5.1.3). Поэтому толщина хитозановых пленок в настоящих экспериментах составила $3,5 \pm 1,5$ мкм, что

позволило модифицировать только контактную поверхность, не затрагивая свойства основной массы материала;

- губки, изготовленные из:
 - 1-5 % раствора альгината натрия в уксусной кислоте;
 - 0,5% раствора альгината натрия и 0,5% раствора хитозана в уксусной кислоте, с соотношением компонентов 1:1;
 - 0,5% раствора альгината натрия и 0,25% раствор агара в уксусной кислоте, с соотношением компонентов 1:1;
 - 4% и 10% растворов микрокристаллической целлюлозы (МКЦ);
- волокна целлюлозы.

Перечисленные материалы были обработаны в ЭПП в следующих условиях:

- ускоряющее напряжение $U = 30$ кВ;
- $I_b = 1,5 - 3,5$ мА;
- плазмообразующие газы: кислород, аргон, азот, аммиак ($P_m = 5$ Торр), а также смесь кислород-аммиак с соотношением компонентов 1:1 ($P_m = 5$ Торр);
- время обработки $\tau = 1-15$ мин в зависимости от вещества и формы гемостатического материала. В большинстве экспериментов время экспозиции составляло 5 мин;
- все образцы были обработаны при температурах, не превышающих 60 °С, что исключало их тепловую деструкцию.

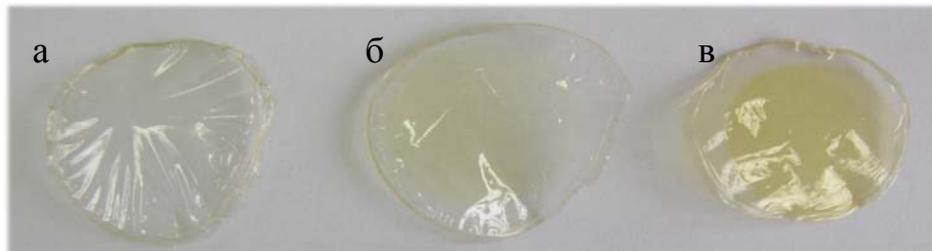
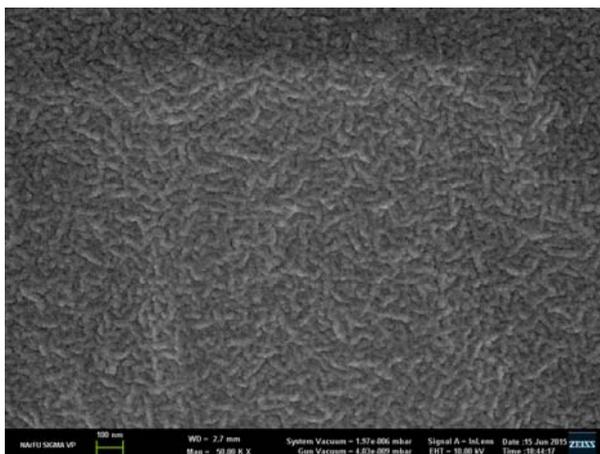


Рис. 5.1.23. Фотографии пленок хитозана до и после ЭПП-обработки.

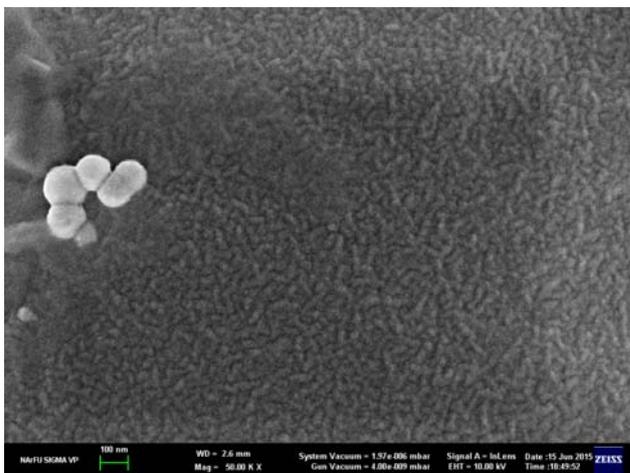
а) - исходный образец, б) - образец, обработанный в ЭПП кислорода в течение 1 мин, в) - образец, обработанный в ЭПП кислорода в течение 10 мин.

Пленки изготовлены из 2% раствора хитозана ($M_v = 500$ кДа) в 1% уксусной кислоте.

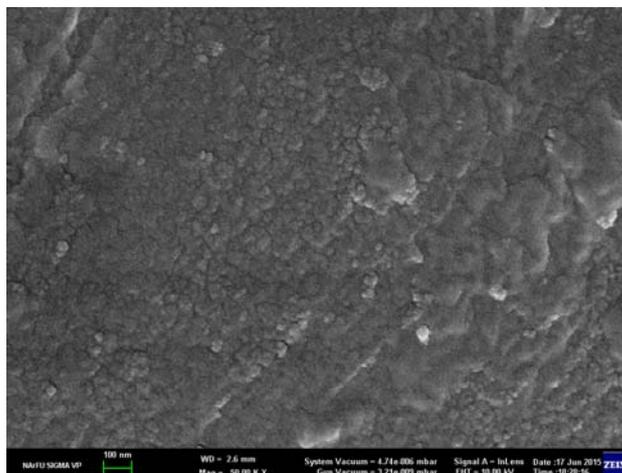
Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, кислород при $P_m = 5$ Торр, $T_s = 60$ °С



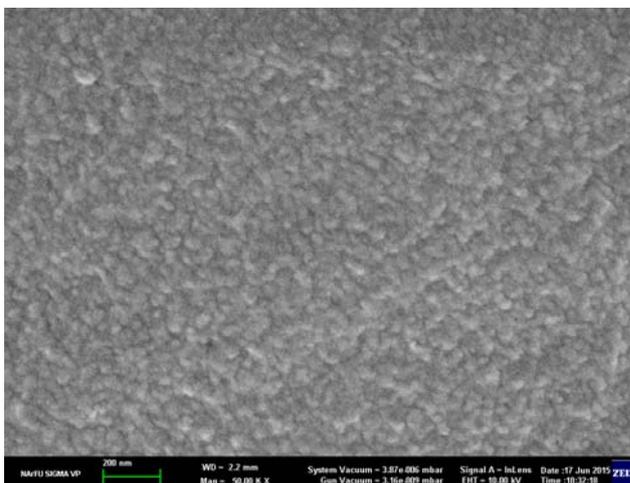
а)



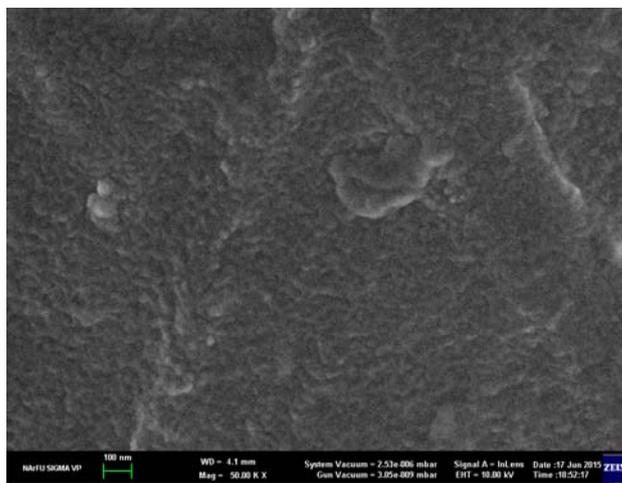
б)



в)



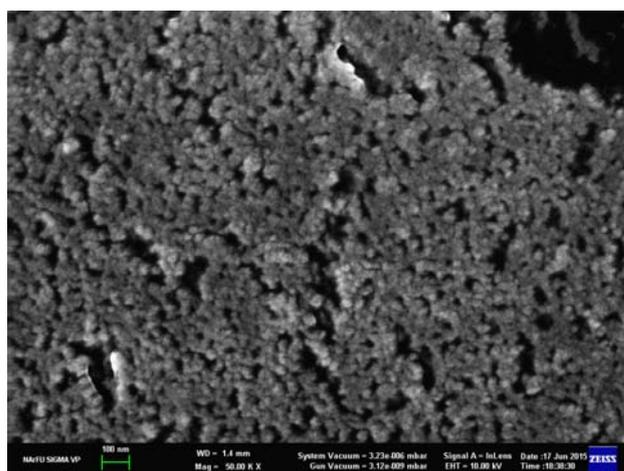
г)



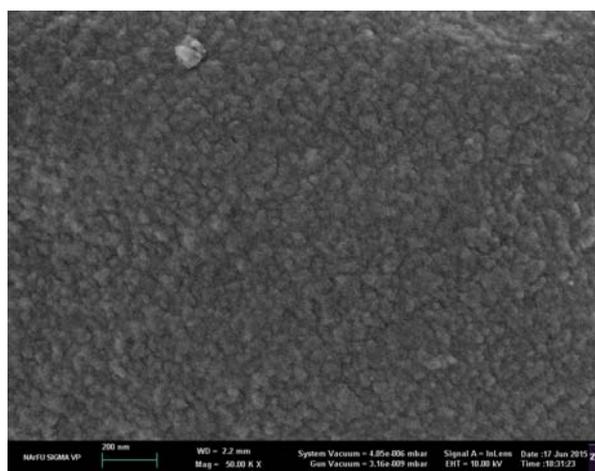
д)

Рис. 5.1.24. SEM-фотографии поверхности пленок хитозана до и после модификации в ЭПП различных газов (увеличение $\times 5000$): а) – исходный образец, б), в), г), д) – образцы, обработанные в ЭПП кислорода, аргона, азота и аммиака, соответственно.

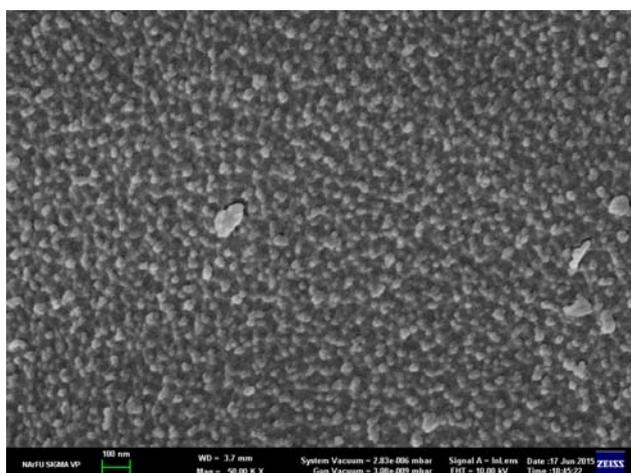
Пленки изготовлены из 2% раствора хитозана ($M_v = 500$ кДа) в 1% уксусной кислоте. Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 5$ Торр, $T_s = 60$ °С, $\tau = 10$ мин



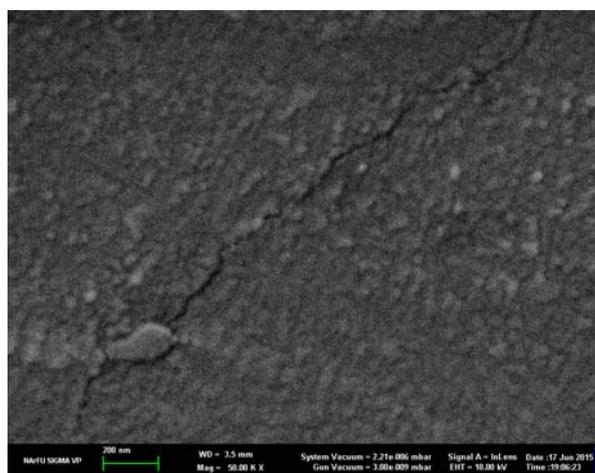
а)



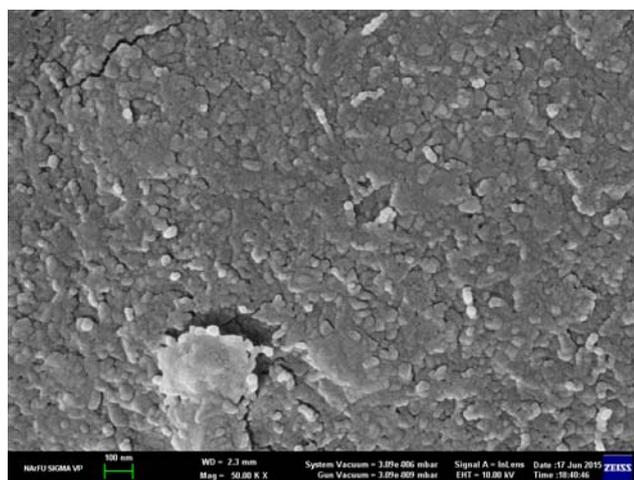
б)



в)



г)



д)

Рис. 5.1.25. SEM-фотографии поверхности пленок хитозана до и после модификации в гибридной плазме различных газов (увеличение $\times 5000$): а), б), в), г), д) – образцы, обработанные в кислорода, аргона, азота, аммиака, соответственно.

Пленки изготовлены из 2% раствора хитозана ($M_v = 500$ кДа) в 1% уксусной кислоте. Условия обработки указаны в тексте.

В ряде экспериментов для модификации полисахаридов использовали гибридную плазму кислорода, аргона, азота, аммиака ($P_m = 5$ Торр), а также смеси кислород-аммиак с соотношением компонентов 1:1 ($P_m = 5$ Торр) и гексафторида серы SF_6 ($P_m = 0,3$ Торр). ВЧ-разряд имел следующие характеристики: частота 13,56 МГц, эффективная мощность 20-60 Вт в зависимости от вещества и формы гемостатического материала. Время обработки варьировали в пределах $\tau = 5-60$ мин. Также как и при ЭПП-модификации полисахаридов температура образцов во время обработки контролировалась с помощью ИК-пирометра и не превышала 60 °С. Для эффективного отвода тепла от материалов применяли специальную водоохлаждаемую подложку.

На рис. 5.1.23 показан внешний вид хитозановых пленок до и после плазмохимической модификации в ЭПП кислорода: уже через 1 мин наблюдалось характерное пожелтение пленки.

Таблица 5.1.13. Контактный угол смачивания для воды поверхности пленок хитозана, обработанных в ЭПП и гибридной плазме в различных плазмообразующих средах в течение $\tau = 10$ мин

Условия обработки		Значение краевого угла, °			
Время после обработки		Сразу после модификации	14 дней	21 день	49 дней
Контроль		96,95±1,89	91,95±9,29	89,93±3,929	90,64±2,59
Необработанная пленка					
ЭПП	O ₂	41,25±2,05	41,25±5,09	37,60±1,98	67,47±9,24
	NH ₃	52,21±1,26	61,37±1,68	61,08±6,88	62,71±8,38
	O ₂ /NH ₃	14,46±9,44	27,53±5,28	38,11±6,96	49,17±9,67
	Ar	39,56±9,73	49,92±4,83	42,64±3,35	76,27±6,64
Гибридная плазма	Ar	12,90±7,69	12,95±6,72	11,13±9,38	29,58±1,75
	O ₂	0	0	0	13,32±9,42
	NH ₃	30,85±1,78	55,37±4,88	59,38±3,62	66,95±6,32
	O ₂ /NH ₃	16,11±5,33	18,35±3,92	35,08±1,73	57,54±9,21
	SF ₆	103,23±11,78	103,20±8,67	115,44±17,14	86,30±9,50

Морфологическая структура поверхности исходной пленки хитозана и пленок, модифицированных в ЭПП и гибридной плазме различных газов, показана на SEM-изображениях (Рис. 5.1.24 и 5.1.25). В результате ЭПП-воздействия (особенно при генерации плазмы в аргоне и азотсодержащих средах) поверхность частично

деструктурирует, становится более сглаженной и теряет свою кристалличность. На поверхности образцов, модифицированных в гибридной плазме химически инертных газов (аргона и азота) и аммиака обнаруживаются округлые частицы диаметром ~ 20 нм. Наиболее выраженные изменения рельефа у пленок, обработанных в гибридной плазме O_2 и SF_6 : появляется неоднородный развитый рельеф и многочисленные поры и углубления различного размера, что может быть следствием травления поверхности под воздействием химически активных форм кислорода и фтора, образующихся в плазме.

Краевой угол смачивания хитозановых пленок, обработанных в среде аргона, кислорода (Рис. 5.1.26б) и азотсодержащих средах, существенно понижался по сравнению с исходными образцами, что свидетельствует о радикальном улучшении гидрофильных свойств. Данный эффект был стабилен в течение длительного времени (а для образцов, модифицированных в гибридной плазме 2 и более месяцев) после обработки. В таблице 5.1.13 приведены значения краевого угла смачивания и динамика изменений гидрофильных свойств поверхности пленок, плазмохимически модифицированных в среде кислорода, аммиака и аргона. Наибольшую гидрофильностью обладали пленки, модифицированные в кислородсодержащих средах – O_2 и смеси O_2/NH_3 . Повышение гидрофильности материала способно значительно улучшить его контакт с раневой поверхностью, способствовать сборке на поверхности пленки активных прокоагулянтных (например, протромбиназных) белковых комплексов, стимулировать адгезию и активацию тромбоцитов крови. Как и следовало ожидать, после обработка в среде SF_6 усиливала гидрофобные свойства поверхности хитозановых пленок (Рис. 5.1.24в). Методом EDS установлено, что содержание фтора в образце достигало 5,94%.

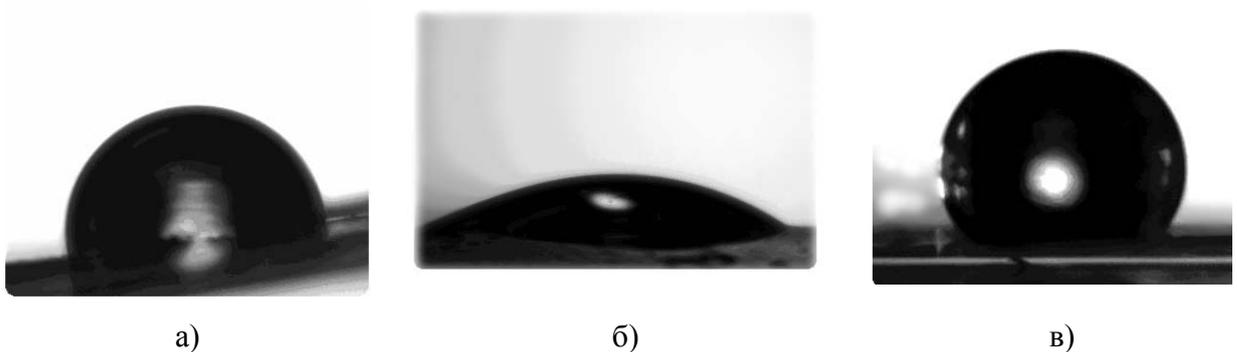


Рис. 5.1.26. Изменения гидрофильно-гидрофобных свойств поверхности хитозановых пленок при пучково-плазменной обработке: а) – исходный образец, б) пленка, модифицированная в ЭПП кислорода, $\tau = 10$ мин, в) пленка, модифицированная в SF_6 в гибридной плазме, $\tau = 10$ мин

Пленки изготовлены из 2% раствора хитозана ($M_v = 500$ кДа) в 1% уксусной кислоте. Условия обработки указаны в тексте.

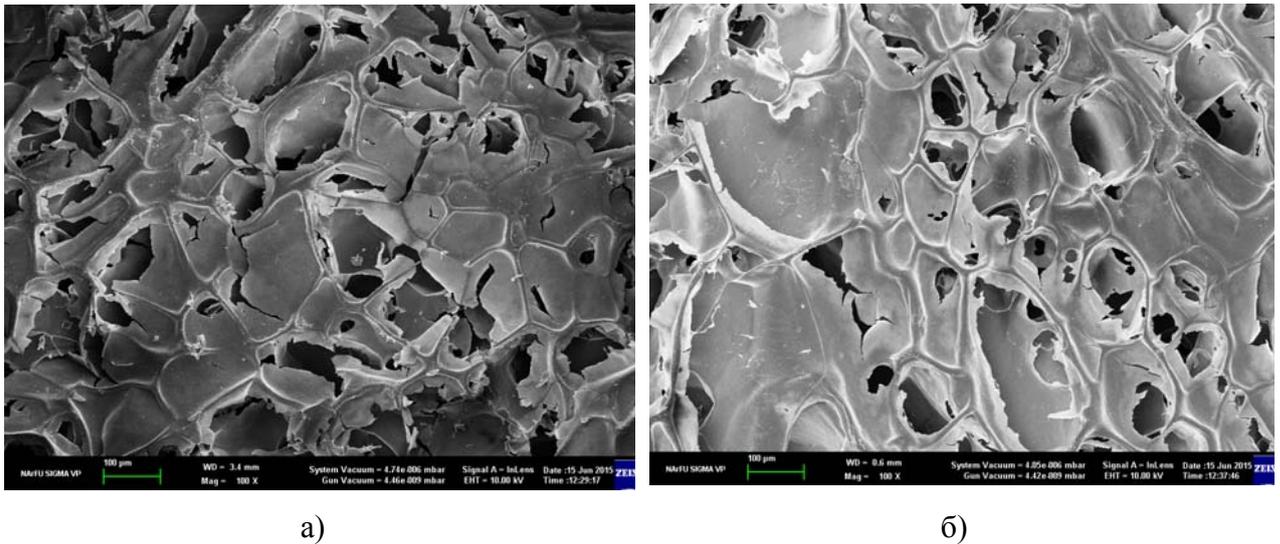


Рис. 5.1.27. SEM-фотографии поверхности губки из альгината натрия до и после модификации в ЭПП различных кислорода (увеличение $\times 100$): а) – исходный образец, б) – образцы, обработанный в ЭПП кислорода.

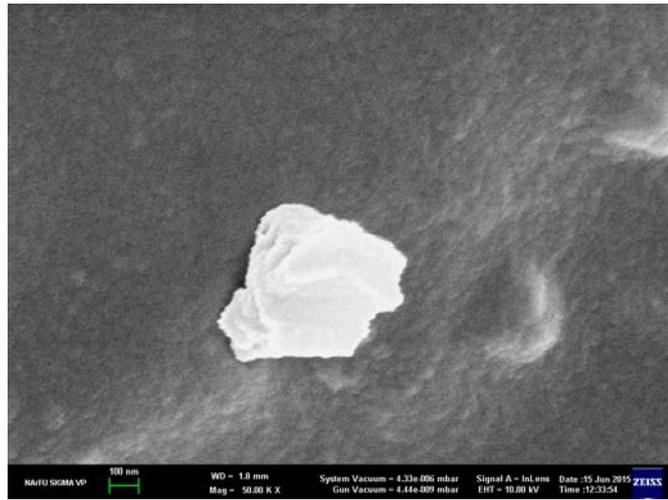
Губки, изготовлены из 3% раствора альгината натрия в уксусной кислоте.

Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 5$ Торр, $T_s = 60$ °С, $\tau = 10$ мин

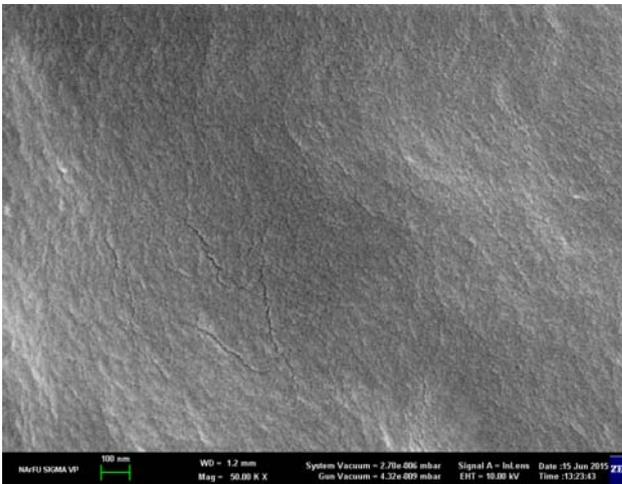
На рис. 5.1.27. приведены SEM-изображения поверхности губок, изготовленных из 3% раствора альгината натрия в уксусной кислоте, до и после плазмохимической обработки, на которых видно, что макроструктура биополимерных материалов сохраняется. Это позволяет предположить, что механические свойства и прочностные характеристики материала в целом не изменяются, и он остается пригодным и удобным для использования в хирургической практике.

При большем увеличении поверхности видно сглаживание рельефа и аморфизация поверхности губки после воздействия ЭПП, наиболее заметные в среде кислорода, аммиака (Рис. 5.1.28). После ЭПП-обработки губки в смеси кислород-аммиак на поверхности появляется слабо выраженные неоднородности. При модификации губок в гибридной плазме аммиака и смеси аммиак-кислород просходит активное травление поверхности, и появляется неоднородный развитый рельеф и многочисленные поры и углубления различного размера (Рис. 5.1.29). Похожие изменения происходят с поверхностью губки и после обработки в среде SF_6 .

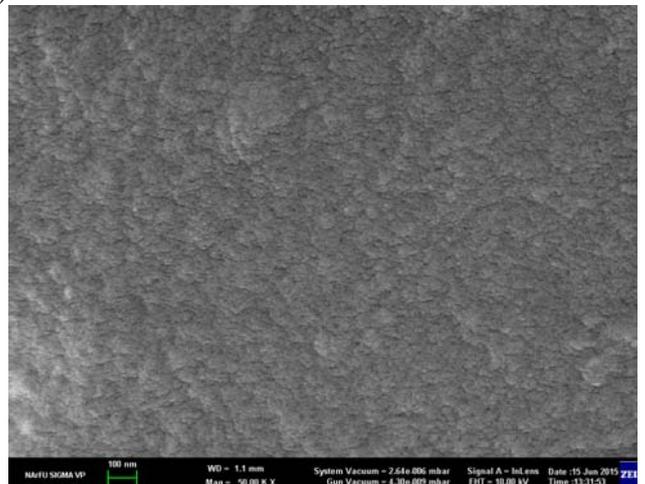
Как и в случае пленок хитозана, плазмохимическая модификация полисахаридных губок в SF_6 вызывала изменения их гидрофильно-гидрофобных свойств, что было особенно заметно при обработке губок из МКЦ. Исходные МКЦ губки мгновенно впитывали воду, в то время как обработанные во фторсодержащей среде приобретали выраженную и устойчивую гидрофобность (Таблица 5.1.14).



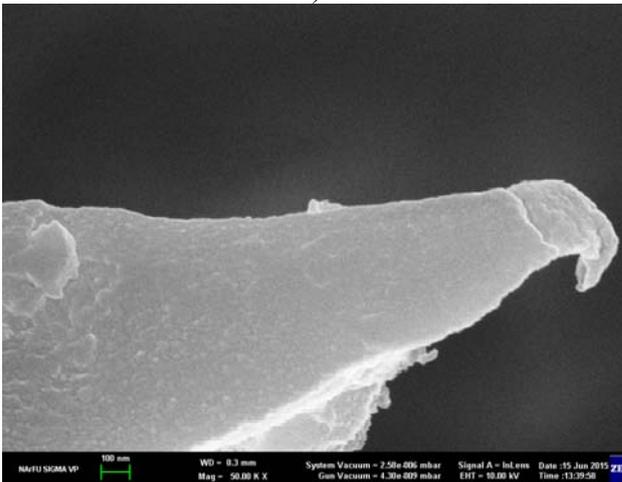
а)



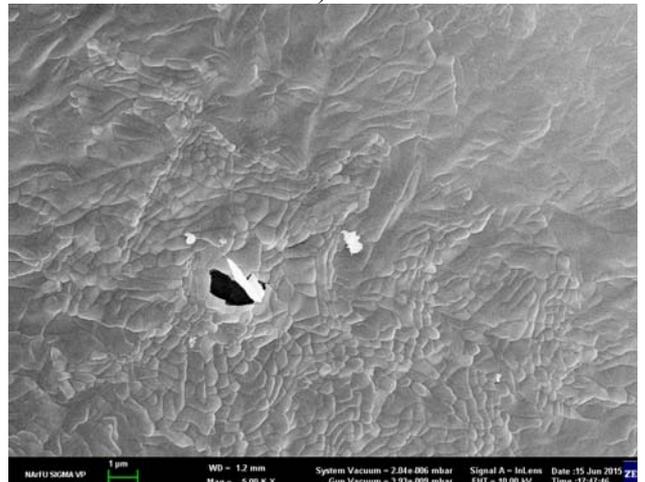
б)



в)

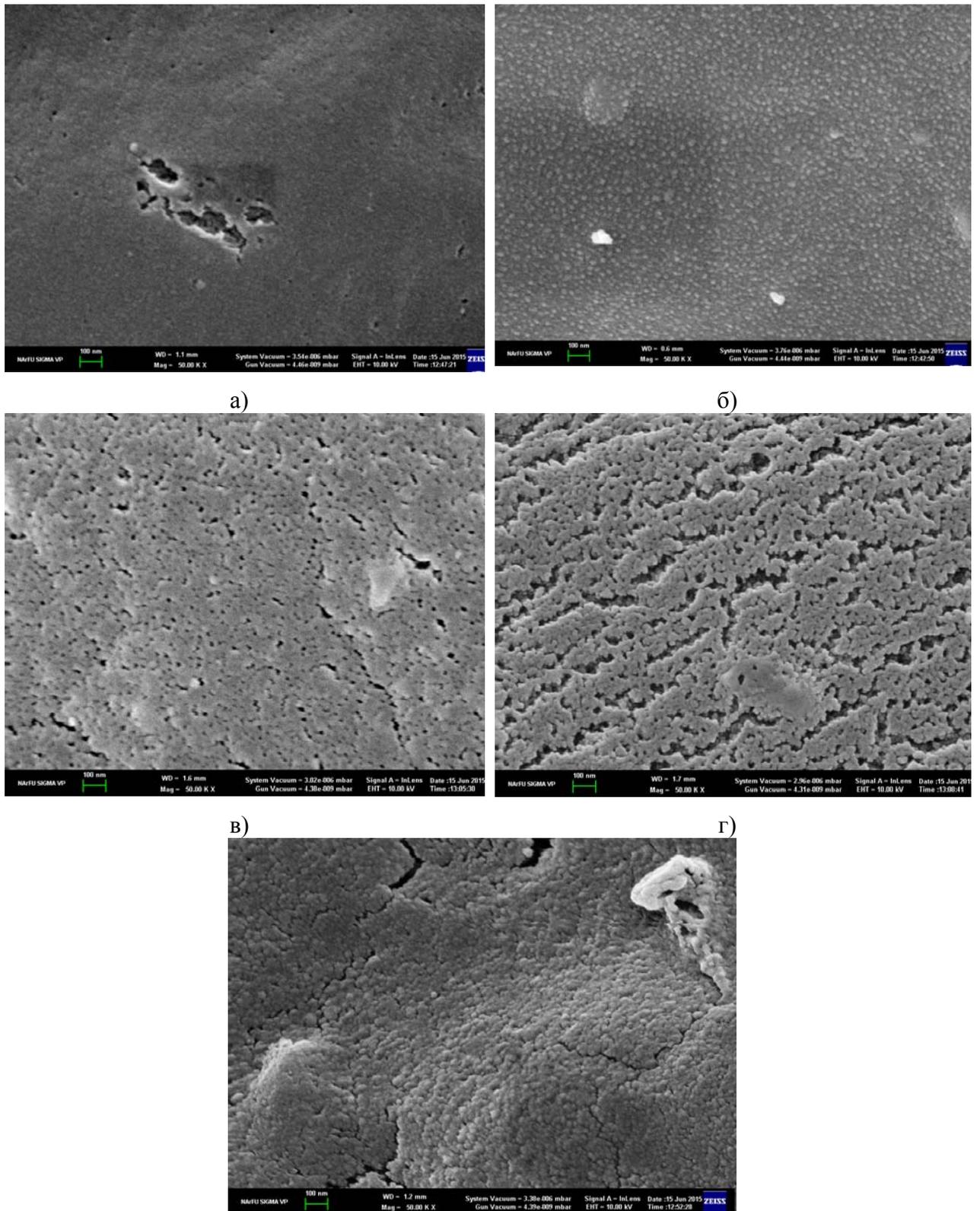


г)



д)

Рис. 5.1.28. SEM-фотографии поверхности губки из альгината натрия до и после модификации в ЭПП различных газов (увеличение $\times 5000$): а) – исходный образец, б), в), г), д) – образцы, обработанные в ЭПП кислорода, аргона, аммиака и смеси кислород-аммиак 1:1 соответственно. Губки, изготовлены из 3% раствора альгината натрия в уксусной кислоте. Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 5$ Торр, $T_s = 60$ °С, $\tau = 5$ МИН



д)

Рис. 5.1.29. SEM-фотографии поверхности губки из альгината натрия до и после модификации в гибридной плазме различных газов (увеличение $\times 5000$): а) – исходный образец, б), в), г), д) – образцы, обработанные в ЭПП кислорода, аргона, аммиака и смеси кислород-аммиак 1:1 и гексафторида серы соответственно.

Губки, изготовлены из 3% раствора альгината натрия в уксусной кислоте.

Условия обработки указаны в тексте.

Изменение смачиваемости связано с формированием на поверхности губок, полученных из полисахаридов, фторсодержащих функциональных групп, наличие которых было подтверждено ИК-спектроскопией (появление полосы поглощения с $\nu = 720,85 \text{ см}^{-1}$, см. рис. 5.1.30) и методом EDS (содержание фтора в образце достигало 5,33%). Следует отметить, что данный эффект зависел от времени обработки и в условиях эксперимента оптимальное время модификации составило 30 мин.

Таблица 5.1.14. Контактный угол смачивания для воды поверхности губки из микрокристаллической целлюлозы, обработанной в гибридной плазме гексафторида серы в течение $\tau = 30$ мин

Время после обработки	Значение краевого угла, °	
	Через 24 часа	Через 30 дней
Контроль	Мгновенное впитывание	Мгновенное впитывание
Необработанная губка		
Губка, модифицированная в гибридной плазме SF ₆	110,25±9,08	105,64±8,23

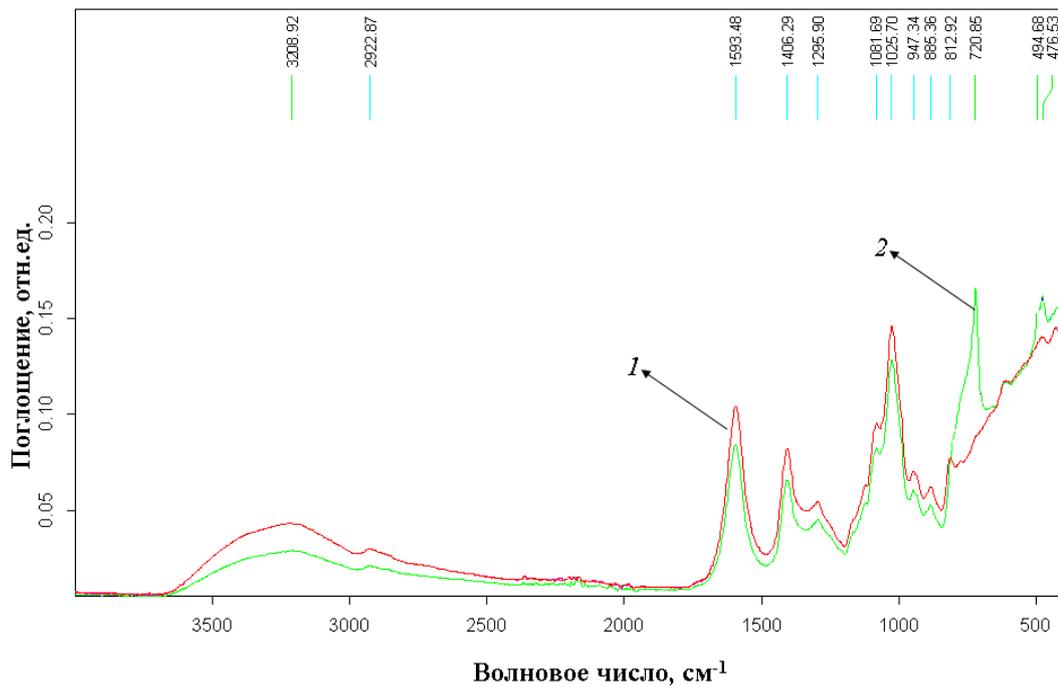


Рис. 5.1.30. ИК-спектры поглощения губки альгината натрия до и после модификации в гибридной плазме SF₆: 1 – необработанная губка; 2 – губка, обработанная в гибридной плазме SF₆

Условия обработки: частота 13,56 МГц, 50 Вт, $P_m = 0,3$ Торр, $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $T_s = 40$ °С $\tau = 30$ мин

Формирование новых химически активных функциональных групп на поверхности полисахаридных пленок и губок вследствие пучково-плазменного воздействия исследовали с помощью ИК-спектроскопии. На рис. 5.1.31 в качестве примера приведены ИК-спектры отражения-поглощения хитозановых пленок, обработанных в ЭПП кислорода. Интенсивные линии поглощения, характерные для хитина и соответствующие пикам с $\nu = 3400-3470$, 3365 , 3300 , 2920 и 2850 см^{-1} , а также $\nu = 1422$, 1380 , 1320 and 1260 см^{-1} наблюдаются в спектрах как необработанного, так ЭПП-модифицированного хитозана. Однако у пленок хитозана, обработанных в ЭПП кислорода, отмечается дополнительный пик с $\nu = 1735 \text{ см}^{-1}$, соответствующий валентным колебаниям C=O в карбоксильных группах (-COOH). Сравнение интенсивностей полос поглощения в диапазоне $\nu = 1700-1500 \text{ см}^{-1}$ показало, что интенсивность пика $\nu = 1592 \text{ см}^{-1}$ (соответствующего деформационным колебаниям NH₂-групп) практически одинаково в обоих спектрах. Тем не менее, селективная интенсивность (разность между значениями поглощения в максимуме и базовой линии) для $\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$, которая соответствует валентным колебаниям C=O в группе Амид I, приблизительно на 20% больше у ЭПП-модифицированного хитозана. Также на спектрах хитозановых пленок после модификации в ЭПП кислорода отмечается снижение интегральной интенсивности полос в диапазоне $\nu = 1250-500 \text{ см}^{-1}$, соответствующих β -1,4-гликозидным связям. Таким образом, после обработки в ЭПП кислорода на поверхности хитозановой пленки формируются кислородсодержащие карбонильные C=O и карбоксильные группы -COOH и происходит частичная деструкция β -1,4-гликозидных связей.

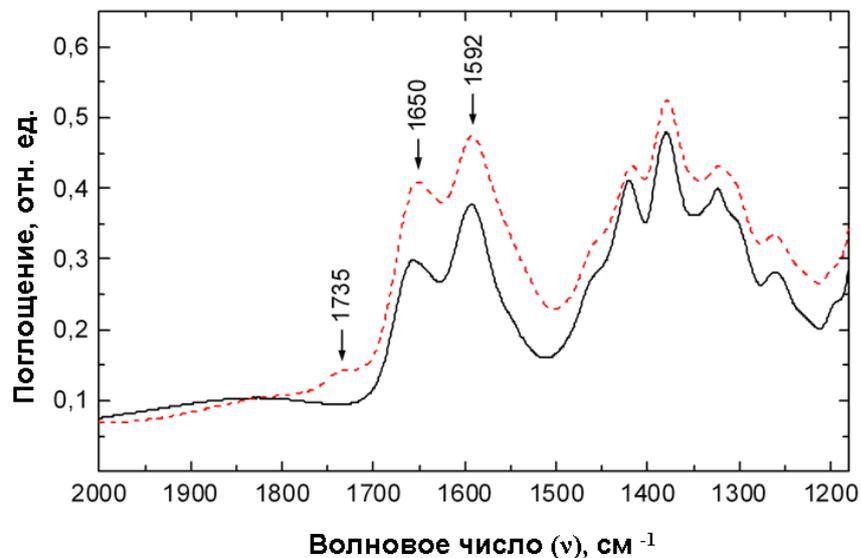


Рис. 5.1.31. ИК-спектры поглощения необработанной (сплошная линия) и модифицированной в ЭПП кислорода (пунктирная линия) пленок хитозана.

5.2. Биологическая активность низкомолекулярных продуктов, полученных при ЭПП-обработке белков и полисахаридов

5.2.1. Биологические свойства продуктов ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера

Для характеристики биологической активности продуктов ЭПП-деструкции фибрин-мономера исследовали их способность ингибировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*, поскольку известно, что продукты протеолитической деградации фибрин-мономера обладают выраженным антиагрегационным действием [5.2.1-5.2.3].

В первой серии экспериментов изучалось влияние продуктов ЭПП-обработки фибрин-мономера на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную АДФ (конечная концентрация 1×10^{-5} М) и адреналином (конечная концентрация $2,5 \times 10^{-6}$ М) *in vitro*. Порошкообразный фибрин-мономер обрабатывали в ЭПП гелия, кислорода и паров воды при давлении 40 Торр, 5 Торр и 10 Торр соответственно в течение 5 мин при температуре образца $T_s = 37$ °С. Ускоряющее напряжение составляло $U = 30$ кВ, ток пучка варьировался в пределах $I_b = 1,5 - 3,5$ мА. Подробно процедура обработки описана в разделе 5.1.

Образцы для проведения биологических экспериментов готовили следующим образом: навеску ЭПП-обработанного фибрин-мономера массой 10 мг растворяли в 1 мл дистиллированной воды. Концентрацию белка в матричном растворе ЭПП-обработанного фибрин-мономера измеряли методом О.Н. Lowry (см. Глава II, раздел 2.3). Затем матричный раствор разводили дистиллированной водой до достижения необходимой концентрации. Антиагрегационные свойства продуктов ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера изучали в диапазоне концентраций $C = 1 \cdot 10^{-5}$ мг/мл.

Продукты деструкции фибрин-мономера в ЭПП водяного пара ингибировали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека *in vitro* и вызывали достоверное уменьшение тромбоцитарной агрегации в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл в 1,3-1,7 раза по сравнению с контролем (добавление в богатую тромбоцитами плазму только проагреганта). Продукты плазмохимической деструкции фибрин-мономера в ЭПП кислорода также ингибировали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов 1,1-1,8 раза по сравнению с контрольным опытом. Следует отметить, что 2-х кратное ингибирование АДФ-индуцированной агрегации является показателем высокой антиагрегационной способности соединения. При этом соединения, полученные с обработкой исходного фибрин-мономера в плазме паров воды или кислорода, ингибировали АДФ-индуцированную тромбоцитарную агрегацию в среднем 1,2 раза

эффективнее, чем фибрин-мономер, обработанный в плазме гелия (Рис. 5.2.1), что подтверждает определяющую роль низкоэнергетических химически активных частиц, образующихся в ЭПП паров воды и кислорода, в процессе модификации.

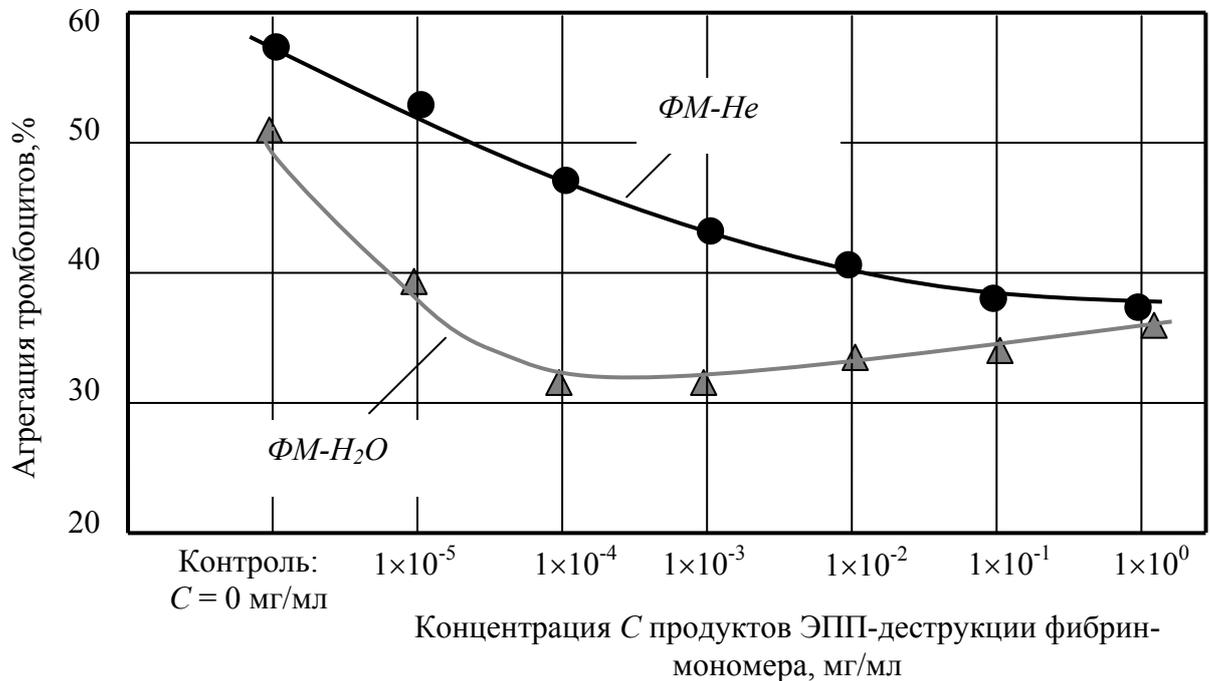


Рис. 5.2.1. Влияние продуктов деструкции фибрин-мономера, полученных в плазме паров воды (ФМ-Н₂О) и в плазме гелия (ФМ-He), на агрегацию тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированную АДФ (1×10^{-5} М)

Таким образом, низкомолекулярные продукты ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера обладали выраженными антиагрегационными свойствами, эффективно ингибировали тромбоцитарную агрегацию *in vitro* и оставались стабильными в течение значительного промежутка времени.

В серии экспериментов было исследовано влияние низкомолекулярных соединений, образованных в результате плазмохимической деструкции фибрин-мономера в ЭПП водяного пара на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную АДФ (1×10^{-5} М) *in vitro*.

Целью данного раздела работы было:

1) исследовать антиагрегационную активность индивидуальных низкомолекулярных продуктов ЭПП-модификации фибрин-мономера;

2) выявить низкомолекулярные соединения, наиболее эффективно ингибирующие тромбоцитарную агрегацию;

3) сравнить антиагрегационную активность низкомолекулярных пептидов, полученных ЭПП-модификацией фибрин-мономера, с антиагрегационной способностью низкомолекулярных пептидов, полученных с помощью традиционного химического синтеза.

Фракции индивидуальных низкомолекулярных продуктов ЭПП-деструкции фибрин-мономера были отобраны с помощью хроматографа “Стайер”, на колонке “Phenomenex” BioSep-Sec-S-3000. Для элюирования фракций использовали фосфатный буфер, содержащий 0,025 моль/кг KH_2PO_4 и 0,025 моль/кг Na_2HPO_4 (pH=6,86). Концентрацию белка в каждой фракции определяли по методу О.Н. Lowry (см. Глава II, раздел 2.3) при длине волны $\lambda = 750$ нм. Время элюирования и содержание белка в каждой фракции представлены в таблице 5.2.1.

Таблица 5.2.1. Характеристика (время элюирования, мин и концентрация белка, мкг/мл) фракций, полученных при гелепроникающей хроматографии фибрин-мономера, обработанного в ЭПП водяного пара. Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр, $\tau = 5$ мин

№ фракции	Время элюирования, мин	Концентрация белка, мкг/мл
1	10,0-10,5	750
2	10,5-11,5	225
3	11,5-12,0	123
4	12,0-12,5	130
5	12,5-13,0	210
6	13,0-13,5	225
7	13,5-14,0	150
8	14,0-14,5	147
9	14,5-15,0	160
10	15,0-16,0	90

При исследовании влияния индивидуальных низкомолекулярных продуктов ЭПП-деструкции фибрин-мономера на агрегацию тромбоцитов концентрацию белка в каждой из выделенных фракций доводили до 100 мкг/мл (во фракции №10 концентрация белка составила 90 мкг/кг) путем разбавления в дистиллированной воде. Конечная концентрация C исследуемых пептидов в богатой тромбоцитами плазме составила 10 мкг/мл. Полученные результаты представлены на рис. 5.2.2.

Соединение, имеющее время выхода в пределах 10,0-10,5 мин (фракция №1), не влияло на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Низкомолекулярные пептиды фракций №№ 7-10 также не вызывали достоверного ингибирования тромбоцитарной активности. Пептиды фракций №№ 2-6 снижали агрегацию тромбоцитов в 1,5-2,2 раза по сравнению с контролем (добавление в богатую тромбоцитами плазму только АДФ).

Среди фракций №№ 2-6 максимальным антиагрегационным эффектом обладал низкомолекулярный пептид, имеющий время элюирования 12,0-12,5 мин (фракция №4), т.е. продукт ЭПП-обработки фибрин-мономера, определяющийся на хроматограммах всех образцов, ингибировавших агрегацию тромбоцитов. Данный пептид снижал тромбоцитарную агрегацию с $60,1 \pm 7,0\%$ (контрольный опыт) до $26,8 \pm 2,2\%$, т.е. более чем в 2 раза (Рис. 5.2.2). Следует отметить, что 2-х кратное ингибирование АДФ-индуцированной агрегации является показателем высокой антиагрегационной способности соединения.

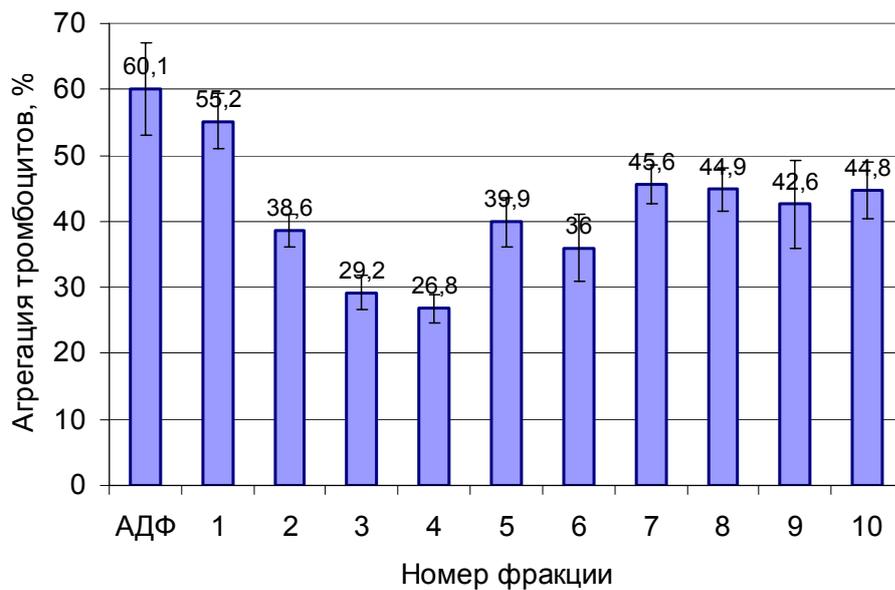


Рис. 5.2.2. Влияние фракций низкомолекулярных пептидов ($C = 10$ мкг/мл), полученных при обработке фибрин-мономера в ЭПП паров воды ($\tau = 5$ мин), на агрегацию тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированную АДФ (1×10^{-5} М)
Условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр, $\tau = 5$ мин

Продукты ЭПП-обработки фибрин-мономера в плазме водяного пара и гелия в диапазоне концентраций $1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл также ингибировали агрегацию тромбоцитов *in vitro*, индуцированную адреналином 1,3-1,6 раза по сравнению контрольным опытом (добавление в богатую тромбоцитами плазму только проагреганта). Как фибрин-мономер, обработанный в плазме водяного пара, так и фибрин-мономер, обработанный в ЭПП гелия, оказывали одинаковый по своей силе эффект на адреналин-индуцированную агрегацию (Таблица 5.2.2). При этом также отмечалось снижение скорости адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов (Таблица 5.2.2). Антиагрегационные свойства продуктов ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера полностью сохранялись в течение шести месяцев после обработки.

При хроматографическом анализе микрокристаллической целлюлозы, обработанной в ЭПП, была обнаружена леулиновая кислота, которая образуется как продукт дегидратации гексоз и имеет характерное время элюирования 12,3-12,5 мин. Учитывая, что фибрин-мономер является гликопротеином, т.е. его молекулы содержат углеводный компонент, в состав которого входят пентоза, гексозы (основные – манноза и галактоза) (1,3-4,6%), гексозамин (1,1%), сиаловая кислота (0,64-0,89%), то при его ЭПП-деструкции может также выделяться леулиновая кислота, которая может влиять на тромбоцитарную агрегацию. Поэтому в отдельной серии экспериментов были исследовано действие леулиновой кислоты на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную АДФ *in vitro*.

Таблица 5.2.2. Влияние продуктов деструкции фибрин-мономера, полученных в плазме паров воды (ФМ-Н₂O) и в плазме гелия (ФМ-He), на степень и скорость агрегации тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированную адреналином ($2,5 \times 10^{-6}$ М)

	Показатель	Концентрация продуктов ЭПП-деструкции фибрин-мономера, мг/мл				
		Контроль адреналин $2,5 \times 10^{-6}$ М	1×10^{-3}	1×10^{-2}	1×10^{-1}	1
ФМ-Н ₂ O	Агрегация тромбоцитов, A _{max} , %	60,7±1,7	35,3±2,8 *	32,7±2,5 *	31,2±2,8 *	31,2±2,7 *
	Средняя скорость агрегации, %/мин	44,8±2,6	30,8±2,1 *	24,1±1,8 *	28,3±1,6 *	23,9±1,8 *
ФМ-He	Агрегация тромбоцитов, A _{max} , %	60,7±1,7	35,1±1,7 *	33,4±4,1 *	32,5±3,7 *	30,3±2,3 *
	Средняя скорость агрегации, %/мин	44,8±2,6	25,2±3,1 *	22,1±3,1 *	23,9±2,7 *	21,1±2,2 *

* - Достоверно по отношению к контролю адреналин $2,5 \times 10^{-6}$ М (p<0,05)

Антиагрегационная активность леулиновой кислоты (“Sigma”, США) была изучена в широком диапазоне концентраций (конечные концентрации (1-100 мкг/мл). Однако ни в одной из исследованных доз леулиновая кислота не ингибировала тромбоцитарное взаимодействие (Таблица 5.2.3).

В качестве контрольного эксперимента было рассмотрено действие на агрегацию тромбоцитов *in vitro* продуктов ЭПП-стимулированной деградации БСА. Так как БСА не

влияет на тромбоцитарную агрегацию, то изучение антиагрегационных свойств продуктов ЭПП-обработки альбумина может служить контрольным экспериментом при исследовании возможности получения ингибиторов тромбоцитарной агрегации посредством ЭПП-обработки белковых молекул. БСА обрабатывали в ЭПП паров воды в тех же условиях, что фибрин-мономер: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр, $\tau = 2,5-10$ мин. В результате плазмохимической деструкции БСА (конечная концентрация в богатой тромбоцитами плазме 500 мкг/мл) не приобрел антиагрегационных свойств и не ингибировал АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека *in vitro* (Таблица 5.2.4).

Таблица 5.2.3. Влияние левулиновой кислоты на агрегацию тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированную АДФ (1×10^{-5} М), (A_{max} , %)

АДФ 1×10^{-5} М (контроль)	Конечная концентрация левулиновой кислоты, мкг/мл					
	100	50	25	10	5	1
67,2±1,7	69,0±2,6	68,2±3,3	67,7±2,2	63,7±3,5	65,6±2,7	69,7±2,8

Таблица 5.2.4. Влияние продуктов деградации бычьего сывороточного альбумина, полученных в плазме паров воды, на агрегацию тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированную АДФ (1×10^{-5} М) (A_{max} , %)

АДФ 1×10^{-5} М Контроль	Нативный БСА	Время ЭПП-обработки БСА		
		$\tau = 2,5$ мин	$\tau = 5$ мин	$\tau = 10$ мин
69,1±1,2	61,5±4,1	64,5±1,9	67,2±1,1	63,7±3,8

В отдельной серии экспериментов рассматривали действие модифицированных в ЭПП примесей небелковой природы, содержащихся в образце фибрин-мономера. Проведение подобных контрольных опытов было необходимо, так как продукты ЭПП модификации примесей в принципе могли приобрести антиагрегационные свойства. Плазменная обработка примесей осуществлялась в тех же условиях, что и фибрин-мономера. Примеси добавляли к богатой тромбоцитами плазме в концентрациях, эквивалентных их содержанию в ЭПП-обработанном образце фибрин-мономера. Было установлено, что обработка примесей, входящих в состав образца, не сообщала им антиагрегационных свойств, и достоверного снижения агрегации не происходило (агрегация составила $66 \pm 3\%$ в контроле и $65 \pm 2\%$ при применении модифицированных в ЭПП примесей).

Далее была проведена сравнительная оценка антиагрегационной активности низкомолекулярных пептидов, формирующихся при ЭПП-обработке фибрин-мономера и

низкомолекулярных пептидов, полученных с помощью традиционного химического синтеза. Для сравнения были выбраны три пептида, являющиеся потенциальными блокаторами агрегации тромбоцитов: *H-Ala-Arg-Gly-Asp-Ser-NH₂* (*ARGDS-NH₂*); циклический пептид *Arg-Gly-Asp-dPhe-Lys* (*RGD-dFK*); и *Val-Pro-Asn-Leu-Arg-Gly-Asp-Leu-Gln-Val-Leu-Ala* (*VPNLRGDLQVLA*), синтезированные в ФГУП «Государственный Научно-исследовательский Институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» (г. Москва).

В результате проведенных экспериментов было показано, что пептиды *ARGDS-NH₂* и *RGD-dFK* снижали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов в 2 раза в конечных концентрациях 175 мкг/мл и 150 мкг/мл, соответственно. Пептид *VPNLRGDLQVLA* практически не влиял на способность тромбоцитов к агрегации: данное соединение уменьшало АДФ-индуцированную агрегацию в среднем в 1,5 раза по сравнению с контрольным экспериментом в диапазоне конечных концентраций 0,18-1,8 мг/мл [5.2.4, 5.2.5]. Таким образом, антиагрегационный эффект пептидов, полученных посредством ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера, превосходил ингибирующее действие пептидов, полученных с помощью классических химических методов.

Анализ полученных результатов позволил рекомендовать продукты ЭПП-обработки фибрин-мономера для дальнейшего исследования их антиагрегационной активности в экспериментах *ex vivo*.

Таким образом, можно заключить, что ингибирование тромбоцитарной агрегации целиком связано с воздействием продуктов ЭПП-обработки самого фибрин-мономера, а именно низкомолекулярных пептидов, образующихся при плазмохимической модификации. Пучково-плазменная деструкция белков может являться альтернативным походом для создания новых эффективных пептидных ингибиторов тромбоцитарной агрегации, обладающим несомненными преимуществами перед существующими традиционными методами синтеза (быстрота, отсутствие токсических продуктов, возможность проведения реакций в сухой фазе, получение стерильного продукта).

5.2.2. Влияние продуктов плазмохимической деструкции фибрин-мономера на агрегационную способность и некоторые показатели свертывающей системы крови у экспериментальных животных

Во второй серии экспериментов изучалось влияние продуктов ЭПП-деструкции фибрин-мономера на агрегацию тромбоцитов кролика, а также на интегральные параметры гемостаза плазмы крови *ex vivo*.

Экспериментальным животным болюсно внутривенно вводили фибрин-мономер, обработанный в ЭПП паров воды (условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр, $\tau = 5$ мин) в дозах 0,5 мг/кг и 1 мг/кг. В качестве растворителя использовали стерильный физиологический раствор ($V = 5$ мл). Образцы крови отбирали до введения вещества (контрольный опыт), через 10 мин, 60 мин, 120 мин, 24 часа и спустя 5 дней после инъекции. Необходимость взятия крови через 5 дней после введения была обусловлена тем, что в организме здорового животного фибрин-мономер может циркулировать в течение пяти суток [5.2.6].

Таблица 5.2.5. Влияние болюсного внутривенного введения продуктов деструкции фибрин-мономера в ЭПП паров воды в дозе 0,5 мг/кг на агрегацию тромбоцитов кролика *ex vivo* (АДФ 1×10^{-5} М), (A_{max} , %

До введения (контроль)	Время после инъекции				
	10 мин	60 мин	120 мин	24 часа	5 дней
33,3±0,8	31,9±1,5	23,3±1,4*	20,9±1,9*	30,1±1,5	34,1±1,8

* - Достоверно по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Таблица 5.2.6. Изменение некоторых показателей свертывающей системы крови кроликов *ex vivo* под действием болюсного внутривенного введения продуктов деструкции фибрин-мономера в ЭПП паров воды в дозе 0,5 мг/кг

Параметр	До введения (контроль)	Время после инъекции				
		10 мин	60 мин	120 мин	24 часа	5 дней
Число тромбоцитов, %	100,0±3,1	115,4±5,1	106,4±2,8	93,2±6,9	58,6±7,9*	73,5±7,4*
АЧТВ, с	23,8±1,5	27,8±1,2	29,1±1,8	26,7±1,2	24,5±1,2	25,3±1,7
Протромбиновое время, с	8,2±0,1	7,9±0,2	8,8±0,2	10,7±1,2	7,5±0,1	9,2±0,4
Концентрация фибриногена, г/л	3,8±0,4	3,5±0,4	3,3±0,4	3,3±0,4	4,2±0,2	3,3±0,3
Концентрация ПДФ, мкг/мл	2,5±1,1	1,8±3,2	3,6±1,3	1,8±3,2	0,7±0,6	1,8±3,2
Концентрация РФМК, мг%	12,0±2,0	10,0±1,0	15,0±2,9	12,0±2,5	16,6±3,3	15,0±2,9

* - Достоверно по отношению к контролю ($p < 0,05$)

В дозе 0,5 мг/кг продукты деструкции фибрин-мономера достоверно снижали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов *ex vivo* через 60 мин после инъекции. При этом наблюдалось ингибирование тромбоцитарной активности в 1,4 раза по сравнению с исходным уровнем. Спустя 120 мин после введения продуктов деструкции фибрин-

мономера антиагрегационный эффект сохранялся: тромбоцитарная агрегация оставалась сниженной до $20,9 \pm 1,9\%$. Через 24 часа тромбоцитарная активность полностью восстанавливалась (Таблица 5.2.5). Кроме того, было отмечено уменьшение количества тромбоцитов на 41,1% и на 26,5% через 24 часа и через 7 дней после введения (Таблица 5.2.6).

Таблица 5.2.7. Влияние болюсного внутривенного введения продуктов деструкции фибрин-мономера в ЭПП паров воды в дозе 1 мг/кг на агрегацию тромбоцитов кролика *ex vivo* (АДФ 1×10^{-5} М), (A_{\max} , %)

До введения (контроль)	Время после инъекции				
	10 мин	60 мин	120 мин	24 часа	7 дней
37,9±1,3	29,5±2,5*	29,6±1,1*	22,5±0,8*	25,4±2,2*	33,9±0,9

* - Достоверно по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Таблица 5.2.8. Изменение некоторых показателей свертывающей системы крови кроликов *ex vivo* под действием болюсного внутривенного введения продуктов деструкции фибрин-мономера в ЭПП паров воды в дозе 1 мг/кг

Параметр	До введения (контроль)	Время после инъекции				
		10 мин	60 мин	120 мин	24 часа	7 дней
Число тромбоцитов, %	100,0±3,8	99,7±9,1	92,1±5,6	86,9±7,1	66,4±4,2*	90,7±5,9
АЧТВ, с	21,9±0,8	21,6±0,5	25,1±1,1	25,9±1,8	24,5±1,9	19,8±1,7
Протромбиновое время, с	8,6±0,2	7,9±0,3	8,2±0,2	7,9±0,2	7,7±0,1	8,8±0,2
Концентрация фибриногена, г/л	4,1±0,1	3,4±0,5	3,2±0,2	3,6±0,4	3,2±1,1	4,1±0,4
Концентрация ПДФ, мкг/мл	1,2±1,4	1,2±1,4	1,8±3,2	1,2±1,4	0,3±0,1	0,3±0,1

* - Достоверно по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Внутривенное введение продуктов деструкции фибрин-мономера кроликам в дозе 1 мг/кг приводило к ингибированию тромбоцитарной агрегации (с $37,9 \pm 1,3\%$ в контрольном эксперименте до $29,5 \pm 2,5\%$) уже спустя 10 мин после инъекции. Максимальный антиагрегационный эффект развивался через 2 часа после введения: агрегационная способность тромбоцитов уменьшалась в 1,7 раза по сравнению с исходным уровнем. Антиагрегационное действие низкомолекулярных продуктов сохранялось, и через сутки после инъекции: агрегация составила $25,4 \pm 2,2\%$ (Таблица 5.2.7). Одновременно отмечалось и уменьшение числа тромбоцитов на 30% по сравнению с контролем.

В то же время продукты ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера как в дозе 0,5 мг/кг, так и в дозе 1 мг/кг не влияли на интегральные параметры гемостаза плазмы крови: АЧТВ, протромбиновое время, концентрацию фибриногена и продуктов его деградации и растворимых фибрин-мономерных комплексов (Таблица 5.2.8).

Анализ полученных данных позволяет заключить, продукты деструкции фибрин-мономера в ЭПП эффективно ингибируют агрегацию тромбоцитов как *in vitro* в диапазоне концентраций $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. Антиагрегационное действие ЭПП-обработанного фибрин-мономера сохраняется и *ex vivo* при его внутривенном введении экспериментальным животным. При этом продукты ЭПП-деструкции фибрин-мономера оказывают дозозависимый антиагрегационный эффект, не влияя на параметры гемостаза плазмы крови.

Таким образом, ЭПП-обработка фибрин-мономера придает полученным продуктам новые биологические свойства и может быть альтернативным подходом к созданию новых высокоэффективных ингибиторов тромбоцитарной агрегации.

5.2.3. Биологические свойства олигосахаридов, полученных посредством ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана

5.2.3.1. Антибактериальные и фунгицидные свойства низкомолекулярных продуктов ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана

В опытах *in vitro* проведено сравнительное исследование антибактериальных и антимикотических свойств продуктов деструкции хитозана с $M_v = 27$ кДа, обработанного ЭПП в течение 2 мин в среде кислорода (условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 5$ Торр, $T_s = 70$ °С), определены минимальные ингибирующие (МИК) и минимальные биоцидные концентрации (МБК) исследуемых веществ в отношении различных видов микроорганизмов. Подробно методика подготовки эксперимента описана в главе II «Материалы и методы» (раздел 2.4).

Исследовалась антимикотическая активность продуктов деструкции хитозана в отношении мицелиальных грибов - *Penicillium tardum*, *Penicillium chrizogenum*, *Penicillium crustozum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Phoma betae*, *Cladosporium herbarum*, *Mucor pusillus*, *Trichoderma harzianum*.

Было показано, что исследуемый образец в концентрации 500 мкг/мл практически полностью ингибировал рост *P. tardum*, *P. chrizogenum*, *A. flavus*, *P. betae* и *C. herbarum*. Рост остальных видов микромицетов полностью не подавлялся, однако были отмечены заметные изменения в количестве биомассы, обилии спороношения, цвете культуры и

культуральной жидкости. Так, *P. crustozum* в присутствии исследуемого образца не образовывал сплошного мицелиального образования на поверхности питательной среды, культуральная среда в отличие от контрольного варианта не приобретало характерную красно-коричневую окраску. *A. fumigatus* в обоих вариантах имел обильное спороношение, хотя в опыте отмечено более позднее начало спороношения и меньшее количество биомассы.

Исследовалась антимикотическая активность хитозанов в отношении дрожжеподобных грибов - *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida scotti*, *Torulopsis candida*, *Saccharomyces cerevisia*, *Rhodotorula rubra*. Оценка МИК показала, что различные виды дрожжеподобных грибов, используемых в эксперименте, обладали различной чувствительностью. Наиболее чувствительными были *C. scotti* 500 мкг/мл и *R. rubra* 250 мкг/мл, а остальные имели МИК ≥ 2000 мкг/мл.

Таблица 5.2.9. Антимикробная активность продуктов деструкции хитозана ($M_v = 500$ кДа) в ЭПП водяного пара в отношении различных микроорганизмов в дистиллированной воде

Названия тест-штаммов	Наличие роста микробов в присутствии различных концентраций продуктов ЭПП-деструкции хитозана, мкг/мл					Контрольная пробирка без добавления продуктов ЭПП-деструкции хитозана
	1000	500	250	125	62,5	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	---	±	±	+	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6835 P	---	±	+	+	+	+
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 275348	+	+	+	+	+	+

Условные обозначения:

- отсутствие роста микроорганизмов;
- ± более слабый рост микроорганизмов в сравнении с контролем;
- + выраженный рост микроорганизмов, сравнимый с контролем

В серии экспериментов была проведена оценка антимикробной активности продуктов ЭПП-деструкции хитозана с $M_v = 500$ кДа (условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, пары воды при $P_m = 5$ Торр, $\tau = 5$ мин, $T_s = 70$ °С) в отношении покоящихся (неразмножающихся) микроорганизмов в дистиллированной воде. Полученные результаты представлены в таблице 5.2.9.

Кроме исследований с покоящимися микроорганизмами в дистиллированной воде, были проведены эксперименты по изучению антимикробного эффекта хитозана в

отношении делящихся (размножающихся) микробных клеток. Для этих целей вместо дистиллированной воды использовали мясопептонный бульон, а микробная нагрузка была на порядок ниже (использовали взвеси тест-штаммов в концентрации 5×10^6 КОЕ/мл). В этой серии опытов были получены аналогичные результаты.

Продукты плазмохимической деструкции хитозана в ЭПП водяного пара обладали антимикробным эффектом (как в случае покоящихся, так и в случае размножающихся микроорганизмов) в отношении штаммов кишечной палочки и золотистого стафилококка в концентрации 1000 мкг/мл. При этом полученные в ЭПП хитоолигосахариды убивали все клетки тест-штаммов, о чем можно было судить по полному подавлению роста в пробах, высеваемых на сектора плотных питательных сред. В концентрации 500 мкг/мл продукты ЭПП-обработки хитозана оказывали умеренный антимикробный эффект в отношении упомянутых тест-штаммов, поскольку их рост подавлялся не полностью. По отношению к *E. coli* продукты плазмохимической деструкции хитозана сохраняли свою активность и в концентрации 250 мкг/мл.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии ингибирующей активности у хитоолигосахаридов, полученных путем управляемой деструкции в ЭПП кислорода и паров воды, в отношении дрожжеподобных грибов и бактерий, в том числе условно-патогенных. Полученные результаты представляет научный интерес в плане потенциальной возможности применения продуктов ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана в качестве антимикотического компонента в составе различных медицинских препаратов, таких как гели, мази и присыпки, создания биоактивных пленок, обладающих сочетанным биологическим действием, а также в виде биоразлагаемых материалов, содержащих иммобилизованные лекарственные соединения. Кроме того, низкомолекулярные хитоолигосахариды могут быть использованы в сельском хозяйстве в качестве антигрибковых агентов, фитопротекторов, индукторов устойчивости растений к различным заболеваниям, биостимуляторов роста (см. раздел 5.2.3.1) и пищевой промышленности в качестве компонентов упаковки продуктов и биологически активных добавок.

5.2.3.1. Фитостимулирующие свойства низкомолекулярных продуктов ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана

Известно, что низкомолекулярные формы хитозана и хитоолигосахариды эффективно стимулируют рост и плодоношение растений, индуцируют их собственные биохимические механизмы защиты, повышая устойчивость к различными патогенным микроорганизмам, болезням и неблагоприятным факторам окружающей среды [5.2.7-

5.2.9]. Перечисленные свойства делают низкомолекулярные хитозаны чрезвычайно перспективными агентами для разработки экологически чистых технологий возделывания сельскохозяйственных культур.

В данной части работы была исследована фитостимулирующая активность образцов низкомолекулярных водорастворимых хитоолигосахаридов, полученных путем пучково-плазменной обработки исходного хитозана с $M_v = 500$ кДа в среде кислорода.

Обработку проводили во вращающемся реакторе при следующих условиях: $U = 30$ кВ, $I_b = 0,9-2,5$ мА, $P_m = 5$ Торр, $\tau = 2-10$ мин, $T_s = 40-60$ °С). В результате ЭПП-стимулированного гидролиза были получены хитоолигосахариды с молекулярной массой 500-800 Да и индексом полидисперсности 1,5, имеющие растворимость в дистиллированной воде ~95%.

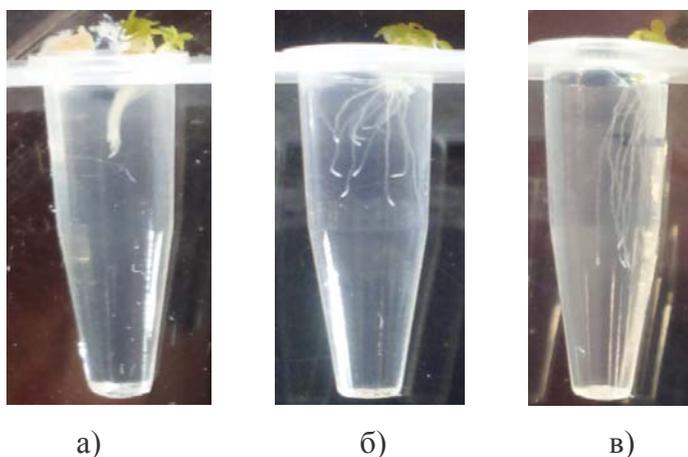


Рис. 5.2.3. Фотографии корневой системы модельного растения *Arabidopsis thaliana*: а) - контроль; б) - обработка 0,025% раствором хитоолигосахаридов, полученных с помощью ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана в течение 2 мин; в) обработка 0,1% раствором хитоолигосахаридов, полученных с помощью ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана в течение 2 мин

Биологические испытания выполняли на модельном растении *Arabidopsis thaliana*, семена которого в процессе культивирования обрабатывали 0,025 % and 0,1 % растворами хитоолигосахаридов в дистиллированной воде. На рис. 5.2.3 показаны фотографии контрольных растений и растений, обработанных растворами хитоолигосахаридов, полученных в ходе ЭПП-стимулированного гидролиза хитозана. В экспериментах было установлено, что исследованные растворы низкомолекулярных хитоолигосахаридов, полученных с помощью ЭПП-обработки в течение 2-10 мин, обладали выраженным фитостимулирующим действием и ускоряли развитие корневой системы растений. Так, длина корней *Arabidopsis thaliana*, обработанных 0,1% раствором хитоолигосахаридов,

полученных при ЭПП-деструкции хитозана в течение 2 мин, увеличивалась на ~35 % по сравнению с контрольной группой растений. Растворы хитоолигосахаридов были эффективны и при использовании в меньших концентрациях (Рис. 5.2.4).

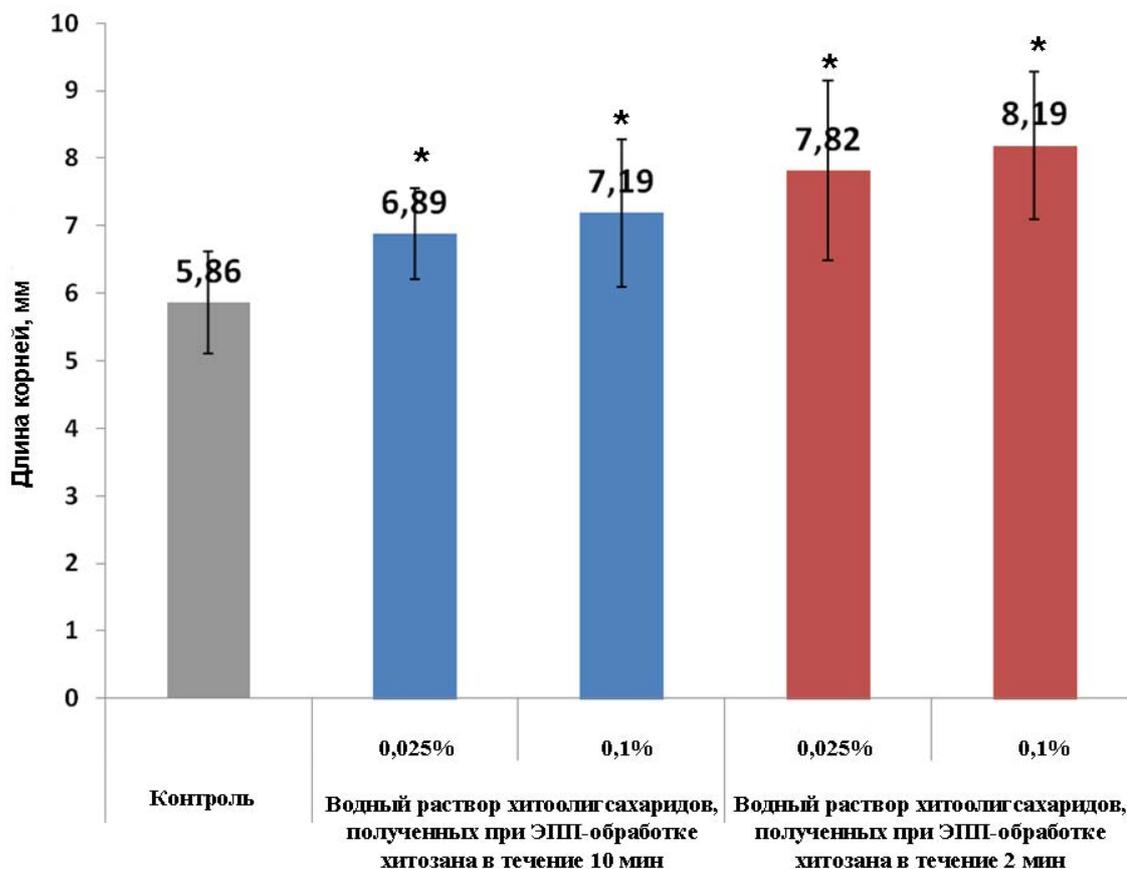


Рис. 5.2.4. Стимулирование роста корневой системы растений 0,025% и 0,1% водными растворами хитоолигосахаридов, полученных с помощью ЭПП-деструкции хитозана в течение 2 и 10 мин

* - результаты достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Таким образом, низкомолекулярные водорастворимые продукты ЭПП-деструкции хитозана обладают свойствами стимуляторов роста растений, что предполагает возможность создания на их основе экологически безопасных агропрепаратов, а разработанный метод пучково-плазменный метод деструкции полисахаридов является перспективным для получения биоактивных хитоолигосахаридов-фитостимуляторов.

5.2.4. Гемостатическая активность пленок и губок полисахаридов, модифицированных в ЭПП и гибридной плазме

Эксперименты показали (см. раздел 5.1.4), что плазмохимическая модификация пленок и губок, изготовленных из полисахаридов, приводит к изменениям морфологии поверхности материала, ее гидрофильно-гидрофобных свойств и формированию новых

активных химических групп (например, кислород- или фторсодержащих). Все эти факторы могут влиять на способность полисахаридных материалов останавливать кровотечение из раны, причем как усиливая, так и снижая их гемостатическую активность (ГА). Поэтому в отдельной серии опытов была исследована ГА полисахаридных пленок и губок, обработанных в ЭПП и гибридной плазме различных газов (см. раздел 5.1.4), с целью выявить условия плазмохимической модификации, улучшающие их гемостатические свойства.

Модификация в среде инертных газов ухудшала ГА образцов: несмотря на повышение смачиваемости, пленки хитозана и полисахаридные губки вне зависимости от их состава не адгезировали к раневой поверхности и окружающим тканям и не замедляли кровотечение. Кроме того, губки теряли способность абсорбировать кровь. Некоторые результаты приведены в таблице 5.2.10.

Таблица 5.2.10. Гемостатические свойства альгината натрия в форме губок, модифицированных пучково-плазменными методами в среде аргона.

Условия обработки приведены в разделе 5.1.4.

Материал	Условия обработки	Гемостатические свойства		
		Масса кровопотери, г	Время остановки кровотечения, с	ГА, %
Хлопковый марлевый тампон	Контроль	4,370	210	0,00
Необработанная губка из 1% раствора альгината натрия	----	3,862	210	5,81
Модифицированная губка из 1% раствора альгината натрия	ЭПП, $\tau = 5$ мин	4,844	210	-5,42

Модификация пленок и губок полисахаридов в неравновесной плазме кислорода, аммиака или смеси этих газов, напротив, в несколько раз повышала гемостатическую активность этих материалов. Повышение гидрофильности материала и формирование на его поверхности кислородосодержащих и азотосодержащих функциональных групп значительно улучшало его контакт с раневой поверхностью. Так, хитозановые пленки ($\tau = 10$ мин) адгезировали к ране и прилежащим тканям в течение 30-40 с, и втягивались в раневую поверхность, выстилая её. После снятия плёнки кровотечение либо не возобновлялось вообще, либо возобновлялось со значительно меньшим темпом. В таблицах 5.2.11 и 5.2.12 приведены результаты оценки ГА для хитозановых пленок и губок различного состава, соответственно. Гемостатическая активность

модифицированных материалов зависела от времени обработки: увеличение экспозиции в два раза приводило к возрастанию ГА.

Таблица 5.2.11. Гемостатические свойства пленок хитозана, модифицированных пучково-плазменными методами.

Пленки получены из 2% раствора хитозана ($M_v = 500$ кДа) в 1% уксусной кислоте. Условия обработки приведены в разделе 5.1.4.

Материал	Условия обработки	Гемостатические свойства		
		Масса кровопотери, г	Время остановки кровотечения, с	ГА, %
Хлопковый марлевый тампон	Контроль 1	4,370	210	0,00
Необработанная пленка	Контроль 2	1,242	240	4,20
Модифицированная пленка	ЭПП, O ₂ , $\tau = 5$ мин	1,679	120	19,16
	ЭПП, O ₂ , $\tau = 10$ мин	0,531	120	54,89
	Гибридная плазма, O ₂ , $\tau = 10$ мин	0,279	90	69,90
	ЭПП, O ₂ /NH ₃ , $\tau = 10$ мин	0,219	120	62,23
	Гибридная плазма, O ₂ /NH ₃ , $\tau = 10$ мин	0,543	90	61,68

Таблица 5.2.12. Гемостатические свойства губок на основе полисахаридов, модифицированных пучково-плазменными методами.

Условия обработки приведены в разделе 5.1.4.

Материал	Материал губки Условия обработки	Гемостатические свойства		
		Масса кровопотери, г	Время остановки кровотечения, с	ГА, %
Хлопковый марлевый тампон	Контроль	4,370	210	0,00
Необработанные губки	Альгинат натрия	3,862	210	5,81
	Альгинат натрия/агар	1,609	120	44,98
Модифицированные губки	Альгинат натрия ЭПП, O ₂ , $\tau = 5$ мин	1,570	60	67,75
	Альгинат натрия/агар Гибридная плазма, O ₂ , $\tau = 5$ мин	0,401	120	68,16

Потенцирование гемостатической активности материалов под действием низкотемпературной сильнонеравновесной плазмы кислородсодержащих сред было показано и при обработке других полисахаридных материалов. Например, гемостатическая активность целлюлозной ваты после обработки в ЭПП в течение 5 мин составила 60,74% (ГА немодифицированного материала - 10,80%).

Также были исследованы гемостатические свойства губки из МКЦ. В этом случае эффективно оказалась не только обработка в кислородной плазме, но и добавление в плазмообразующую среду фторсодержащих веществ (Таблица 5.2.13). При модификации в SF₆ гемостатическая активность МКЦ губки возрастала с увеличением времени обработки. Максимальная определенная гемостатическая активность составила 72,79% (ГА необработанной МКЦ губки составляла 15,72%).

Таблица 5.2.13. Гемостатические свойства МКЦ в форме губки, модифицированной пучково-плазменными методами.

Условия обработки приведены в разделе 5.1.4.

Материал	Материал губки Условия обработки	Гемостатические свойства		
		Масса кровопотери, г	Время остановки кровотечения, с	ГА, %
Хлопковый марлевый тампон	Контроль 1	4,370	210	0,00
Необработанная губка	Контроль 2	1,474	255	15,72
Модифицированные губки	ЭПП, O ₂ , τ = 5 мин	0,721	255	30,76
	Гибридная плазма, SF ₆ , τ = 5 мин	2,171	150	42,49
	Гибридная плазма, SF ₆ , τ = 60 мин	0,394	90	72,79

Таким образом, эксперименты показали, что пучково-плазменные методы модификации поверхности биополимерных материалов являются новым перспективным и высокотехнологичным направлением получения эффективных гемостатиков. Сформированные на контактной поверхности материала активные химические группы, могут быть использованы для дальнейшей функционализации биополимерного материала различными биологически активными агентами (лекарственными веществами, пептидами и белками, олигосахаридами), что позволит создавать гемостатики с сочетанным или прологированным действием.

5.3. Анализ физико-химических факторов, воздействующих на биополимеры при обработке в ЭПП

Изменения физико-химических и биологических свойств биополимеров являются следствием комбинированного воздействия на вещество нескольких факторов, которые совместно реализуются в ЭПП, а именно: взаимодействия с активными тяжелыми частицами плазмы (атомами, ионами и радикалами в основном и возбужденном состояниях), тормозным рентгеновским излучением, высокоэнергетическими электронами пучка и вторичными электронами ЭПП.

В данном разделе работы для оценки вклада каждого из факторов были проведено сравнительное исследование структуры и свойств (содержания аминокислотных остатков, молекулярных масс, биологической активности) продуктов ЭПП-модификации биополимеров, полученных в специально подобранных условиях обработки, когда доминирующим оказывался какой-то один (или определенная группа) из перечисленных выше факторов. В качестве тестовых соединений были выбраны:

а) полисахарид хитозан ($M_v = 500$ кДа);

б) белки – фибрин-мономер и БСА, поскольку белки, в отличие от полисахаридов, являются нерегулярными полимерами, имеют более сложную структуру и более чувствительны к внешним воздействиям.

Эксперименты проводили на тонких пленках хитозана и белков, а также на порошках фибрин-мономера и БСА.

Были исследованы структура и свойства фибрин-мономера и БСА, обработанных в следующих режимах:

- 1) Тормозным рентгеновским излучением (X-ray). Для этого контейнер с обрабатываемым веществом накрывался полиэтиленовой пленкой толщиной 20 мкм, которая практически прозрачна для рентгеновского излучения, но полностью поглощала электроны, поэтому под пленкой генерация ЭПП не происходила. Обработка проводилась в течение 5 мин для фибрин-мономера и 10 мин для БСА.
- 2) Совместно рентгеновским излучением и быстрыми электронами (e^+X -ray). Обработка проводилась при пониженном давлении инертного газа ($p_m \sim 10^{-2}$ Торр). В этих условиях концентрация тяжелых частиц в ЭПП на три порядка меньше, чем в экспериментах группы 3 (см. следующий пункт). Время обработки фибрин-мономера τ составило 2 мин. Время обработки БСА – 5 мин и 10 мин. Энергия электронов в данных опытах составляла 30 кэВ.

3) ЭПП водяного пара по обычной процедуре, описанной выше ($H_2O+e+X\text{-ray}$).

Обработка фибрин-мономера проводилась в течение 5 мин, обработка БСА – в течение 5 мин.

Условия обработки были специально подобраны таким образом, чтобы дозы облучения быстрыми электронами и рентгеновского облучения в экспериментах 1 и 2 были такими же, как и в эксперименте 3. Все эксперименты проводились при постоянной мощности пучка $N_b=50$ Вт, а доза облучения образца регулировалась временем экспозиции τ и выбором режима сканирования ЭП. Количественные значения доз для конкретных условий экспериментов предварительно рассчитывались в ходе вычислительных экспериментов (см. раздел 7.4).

Учитывая результаты, полученные в экспериментах, рассмотренных в разделах 5.1. и 5.2, фибрин-мономер обрабатывали в виде мелкодисперсного порошка, а БСА – в виде тонких пленок. В качестве контрольных образцов при анализе использовали порошок исходного фибрин-мономера и БСА, лиофилизированный в вакууме.

Свойства полученных продуктов зависели от способа обработки фибрин-мономера. Фибрин-мономер, обработанный только рентгеновским излучением, обладал ограниченной растворимостью в воде, в то время как остальные образцы хорошо растворялись в дистиллированной воде.

Определение содержания различных аминокислотных остатков на анализаторе Т 339М («Mikrotechha-N. P.», Чехословакия) в режиме 17 основных аминокислот выявило существенные различия в аминокислотном составе образцов фибрин-мономера, обработанных в перечисленных выше режимах. Результаты представлены в таблице 5.3.1. Содержание аминокислот в образце фибрин-мономера, обработанном только рентгеновским излучением, практически не отличался от аминокислотного состава контрольного белка. По сравнению с необработанным фибрин-мономером наблюдалось существенное снижение гистидина (на 47,3%), аспарагиновой кислоты (на 23,4%) и метионина (на 46,7%). Содержание остальных аминокислот значительно не изменилось. В образце БСА, обработанном только рентгеновским излучением, наблюдалось снижение содержания лизина, пролина, метионина, изолейцина и тирозина в 1,2-1,4 раза по сравнению с нативным белком.

С помощью гельпроникающей хроматографии было показано, что в образце фибрин-мономера, обработанного рентгеновским излучением, присутствует лишь небольшое количество низкомолекулярных фрагментов.

При проведении PAGE электрофореза не было обнаружено деструкции БСА, подвергнутого вакуумной сушке: данный образец давал полосу, идентичную нативному

БСА. Таким образом, вакуумная сушка, использованная при получении тонких пленок альбумина, не влияет на его структуру. Отсутствие деструкции белковых молекул было показано и у образцов БСА, обработанных рентгеновским излучением (Рис. 5.3.1).

Данные, полученные при проведении электрофореза, были подтверждены результатами гелипроникающей хроматографии: на хроматограммах не было обнаружено пиков, принадлежащих низкомолекулярным фрагментам. В то же время на всех хроматограммах присутствовал выраженный пик, соответствующий соединению с молекулярной массой 60 кДа (см. Рис. 5.3.2).

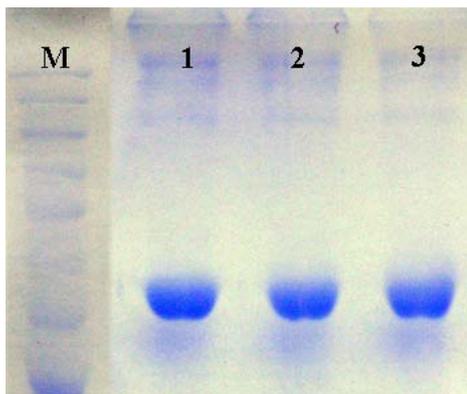
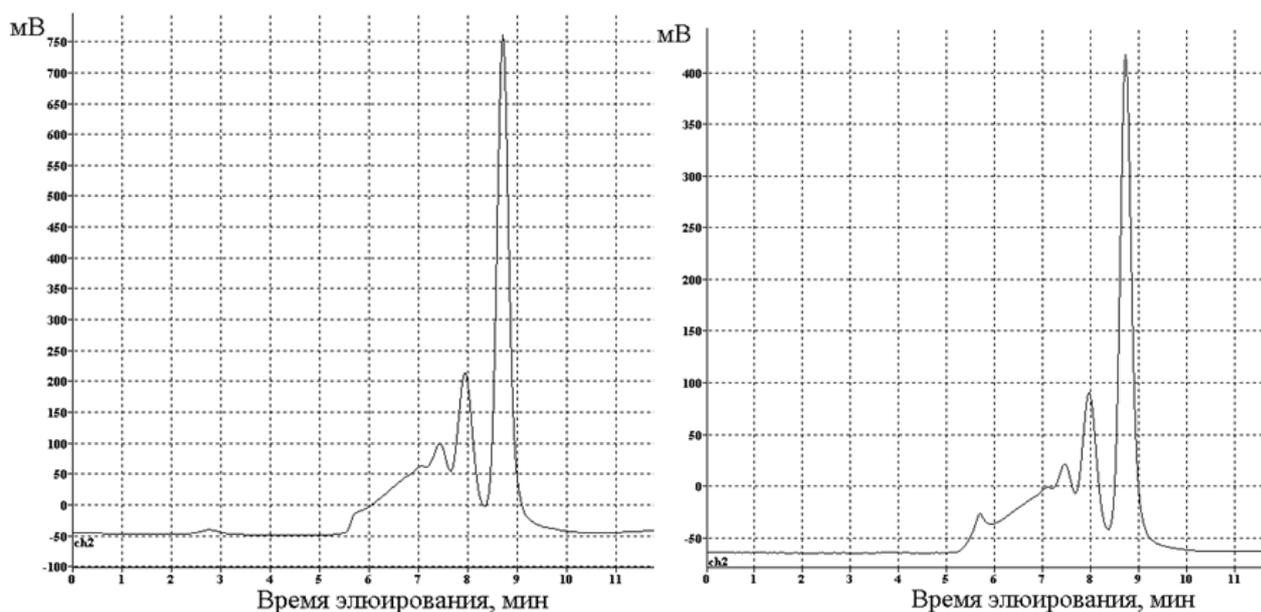


Рис. 5.3.1. PAGE-электрофорез образцов бычьего сывороточного альбумина (БСА): 1 – исходный БСА; 2 – БСА, лиофилизированный из раствора в вакууме для получения тонкой пленки; 3 – БСА, обработанный рентгеновским излучением в течение 10 мин; M – маркеры.



а)

б)

Рис. 5.3.2. Гелипроникающая хроматография БСА: а) – БСА, лиофилизированный из раствора в вакууме для получения тонкой пленки; б) – БСА, обработанный рентгеновским излучением в течение 10 мин

Обработка фибрин-мономера рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами в течение 2-х минут привела к сильному уменьшению содержания аминокислотных остатков в образце. Как и в образце фибрин-мономера, обработанном

Таблица 5.3.1. Содержание аминокислотных остатков в фибрин-мономере (ФМ-К) и продуктах его деструкции под действием рентгеновского излучения (X-ray), рентгеновского излучения и быстрых электронов (e+X-ray) и ЭПШ паров воды, % масс.

Аминокислоты, %масс	ФМ-К Содержа- ние	X-ray $\tau = 5$ мин		e+X-ray $\tau = 2$ мин		ЭПШ паров воды $\tau = 5$ мин	
		Содержа- ние	% изме- нения содер- жания	Содержа- ние	% изме- нения содер- жания	Содержа- ние	% изме- нения содер- жания
Лизин	0,26±0,03	0,23±0,02	11,5	0,22±0,02	15,4	0,13±0,01	50,0
Гистидин	0,19±0,02	0,10±0,01	47,3	0,13±0,01	31,6	0,13±0,01	31,6
Аспарагиновая кислота	0,64±0,06	0,49±0,05	23,4	0,45±0,04	29,7	0,39±0,04	39,0
Треонин	0,24±0,02	0,24±0,02	0	0,19±0,02	20,8	0,16±0,02	33,3
Серин	0,29±0,03	0,27±0,03	6,9	0,22±0,02	24,1	0,18±0,02	39,7
Глутаминовая кислота	0,53±0,05	0,49±0,05	7,5	0,44±0,04	17,0	0,37±0,04	30,2
Пролин	0,14±0,01	0,15±0,02	1,4	0,16±0,02	1,6	0,18±0,02	28,6
Глицин	0,24±0,02	0,21±0,02	12,5	0,20±0,02	16,7	0,19±0,02	20,8
Аланин	0,15±0,01	0,13±0,01	13,3	0,13±0,01	13,3	0,14±0,01	6,7
Цистин	0,068±0,007	0,058±0,006	14,7	0,079±0,008	16,2	0,039±0,004	42,6
Валин	0,15±0,01	0,14±0,01	6,7	0,15±0,01	0	0,12±0,01	20,0
Метионин	0,15±0,01	0,08±0,01	46,7	0,09±0,01	40,0	0,07±0,01	53,3
Изолейцин	0,14±0,01	0,13±0,01	7,1	0,14±0,01	0	0,11±0,01	21,4
Лейцин	0,24±0,02	0,22±0,02	8,3	0,21±0,02	12,5	0,16±0,02	33,3
Тирозин	0,17±0,02	0,17±0,02	0	0,16±0,02	5,9	0,09±0,01	47,1
Фенилаланин	0,16±0,02	0,14±0,01	12,5	0,18±0,02	11,5	0,12±0,01	25,0

Таблица 5.3.2. Содержание аминокислотных остатков в тонких пленках бычьего сывороточного альбумина до и после его обработки рентгеновским излучением (X-ray) и рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами (e+X-ray), % масс.

Аминокислота	Контрольный БСА	X-ray $\tau = 10$ мин		e+X-ray $\tau=10$ мин	
		Содержание	% изменения содержания	Содержание	% изменения содержания
Лизин	10,25±1,02	8,82±0,88	13,9	3,18±0,32	69,0
Гистидин	3,67±0,37	3,54±0,35	3,5	3,30±0,33	10,1
Аргинин	5,39±0,54	4,85±0,48	10,0	3,65±0,66	38,1
Аспарагиновая кислота	9,17±0,92	9,04±0,90	1,4	3,12±0,31	65,9
Треонин	5,02±0,50	5,02±0,50	0	2,52±0,25	32,8
Серин	3,75±0,37	3,60±0,36	4,0	2,40±0,24	36,0
Глутаминовая кислота	16,78±1,68	15,33±1,53	8,6	5,20±0,52	69,0
Пролин	4,01±0,40	3,35±0,33	18,3	следы	100
Глицин	1,45±0,14	1,71±0,17	17,9	1,90±0,19	31,0
Аланин	4,91±0,49	4,93±0,49	0,4	4,56±0,46	6,9
Цистин	4,73±0,47	4,51±0,45	4,6	2,15±0,21	54,5
Валин	4,45±0,44	4,31±0,43	3,1	3,49±0,35	21,6
Метионин	2,02±0,20	1,42±0,14	29,7	1,23±0,12	39,1
Изолейцин	1,85±0,18	1,73±0,17	6,5	0,83±0,08	55,1
Лейцин	9,61±0,96	9,01±0,90	6,2	4,56±0,46	52,5
Тирозин	4,30±0,43	3,33±0,33	22,5	1,99±0,20	53,7
Фенилаланин	5,01±0,50	4,80±0,48	4,2	3,23±0,32	35,5

рентгеновским излучением, наиболее заметно снизилось (по сравнению с контрольным ФМ) содержание гистидина (на 31,6%), аспарагиновой кислоты (на 29,7%) и метионина (на 40,0%). Содержание треонина и серина уменьшилось в 1,3 раза по сравнению с нативным белком. Концентрация остальных не изменялась (Таблица 5.3.1).

При деструкции фибрин-мономера с помощью рентгеновского излучения и быстрых электронов изменялось содержание треонина и серина, которого не наблюдалось при обработке фибрин-мономера только рентгеновским излучением. Кроме того, содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот в образце, обработанном рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами, уменьшалось по сравнению с их концентрацией в образце, только рентгеновским излучением, на 10,2% и 8,2% соответственно. Таким образом, деструкция фибрин-мономера под совместным действием рентгеновского излучения и быстрых электронов приводила к некоторым, однако незначительным, изменениям в его аминокислотном составе.

Таблица 5.3.3. Высота пиков гельпроникающей хроматографии для продуктов, полученных при обработке БСА рентгеновским излучением, (X-ray) и рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами (e+X-ray) и в ЭПП паров воды, мВ

Время выхода пика, мин	5,6 >800 кДа	7,2 350 кДа	8 150 кДа	8,7 60 кДа	11,8	15,1	17
Образец	Высота пиков, мВ						
Исходный БСА	30	140	260	810	0	0	0
БСА, обработанный X-ray	35	80	150	470	0	0	0
БСА, обработанный e+X-ray $\tau = 5$ мин	8	0	20	75	43	15	19
БСА, обработанный в ЭПП-Н ₂ O $\tau = 5$ мин	0	6	16	65	95	38	45
БСА, обработанный e+X-ray $\tau = 10$ мин	5	35	40	20	32	15	8
БСА, обработанный в ЭПП-Н ₂ O $\tau = 10$ мин	0	25	65	16	105	40	60

При обработке тонких пленок БСА рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами в течение $\tau = 5$ мин отмечалось также образование низкомолекулярных продуктов: на хроматограммах были идентифицированы пики, соответствующие низкомолекулярным соединениям, со временами выхода 11,8; 15,1 и 17

мин. Однако пик, соответствующий нативному БСА, сохранялся (Рис. 5.3.3). При увеличении времени экспозиции в 2 раза ($\tau = 10$ мин) шло накопление продуктов полимеризации. При определении содержания аминокислотных остатков было обнаружено существенное понижение уровня практически всех аминокислот в образце БСА, обработанном рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами в течение 10 мин (на 50-69% по сравнению с необработанным БСА) (Таблица 5.3.2).

Обработка тонкой пленки БСА в ЭПП водяного пара по стандартной процедуре приводила к дальнейшему снижению содержания всех аминокислот (см. Таблицу 5.1.8. в разделе 5.1) и нарастанию количества низкомолекулярных продуктов деструкции. При этом количество низкомолекулярных продуктов значительно возрастало через 5 мин после начала ЭПП-обработки, а содержание высокомолекулярных полимерных соединений снижалось (Таблица 5.3.3).

Обработка фибрин-мономера в ЭПП водяного пара по обычной процедуре в течение 5 мин вызывала весьма существенное изменение аминокислотного состава: в образце была снижена концентрация лизина, глутаминовой кислоты, изолейцина, лейцина, тирозина и фенилаланина, чего не наблюдалось в образцах после обработки рентгеновским излучением или рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами. Кроме того, наблюдалось дальнейшее снижение концентрации аспарагиновой кислоты, треонина, серина и метионина по сравнению с образцами фибрин-мономера, обработанными рентгеновским излучением или рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами. Наиболее значительно (в 1,5-2 раза по сравнению с необработанным фибрин-мономером (ФМ-К) снижалась массовая доля лизина, треонина, глутаминовой кислоты, тирозина, цистина, а также метионина, аспарагиновой кислоты и серина (Таблица 5.3.4).

Гельпроникающая хроматография показала, что фибрин-мономер, обработанный по стандартной процедуре в ЭПП водяного пара, имел около 2 % молекул или агрегатов с массой более 2000 кДа. 25 % вещества образца представляли собой фрагменты белков с массой от 150 кДа (8 минут) до 700 Да (11 минут). (Для сравнения, продолжительность элюирования инсулина с массой 5,3 кДа составляет 10,28 минут). В основном образце содержались продукты с продолжительностью элюирования 11,12; 11,35; 12,30; 12,74; 13,03 мин. Остальная часть образца была представлена различными аминокислотами или их фрагментами (Рис. 5.3.4). Следует отметить, что на продолжительность элюирования в данной хроматографической колонке после 11 минут существенное влияние оказывает гидрофобно-гидрофильные свойства низкомолекулярных веществ.

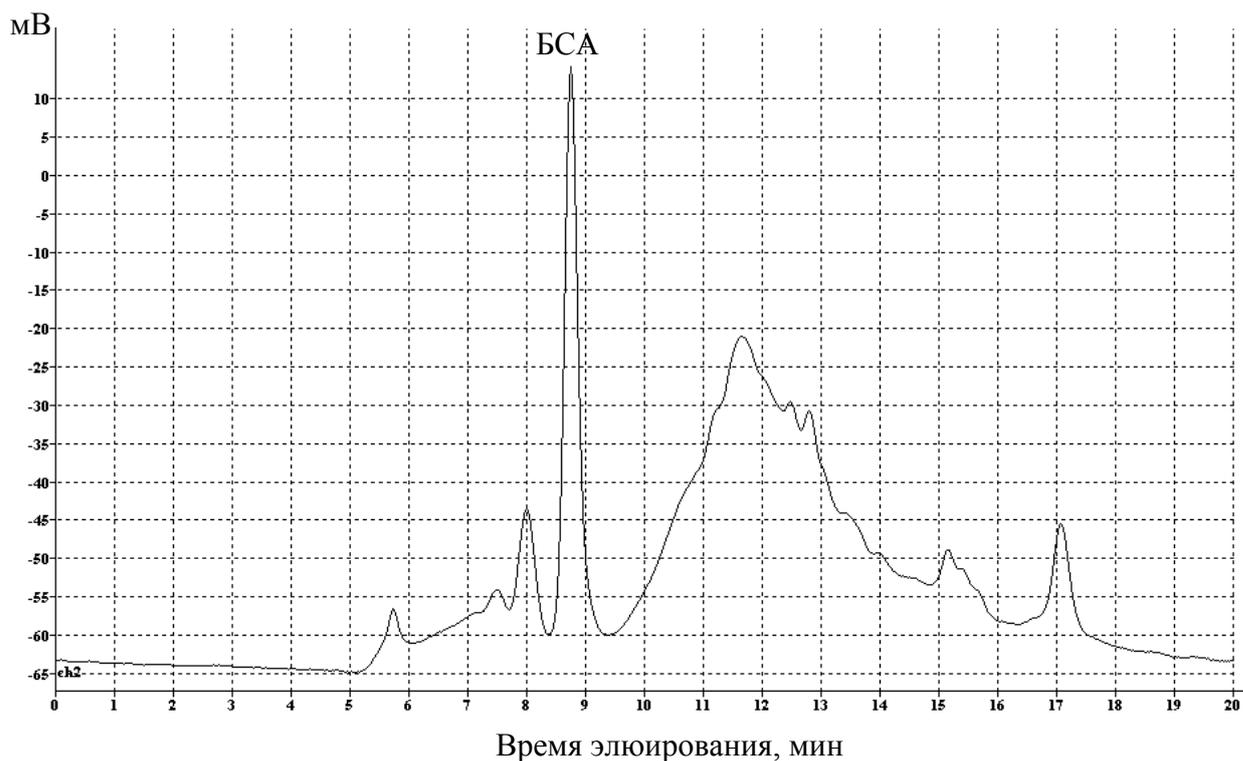


Рис. 5.3.3. Гельпроникающая хроматография БСА, обработанного рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами в течение 5 мин.

Таким образом, в образцах фибрин-мономера и БСА, обработанных ЭПП, где сочетаются все перечисленные выше факторы (рентгеновское излучение, быстрые электроны, действие химически активных частиц плазмы), отмечается значительное снижение содержания практически всех определяемых аминокислот и накопление низкомолекулярных продуктов деструкции. Вероятно, что при ЭПП-деструкции биополимеров (и в частности, белков) наблюдается синергетическое действие, всех факторов, реализующихся в электронно-пучковой плазме. При этом действие химически активных тяжелых частиц плазмы является, по-видимому, преобладающим.

Таблица 5.3.4. Содержание аминокислотных остатков в исходном фибрин-мономере и продуктах, полученных в результате его плазмохимической деструкции в ЭПП паров воды в течение 5 мин, % масс.

Аминокислоты	ФМ-К	Образец 1		Образец 2	
	Содержание	Содержание	% изменения содержания	Содержание	% изменения содержания
Лизин	0,26±0,03	0,13±0,01	50,0	0,13±0,01	50,0
Гистидин	0,19±0,02	0,20±0,02	5,0	0,13±0,01	31,6
Аспарагиновая кислота	0,64±0,06	0,49±0,05	23,4	0,39±0,04	39,0
Треонин	0,24±0,02	0,15±0,01	37,5	0,16±0,02	33,3
Серин	0,29±0,03	0,22±0,02	24,1	0,18±0,02	39,7
Глутаминовая кислота	0,53±0,05	0,36±0,04	32,0	0,37±0,04	30,2
Пролин	0,14±0,01	0,18±0,02	28,6	0,18±0,02	28,6
Глицин	0,24±0,02	0,22±0,02	8,3	0,19±0,02	20,8
Аланин	0,15±0,01	0,24±0,02	60,0	0,14±0,01	6,7
Цистин	0,068±0,007	0,039±0,004	42,6	0,039±0,004	42,6
Валин	0,15±0,01	0,12±0,01	20,0	0,12±0,01	20,0
Метионин	0,15±0,01	0,11±0,01	26,7	0,07±0,01	53,3
Изолейцин	0,14±0,01	0,10±0,01	28,5	0,11±0,01	21,4
Лейцин	0,24±0,02	0,17±0,02	39,3	0,16±0,02	33,3
Тирозин	0,17±0,02	0,09±0,01	47,0	0,09±0,01	47,1
Фенилаланин	0,16±0,02	0,09±0,01	43,7	0,12±0,01	25,0

Таблица 5.3.5. Влияние различных способов обработки фибрин-мономера на антиагрегационные свойства полученных продуктов (агрегация тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированная АДФ (1×10^{-5} М), A_{max} ; %)

АДФ 1×10^{-5} М (контроль)	ФМ-X-ray $\tau = 5$ мин	ФМ-e+X-ray $\tau = 2$ мин	ЭПП паров воды $\tau = 5$ мин	
			Образец 1	Образец 2
54,6±2,6	49,7±1,5	46,6±2,0	35,2±1,4 *	34,6±1,7 *

* - Достоверно по отношению к контролю АДФ 1×10^{-5} М ($p < 0,05$)

Образцы 1 и 2 были обработаны в одинаковых условиях ($U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 10$ Торр, пары воды, $\tau = 5$ мин) в двух независимых экспериментах

Биологическая активность продуктов ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера также зависела от условий обработки. Сравнение антиагрегационной активности образцов фибрин-мономера, обработанного рентгеновским излучением и рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами, и в ЭПП водяного пара по стандартной процедуре (конечная концентрация белка в суспензии тромбоцитов 1 мг/мл) показало, что только продукты ЭПП-деструкции фибрин-мономера ингибировали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов (Таблица 5.3.5). Это дает основание для вывода, что именно активные частицы плазмы играют решающую роль в приобретении продуктами модификации биологической активности.

Важно отметить, что фибрин-мономер, обработанный в ЭПП водяного пара в идентичных условиях (образцы 1 и 2 в таблицах 5.3.4. и 5.3.5.), имеют одинаковые фармакологические свойства и практически сходный аминокислотный состав. Таким образом, можно утверждать, что при точном соблюдении параметров ЭПП-обработки результаты ЭПП-деструкции белков являются полностью воспроизводимыми.

Таблица 5.3.6. Влияние интегрального энерговклада Q в вещество на антиагрегационные свойства продуктов ЭПП-стимулированной деструкции фибрин-мономера (агрегация тромбоцитов человека *in vitro*, индуцированная АДФ (1×10^{-5} М), A_{\max} ;%)

Контроль АДФ 1×10^{-5} М	Время обработки фибрин-мономера и режим сканирования ЭП		
	$\tau = 5$ мин 100×100 мм $Q = Q_0$	$\tau = 5$ мин 150×150 мм $Q < Q_0$	$\tau = 15$ мин 150×150 мм $Q = Q_0$
54,6±2,6	35,2±1,4 *	53,1±2,1	35,6±0,9 *

* - Достоверно по отношению к контролю АДФ 1×10^{-5} М ($p < 0,05$)

С целью отработки подходов к управлению процессами ЭПП-стимулированной деструкции и контролю за свойствами получаемых продуктов специальная серия экспериментов была проведена при пониженной плотности потока частиц плазмы на обрабатываемый образец фибрин-мономера. Для этого при фиксированной мощности N_b амплитуда сканирования ЭП была увеличена в 1,7 раза, т.е. в 3 раза была уменьшена плотность потока частиц плазмы, падающей на поверхность образца. Определение содержания аминокислотных остатков в данных образцах показало, что концентрация аминокислот в них не изменялась по сравнению с нативным фибрин-мономером. Полученные образцы не обладали антиагрегационной активностью, т.е. обработка фибрин-мономера в этом режиме не привела к его модификации. Когда время обработки было втрое увеличено ($\tau = 15$ мин) при той же плотности потока частиц (таким

образом, была восстановлена стандартная для экспериментов экспозиционная доза) антиагрегационные свойства появились вновь, причем на тех же количественных уровнях (Таблица 5.3.6). Это дало основания утверждать, что наблюдаемые при пучково-плазменной обработке фибрин-мономера эффекты зависят от дозы облучения, при этом, как и в случае ЭПП-модификации синтетических производных аминокислот (раздел 5.1.1), пороговым по времени τ образом.

Во всех образцах ЭПП-обработанного фибрин-мономера, которые вызывали ингибирование агрегации тромбоцитов, на хроматограммах (в том числе и на хроматограмме фибрин-мономера, модифицированного в ЭПП гелия, см. раздел 5.1 и рис. 5.1.2) присутствовал продукт с продолжительностью элюирования 12,30 мин. В то же время на хроматограммах фибрин-мономера, обработанного рентгеновским излучением и рентгеновским излучением совместно с быстрыми электронами, а также при обработке этого белка при пониженной плотности потока частиц плазмы, данного продукта обнаружено не было (Рис. 5.3.4, хроматограмма 3). Вероятно, именно этот низкомолекулярный пептид и обладает антиагрегационной активностью, а его образование зависит от способа обработки исходного белка и дозы облучения.

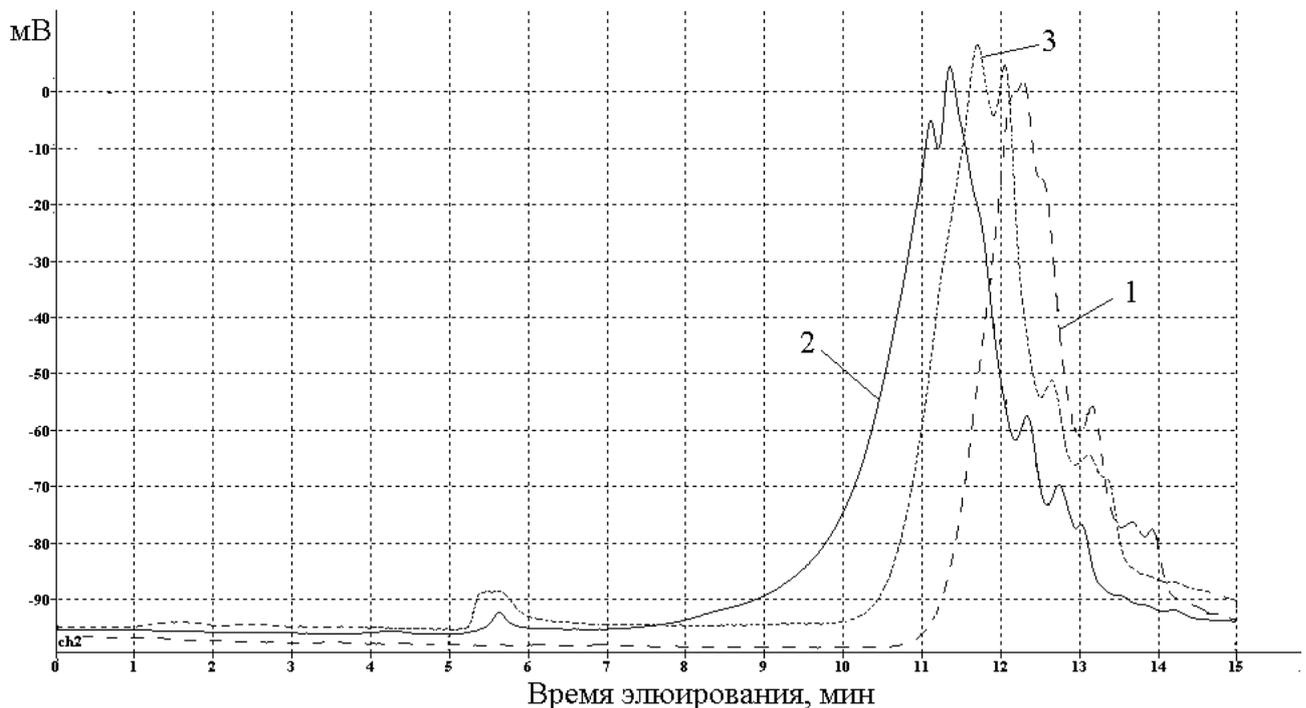


Рис. 5.3.4. Хроматограммы фибрин-мономера, обработанного ЭПП при различном интегральном энерговкладе Q в вещество: 1 – ФМ, обработанный в ЭПП водяного пара в течение 5 мин ($Q = Q_0$); 2 – ФМ, обработанный в ЭПП водяного пара при пониженной плотности потока частиц плазмы в течение 15 мин (Q); 3 – ФМ, обработанный в ЭПП водяного пара при пониженной плотности потока частиц плазмы в течение 5 мин ($Q < Q_0$).

Анализ влияния реализуемых в ЭПП физико-химических факторов, которые вносят вклад в деградацию биополимеров, был проведен и для полисахарида хитозана. Эксперименты проводили на тонких пленках ($3,5 \pm 1,5$ мкм), полученных из хитозана с $M_v = 500$ кДа.



Рис. 5.3.5. Водоохлаждаемое устройство с возможностью подачи потенциала для обработки тонких пленок полисахаридов.

Для проведения экспериментов была разработана специальная водоохлаждаемая подложка (медная пластинка толщиной 0,5 мм с радиатором, охлаждаемым проточной водой), на которую мог подаваться положительный или отрицательный потенциал. На этой подложке размещалась подлежащая обработке пленка хитозана (Рис. 5.3.5). Выполнялись эксперименты, ходе которых подложка была под потенциалом ± 300 В или была заземлена, что давало возможность разделить эффекты, оказываемые на биополимер электронейтральными частицами плазмы, положительно заряженными ионами и электронами тепловых и промежуточных энергий. На рис. 5.3.6. показана процедура обработки пленки хитозана без подачи потенциала на пластину и при подаче потенциала -300 В.

Эксперименты проводили в следующих условиях:

- ускоряющее напряжение $U = 30$ кВ;
- $I_b = 0,8 - 3,5$ мА;
- плазмообразующая среда: кислород. Кислород был выбран в качестве плазмообразующего газа, т.к. в нем идет интенсивное образование активных нейтральных и заряженных частиц, взаимодействующих с биомолекулами с высокими константами скоростей химических реакций;
- давление плазмообразующей среды в реакционной камере: 5 Торр;
- время обработки $\tau = 45 - 600$ с.

Температура образца контролировалась бесконтактным ИК-пирометром и в течение всего эксперимента поддерживалась равной 60 °С. Фотографии пленок хитозана до и после ЭПП-обработки показаны на рис 5.1.21 (см. раздел 5.1. 4). На обработанных в ЭПП образцах отмечалось характерное пожелтение.

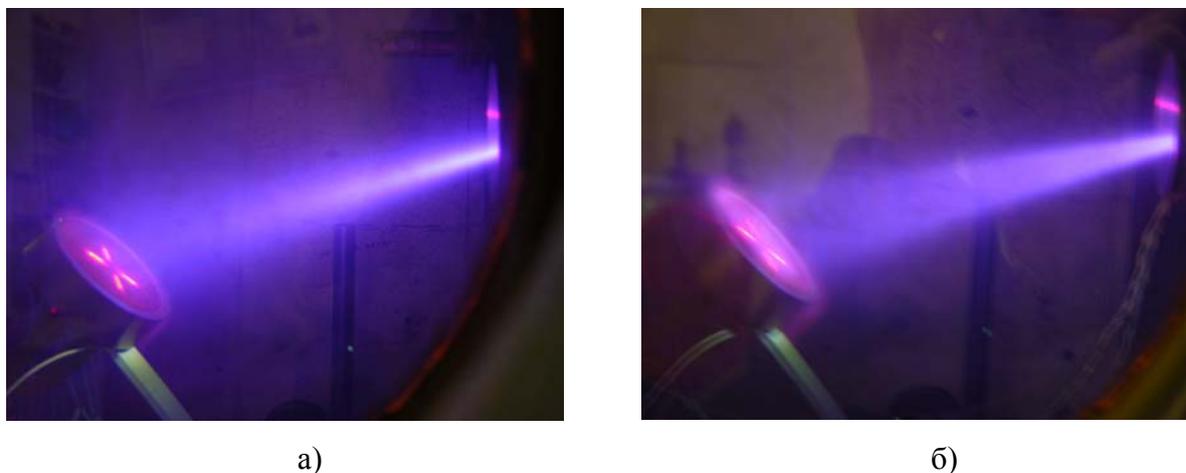


Рис. 5.3.6. Обработка тонкой пленки хитозана в ЭПП кислорода: а) – при нулевом потенциале на подложке; б) – при потенциале на подложке –300 В.

Поверхность пленок до и после обработки в ЭПП кислорода с различным потенциалом, поданным на подложку, была охарактеризована с помощью SEM-микроскопии. При этом было установлено, что в результате пучково-плазменного воздействия при нулевом потенциале и при потенциале –300 В происходит значительное сглаживание рельефа поверхности пленки по сравнению с необработанным образцом и образцом, обработанным в ЭПП при потенциале +300 В (Рис. 5.3.7). Так как при подаче отрицательного потенциала на подложку в область плазмохимических реакций, происходящих на поверхности пленки, из реакционного объема привлекаются дополнительные положительно заряженные химически-активные частицы ЭПП (например, в случае ЭПП кислорода ими могут быть O^+ , O_2^+ , O_4^+), то вероятно, что эти частицы наряду с нейтральными компонентами (O , $O_2(a)$) играют определенную роль в изменении структуры и свойств пленок полисахаридов. Однако, определяющий вклад в интегральный эффект модификации вносят электронейтральные частицы плазмы.

Дополнительных изменений в структуре поверхности образца, обработанного в ЭПП при подаче положительного потенциала +300 В, по сравнению с образцом, обработанным при нулевом потенциале подложки, обнаружено не было. Этот факт свидетельствует о том, что электроны с энергиями <300 эВ не оказывают заметного влияния на физико-химические процессы, протекающие в пленке исследованного полисахарида.

Также был исследован вклад в деструкцию и модификацию полисахаридов высокоэнергетических электронов ЭП, имеющих энергию 30 кэВ. Для этого тонкие пленки хитозана ($M_v = 500$ кДа), помещенные на водоохлаждаемой подложке в высоковакуумную камеру ($P = 10^{-5}$ Торр) обрабатывали в ЭП, сканированном в режиме концентрических окружностей, в течение 3 мин. Температура хитозановых пленок контролировалась в течение всего времени обработки и не превышала 70°C .

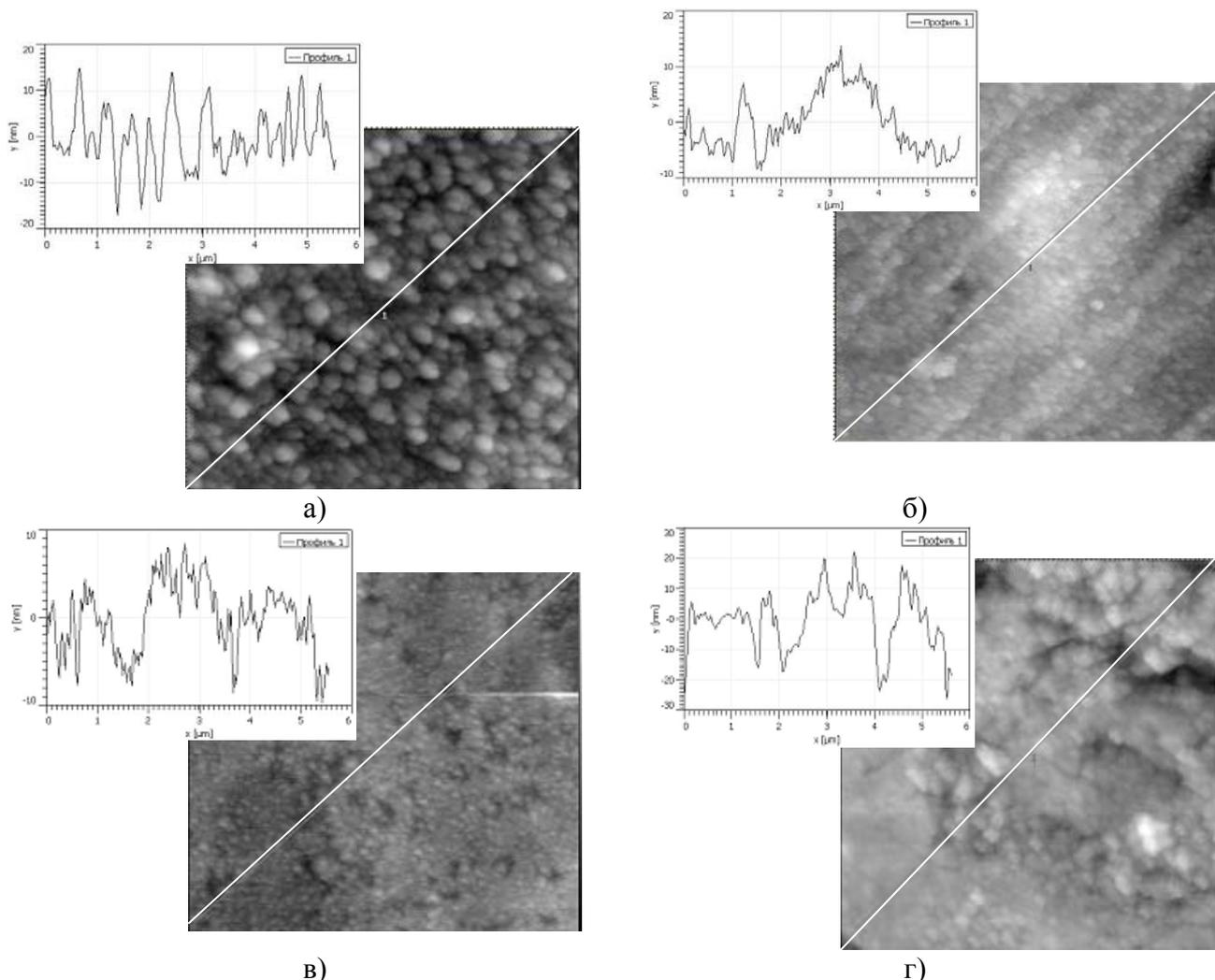


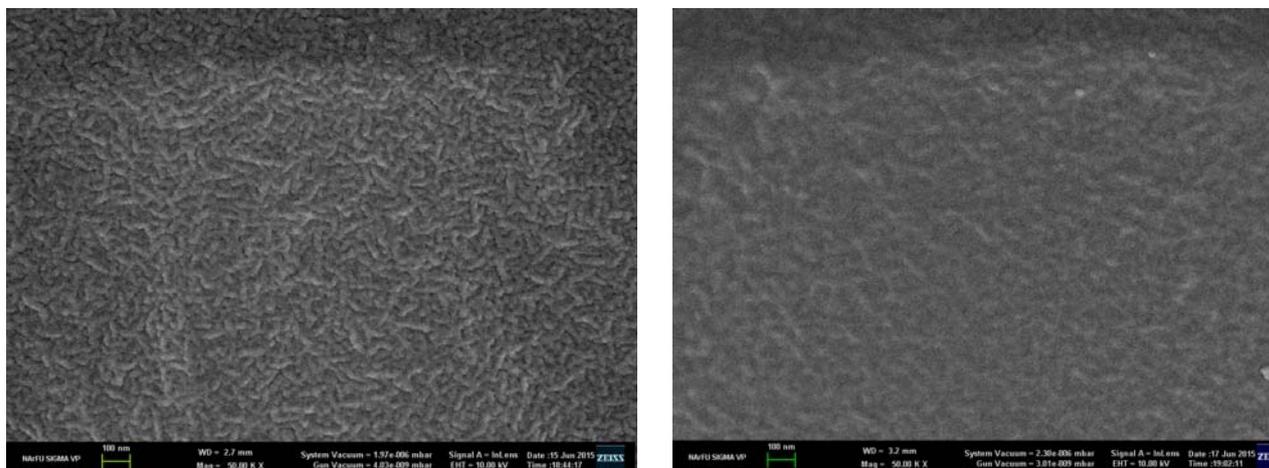
Рис. 5.3.7. SEM-фотографии пленок хитозана, обработанных в различных условиях: а) – исходный образец, б) – образец, обработанный в ЭПП кислорода в течение 2 мин без подачи потенциала на подложку, в) – образец, обработанный в ЭПП кислорода в течение 2 мин с потенциалом на подложке -300 В, г) – образец, обработанный в ЭПП кислорода в течение 2 мин с потенциалом на подложке $+300$ В.

Остальные условия обработки: $U = 30$ кВ, $I_b = 1,5$ мА, $P_m = 5$ Торр, $T_s = 60^\circ\text{C}$.

Размер поля 4×4 мкм.

Морфологию и химическую структуру поверхности после ЭП-воздействия исследовали с помощью SEM-микроскопии, EDS и ИК-спектрометрии. На рис. 5.3.8 показаны SEM-фотографии пленки хитозана до и после обработки быстрыми

электронами. После воздействия ЭП происходила сильная аморфизация и сглаживание рельефа поверхности пленки, свидетельствующие о деструкции биополимерных молекул, а сам образец становился хрупким.



а)

б)

Рис. 5.3.8. SEM-фотографии поверхности пленок хитозана до и после воздействия быстрых электронов (увеличение $\times 5000$): а) – исходный образец, б) – образец, обработанный электронами с энергией 30 кэВ в течение 3 мин

Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (Таблица 5.3.7) выявила двукратное снижение содержания азота и увеличение ($\sim 7\%$) содержания углерода после ЭП-воздействия по сравнению с необработанной хитозановой пленкой. Данный эффект был показан, например, в [5.3.1] при обработке полиметилметакрилата электронами с энергией 60 кэВ в высоком вакууме.

Таблица 5.3.7. Содержание элементов С, О и N (масс%) в пленках хитозана

Элемент	Необработанная хитозановая пленка	Хитозановая пленка, обработанная быстрыми электронами $\tau = 3$ мин	Хитозановая пленка, обработанная в ЭП кислорода $\tau = 5$ мин	Хитозановая пленка, обработанная в ЭП аргона $\tau = 5$ мин
С	44,54%	51,48%	39,81%	39,58%
О	31,04%	35,61%	47,53%	45,39%
N	24,41%	12,91%	12,66%	15,03%

В таблице 5.3.7 также приведено содержание элементов в образце, обработанном в ЭП кислорода и аргона. Важно отметить, что при воздействии плазмохимической компоненты на хитозан не происходит дальнейшего снижения содержания азота, однако наблюдается заметное увеличение концентрации кислорода, что говорит об окислительных процессах в материале пленки, стимулированных химически активными

частицами ЭПП. Обращает на себя внимание, что в отличие от ЭП при воздействии ЭПП в образце также снижается содержание углерода. Полученные данные позволяют заключить, что эффект быстрых электронов сводится главным образом к пиролизу полисахарида.

Таким образом, при пучково-плазменной обработке биополимеров на них действует вся совокупность факторов, реализующихся в ЭПП, основными из которых являются быстрые электроны ЭП, разнообразные химически активные частицы и вторичные электроны, возникающие в результате происходящих в ЭПП плазмохимических реакций. Гетерогенные процессы, инициируемые в биополимере перечисленными частицами, являются многоканальными, причем вклады отдельных каналов неаддитивны, хотя оказывают на структуру и свойства биополимера синергетическое действие. Определяющий вклад в эффект модификации вносят электронейтральные частицы плазмы.

Интенсивные радикальные и окислительные процессы, идущие по всем рассмотренным каналам, приводят к образованию в условиях ЭПП продуктов окислительной деструкции белков и полисахаридов и получению низкомолекулярных соединений, которые могут обладать биологической активностью. Степень деструкции и биологические свойства продуктов зависят от:

- типа плазмообразующего газа и содержания в нем кислорода,
- длительности обработки (см. главу V, разделы 5.1 и 5.2),
- интегрального энерговклада в вещество, которым в условиях ЭПП легко управлять, варьируя характеристики самого ЭП (U , I_b и j_b , режим сканирования), давление плазмообразующего газа P_m и длительность пучково-плазменного воздействия.

Это позволяет при мягких режимах воздействия (т.е. при малых мощностях энерговклада) накапливать значительные дозы облучения биополимеров всеми упомянутыми выше частицами и излучениями, что, в свою очередь, дает возможность не только повысить однородность плазмохимической модификации, но и избежать нежелательной деструкции биомолекул в результате непосредственного действия на них быстрых электронов и выделяющегося при этом тепла.

Обобщая результаты, изложенные в настоящей главе, можно заключить, что индуцированная пучково-плазменным воздействием на исследованные биополимеры биологическая активность продуктов определяется синтетическим параметром $G = q_i \tau$, который является произведением плотности потоков химически активных частиц ЭПП q_i ,

падающих на поверхность обрабатываемого материала, и времени контакта поверхности с плазмой τ , а также температурой поверхности T_s . При этом:

- Величины q_i и T_s могут быть вычислены с использованием верифицированных в настоящей работе методов компьютерного моделирования ЭПП, основанных на самосогласованном решении электронно-кинетических, молекулярно-кинетических, тепловых и электрофизических задач с учетом плазмохимических превращений, происходящих в газе и твердом теле в неравновесных условиях.
- Параметры, характеризующие биологическую активность продуктов и их выход, зависят от параметра G пороговым образом: по мере увеличения G выход биоактивных продуктов сначала слабо возрастает; при достижении некоторого порогового значения G эффект резко усиливается, после чего выход биоактивных продуктов перестает расти.
- Когда параметр G значительно превышает пороговое значение (например, при длительной обработке), может наблюдаться снижение биологической активности целевых продуктов и появление нежелательных побочных продуктов.

ГЛАВА VI. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ЭПП-СТИМУЛИРОВАННОГО СИНТЕЗА БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ И НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

В настоящее время одним из наиболее развивающихся в мире технологических направлений является создание гибридных материалов и покрытий, объединяющих в своей молекулярной матрице компоненты как минимум двух индивидуальных составляющих неорганического, органического или биоорганического происхождения, характер химического взаимодействия между которыми варьируется от сильных ковалентных связей до слабых межмолекулярных ван-дер-ваальсовых взаимодействий. При этом формируется определенная пространственная структура, отличающаяся от структур исходных реагентов, но часто наследующая определенные мотивы и функции исходных структур или обладающая своими специфическими свойствами.

Гибридные материалы и покрытия, сочетающие в своем составе неорганические и органические/биоорганические компоненты и обладающие за счет этого уникальными свойствами (повышенной прочностью, устойчивостью к коррозии, био- и гемосовместимостью, способностью к дозированному высвобождению активного вещества в кровь и межклеточное пространство и т.д.), приобретают все более широкое применение для решения различных медицинских, фармакологических и биотехнологических задач. Гибридные материалы, содержащие в своей структуре углеродные компоненты (нанотрубки, графен) и активные биомолекулы (в том числе пептиды, белки и олиго- и полисахариды) также являются перспективной основой для создания высокочувствительных фото-, хемо- и биосенсоров для ранней диагностики заболеваний, химического анализа и детекции токсических веществ.

В данной главе рассматриваются подходы к получению гибридных материалов и биосовместимых покрытий в ЭПП и гибридной плазме.

6.1. ЭПП-стимулированный синтез оксидных покрытий на поверхности металлических материалов и изделий

В качестве модельного эксперимента для экспериментального исследования плазмохимического получения биосовместимых покрытий был выбран ЭПП-стимулированный синтез оксидных покрытий на поверхности металлических материалов, а именно на поверхности титановых сплавов. Подобный выбор был обусловлен тем, что титановые сплавы часто используются для производства дентальных и костных препаратов, вследствие их приемлемой биосовместимости с тканями организма, а также

благодаря их способности уменьшать адгезию тромбоцитов крови к поверхности сосудистых стентов и искусственных сердечных клапанов.

Установлено, что биологическая активность титановых материалов и имплантатов связана с формированием на их поверхности тонкого слоя оксида титана (IV). Однако при контакте с внутренней средой живого организма пленка TiO_2 может подвергаться коррозии, что провоцирует воспалительные и аллергические реакции и отторжение имплантата. Таким образом, для повышения биосовместимости титановых материалов необходимо увеличить толщину оксидного слоя, а также улучшить характеристики его микрорельефа.

Возможность синтеза оксидных покрытий на титановых поверхностях в ЭПП и физико-химические процессы, лежащие в основе плазмохимического синтеза оксидов, были исследованы на следующих типах образцов:

- Пластины из титанового сплава ВТ1-0 толщиной 2 мм, с пазами шириной 1 и глубиной 1,5 мм, фрезерованными в двух взаимно-перпендикулярных направлениях. Такие образцы использовались для отработки технологий синтеза биоактивных оксидных покрытий на наружной поверхности изделий сложной геометрии.
- Отрезки труб из сплавов ВТ1-00 с толщиной стенки 1,5 мм. Такие образцы использовались для отработки технологий синтеза биоактивных оксидных покрытий на внутренней поверхности стенок полых изделий и на стенках каналов с большим отношением длины к диаметру.
- Поверхности частиц полидисперсных порошков титана (полупродукты порошковой металлургии) с характерным размером 10-150 мкм. Плазменно-модифицированные порошки предполагается использовать как основу перспективных композиционных материалов и компонент биоактивных гибридных материалов.

Подготовка образцов к ЭПП-обработке описана в главе «Материалы и методы» (раздел 2.2).

Рис. 6.1.1а иллюстрирует схему эксперимента по синтезу покрытий из оксидов титана на плоских образцах, в плазме, возбуждаемой непрерывным ЭП в кислороде или водяном паре. Плоские образцы 6, подвергнутые предварительной механической и химической обработке, устанавливались в реакционной камере 5 экспериментальной установки перпендикулярно оси инжекции ЭП, на некотором расстоянии от выводного окна 4. Электромагнитная отклоняющая система 12, могла сканировать ЭП по осям x и y , таким образом, управлять пространственным распределением плотности

энерговыведения в реакционном объеме и температурой образца T_s , которая непрерывно контролировалась миниатюрным термосенсором 7. Дополнительно к термосенсору для измерения величины T_s использовался инфракрасный пирометр Optris LS (Optris GmbH, Германия).

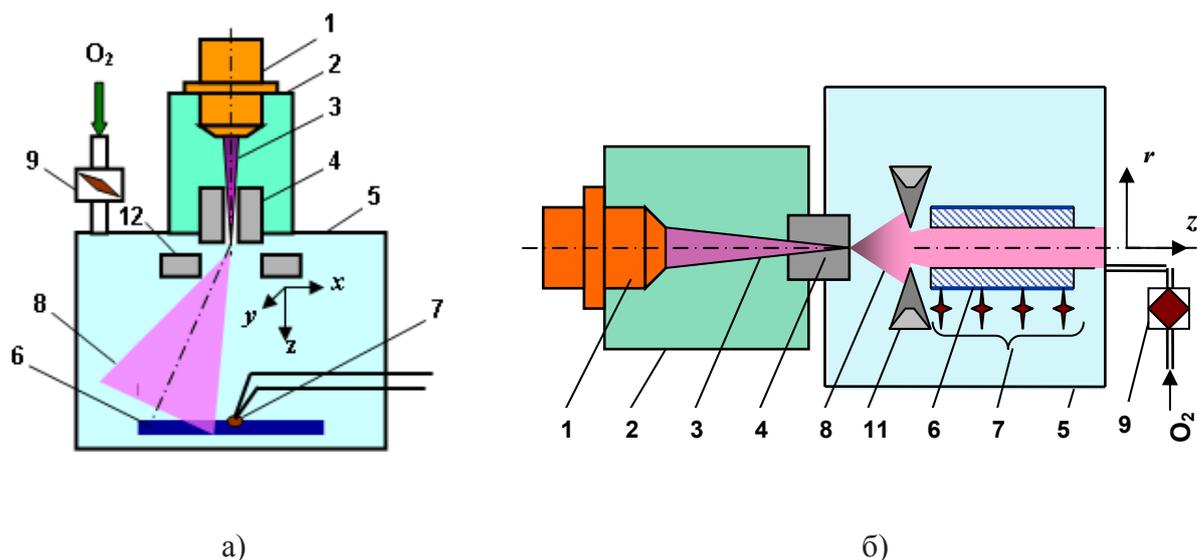


Рис. 6.1.1. Постановка экспериментов по ЭПП-стимулированному синтезу оксидных покрытий: а) плоские образцы, б) трубчатые образцы:

1 – электронная пушка, 2 – высоковакуумная камера, 3 – электронный пучок (ЭП), 4 – выводное окно, 5 – реакционная камера, 6 – образец, 7 – термосенсор (термосенсоры), 8 – облако ЭПП, 9 – натекатель газа, 11 – охлаждаемая водой диафрагма, 12 – сканирующая система.

Для того, чтобы избежать тепловых потерь и искажений измерений температуры вследствие теплопроводности материала держателей образцов, последние устанавливались в реакционной камере на специальных растяжках, изготовленных из проволоки 1Х18Н10Т (рис. 6.1.2а). На рис. 6.1.2б приведена фотография процесса ЭПП-обработки плоского образца.

ЭПП-стимулированный синтез оксидных покрытий на внутренней поверхности трубчатых образцов проводили по следующей процедуре (рис. 6.1.1б): в реакционной камере 5 размещался отрезок трубы 22×1,5 мм из сплава ВТ1-00 длиной $L = 100$ мм. Труба устанавливалась так, чтобы ее ось совпадала с направлением инжекции пучка. Образец помещался внутрь цилиндрического держателя, выполняющего одновременно функцию теплозащитного кожуха, который плотно охватывал наружную поверхность трубы. Перед входным отверстием трубы устанавливалась охлаждаемая проточной водой диафрагма 11,

которая обеспечивала локализацию плазмы внутри трубы. Для того, чтобы контролировать продольное распределение температуры стенки трубы в держатель были вмонтированы термосенсоры 7 (допустимое различие температур контрольных точек поверхности образца составляло ± 10 K), а также как и в случае плоских образцов использовался бесконтактный ИК-пирометр. На рис. 6.1.1б кожух не изображен, а фотография, представленная на рис. 6.1.3, наглядно иллюстрирует ход эксперимента при снятом кожухе.



а)



б)

Рис. 6.1.2. Обработка плоских образцов из сплава ВТ1-0 в ЭПП: а) образец в держателе, б) процесс плазмохимической обработки.

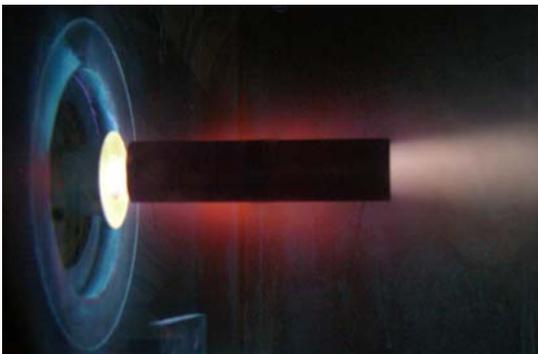


Рис. 6.1.3. Процесс синтеза оксидного слоя на внутренней поверхности трубы 22×1,5, изготовленной из сплава ВТ1-00.

Перед включением электронного пучка воздух из реакционной камеры откачивался до давления $\approx 10^{-2}$ Торр, после чего с помощью блока управления электронным пучком производилась установка рабочего режима генератора плазмы – выставлялись необходимые значения ускоряющего напряжения пушки и тока пучка. Затем реакционная камера заполнялась химически чистым кислородом или парами воды до давления 5 Торр, которое в ходе эксперимента автоматически поддерживалось постоянным или регулировалось таким образом, чтобы обеспечить постоянство температуры T_w вдоль

трубы. Часть образцов обрабатывалась в ЭПП заранее приготовленной смеси аргона и кислорода с соотношением парциальных давлений 3:2. Полное давление в рабочей камере устанавливалось и в дальнейшем поддерживалось равным 5 Торр.

Когда режимы работы высоковольтного источника питания, системы поддержания давления и блока управления пучком предустановлены, производилось включение электронной пушки, и с этого момента начинался процесс плазмохимической обработки образца. Расстояние между выводным окном и титановой подложкой (или входным торцом трубы), z_0 , определялось давлением газа в рабочей камере; параметры сканирования ЭП подбирались экспериментально таким образом, чтобы обеспечить равномерный нагрев обрабатываемой поверхности. Все образцы были обработаны в пределах $T_s = 250-750 \pm 5$ °С. Требуемая температура образца T_s достигалась регулировкой силы тока пучка в диапазоне $I_b = 9-25$ мА при фиксированном ускоряющем напряжении электронной пушки 30 кВ.

Время обработки τ варьировалась от 5 до 30 мин. В предварительных экспериментах было найдено оптимальное время обработки: для типичных режимов оно составило ≈ 15 мин. По истечении заданного времени ЭП выключался, а реакционная камера вновь откачивалась до $\approx 10^{-2}$ Торр. При этом давлении образец охлаждался до комнатной температуры, после чего камера заполнялась воздухом, и обработанный образец мог быть из нее извлечен. Обработанные в ЭПП образцы хранили в индивидуальных стеклянных контейнерах с притертыми крышками во избежание загрязнения их поверхности.

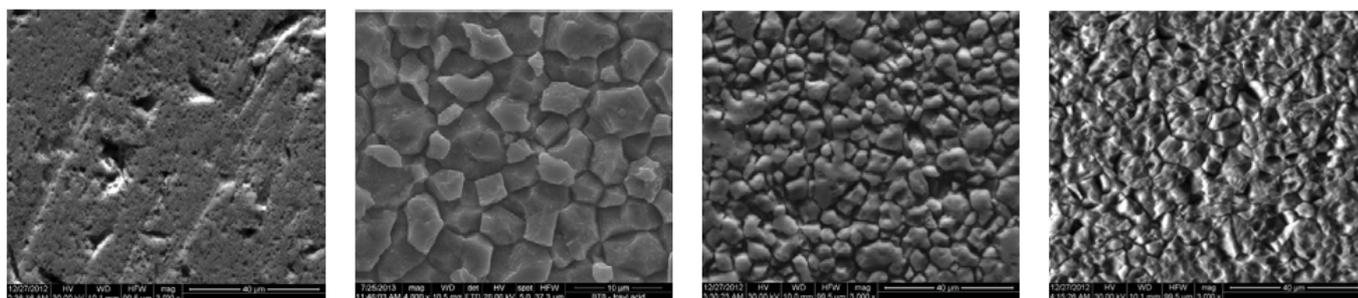
Для обеспечения равномерной обработки порошкообразных образцов использовалось такое же устройство, как и при обработке порошкообразных полисахаридов (см. раздел 4.1 и рис. 4.1.1).

6.2. Структура и состав оксидных покрытий, полученных на поверхности титановых сплавов ЭПП-стимулированным синтезом

На рис. 6.2.1 показаны сделанные при различных увеличениях фотографии поверхности плоского образца, на поверхности которого синтезирован оксидный слой. Плазмохимическая обработка титановых образцов увеличивала толщину пленки оксида титана на их поверхности по сравнению с образцами, подвергнутыми только химическому травлению в смеси концентрированных кислот.

Исследования обработанных и контрольных образцов показали, что структура и толщина полученной оксидной пленки зависела от условий ЭПП-стимулированного

синтеза, определяемых комбинацией плотности тока ЭП j_b (в конечном счете, интегральным током пучка I_b и амплитудой сканирования), давления плазмообразующего газа P_m и состава плазмообразующей среды. Этими же параметрами определяется температура, которая устанавливается в образце при достаточной длительности процесса обработки. Толщина оксида титана была наибольшей при ЭПП-обработке в течение 15 мин при температуре 500 °С, пленка состояла из гранул с характерным размером 10 мкм, причем гранулы были достаточно плотно упакованы. Пленка оксида титана на образце, обработанном в течение 15 мин при температуре 300 °С, также состояла из гранул с характерным размером 10 мкм, однако между гранулами имелись сильные трещины шириной порядка 1 мкм. На рис. 6.2.2 представлена фотография внутренней поверхности титановой трубы, обработанной в ЭПП кислорода.



а)

б)

в)

г)

Рис. 6.2.1. SEM-Фотографии поверхности плоских титановых образцов (увеличение $\times 2000$):

а) – исходный образец, б) – образец после кислотного травления, в) – образец после кислотного травления обработанный в ЭПП при 330 °С, г) образец после кислотного травления - обработанный образец в ЭПП при 550 °С

Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА.

На структуру образовавшегося слоя оксида титана также влиял состав плазмообразующей среды. Рентгеноструктурный анализ показал, что при обработке образцов в смеси аргон-кислород толщина оксидного слоя возрастает по сравнению с обработкой в плазме чистого кислорода. Вероятно, это связано с дополнительной плазменно-стимулированной очисткой поверхности тяжелыми ионами аргона.

На рис. 6.2.3 представлен типичный Оже-спектр внутренней поверхности трубы, обработанной в электронно-пучковой плазме кислорода при следующих условиях $E_b = 28$ кэВ, $I_b = 18$ мА, $P_m = 4,3$ Торр. Обработка велась в течение 5 минут, при этом температура образца колебалась в диапазоне 410-420 °С. Расшифровка спектра показала, что в

поверхностном слое образца идентифицируются следующие элементы: кислород, титан, азот и углерод. Присутствие в составе слоя последних двух элементов, по-видимому, объясняется случайными органическими загрязнениями исследуемой поверхности и наличием примесей в плазме кислорода.



Рис. 6.2.2. SEM-Фотографии внутренней поверхности титановой трубы, обработанной в электронно-пучковой плазме кислорода: а) увеличение $\times 5000$, б) увеличение $\times 50\,000$
Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА

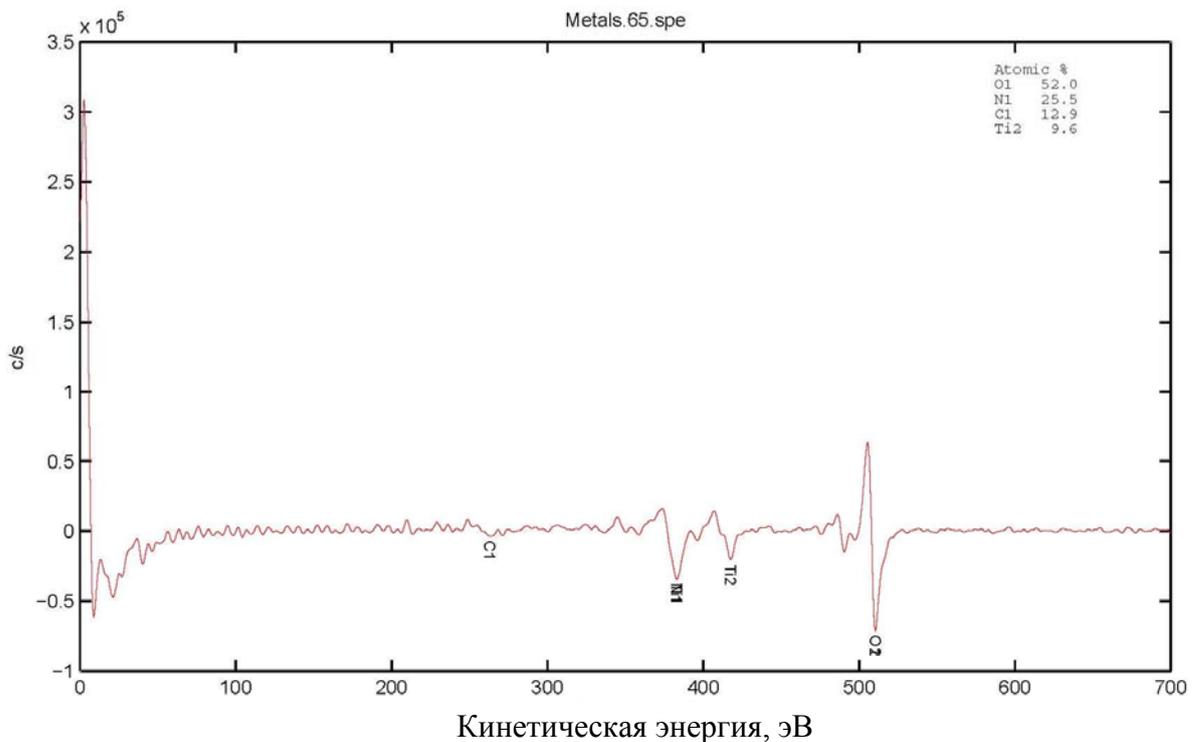


Рис. 6.2.3. Типичный оже-спектр фрагмента поверхности образца, обработанного в ЭПП кислорода

Образец: труба $22 \times 1,5$, сплав ВТ1-00. Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА

Пики, соответствующие титану и кислороду, наблюдались в спектрах энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии всех исследованных плоских образцов. Пик кислорода был самым значительным в образце титана, обработанном в

ЭПП-кислорода при 550 °С с предварительным кислотным травлением (рис. 6.2.4). Это дает основания предположить, что слой оксида на этом образце имел самую большую толщину. Следы углерода и алюминия, выявленные на спектрах, являются следствием применения абразивной пасты для предварительной механической полировки.

Рис. 6.2.5 иллюстрирует результаты рентгеноструктурного анализа внутренней поверхности трубы после ее пучково-плазменной обработки и показывает, что в поверхностном слое образца присутствуют TiO_2 (рутил, $P4_2/mmm$, $a=0,4593$ нм; $c=0,2959$ нм; $c/a=0,6442$) и $\alpha\text{-Ti}$ (титан, $P6_3/mmc$, $a=0,2950$ нм; $c=0,4682$ нм; $c/a=1,587$). Сравнивались дифрактограммы образцов, обработанных в двух режимах, одинаковых по давлению кислорода ($P = 4,3 \pm 0,1$ Торр) и длительности обработки ($\tau = 5$ мин), но значительно отличающихся по мощности электронного пучка ($I_b = 18$ мА и 9 мА при одном и том же ускоряющем напряжении электронной пушки 28 кВ). В первом режиме установившаяся температура поверхности была 415 ± 5 °С, а во втором – 275 ± 5 °С. Было установлено, что дифрактограммы качественно не отличаются, но относительно пониженное содержание диоксида титана в образце, обработанном при 415 ± 5 °С, по сравнению с образцом, обработанным при 275 ± 5 °С, свидетельствует о меньшей толщине окисленного слоя, синтезированного при пониженной температуре T_w .

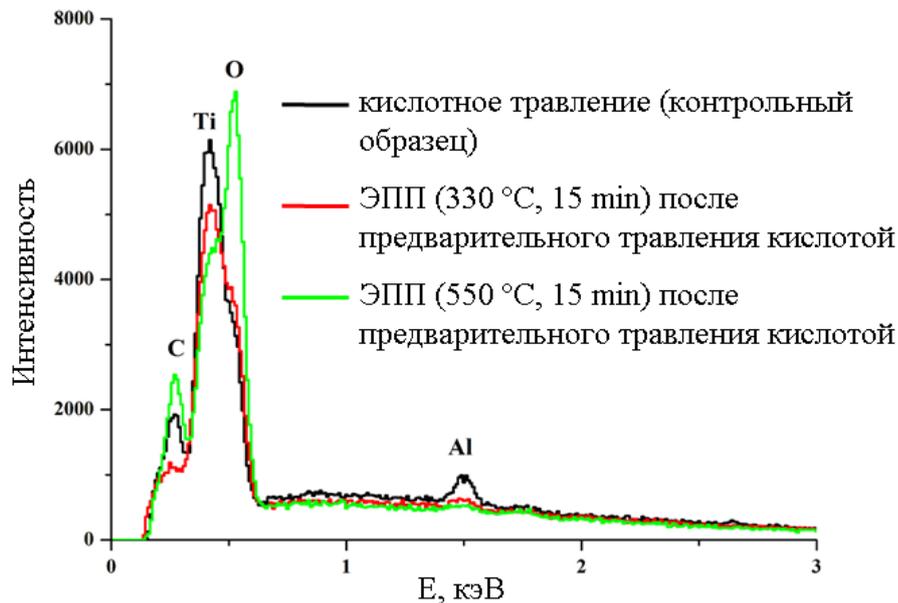


Рис. 6.2.4. EDS-спектры плоских образцов титана: образец после кислотного травления (черная линия); образец после кислотного травления и ЭПП-обработки при 330 °С (красная линия); образец после кислотного травления, обработанный в ЭПП при 550 °С (зеленая линия).

Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА

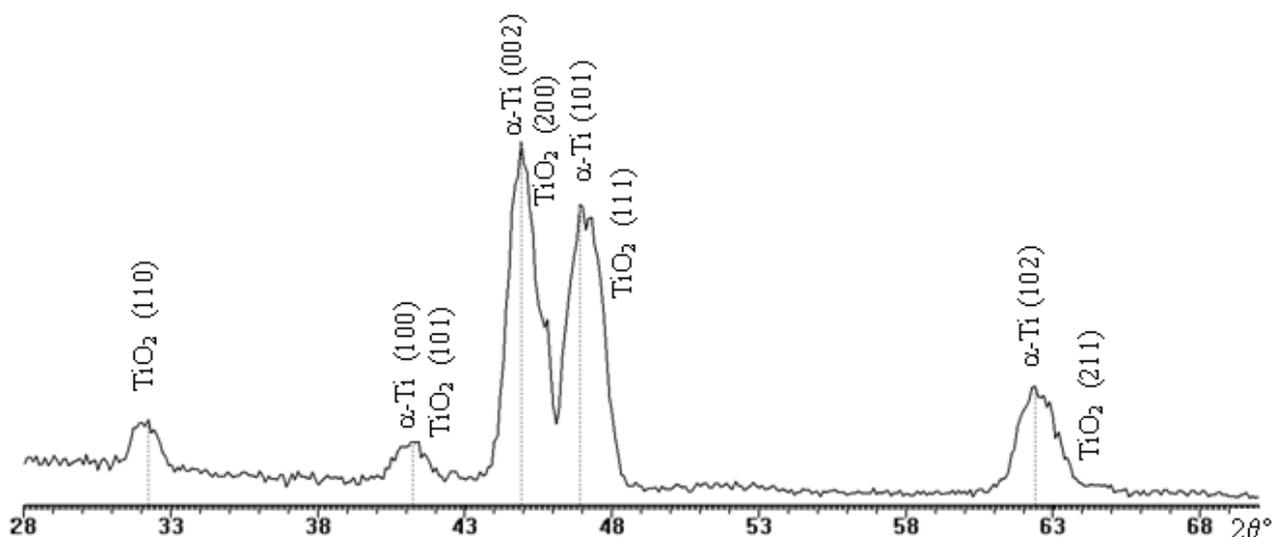


Рис. 6.2.5. Типичная дифрактограмма фрагмента поверхности образца, обработанного в ЭПП кислорода. Образец: труба $22 \times 1,5$, сплав ВТ1-00. Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА

Таким образом, толщина полученного оксидного слоя как на внутренней поверхности трубы, так и на поверхности плоских образцов зависели от температуры образца и от интенсивности потоков химически активных частиц ЭПП, взаимодействующих с поверхностью титана.

Формирование на поверхности плоских образцов слоя оксида титана (IV), преимущественно в форме рутила, было показано при ИК-Фурье спектроскопии отражения-поглощения (рис. 6.2.6). Полоса поглощения в области 826 см^{-1} наблюдается для кривых 2, 3 и 4 и характеризует наличие диоксида титана (TiO_2) в кристаллической структуре рутила.

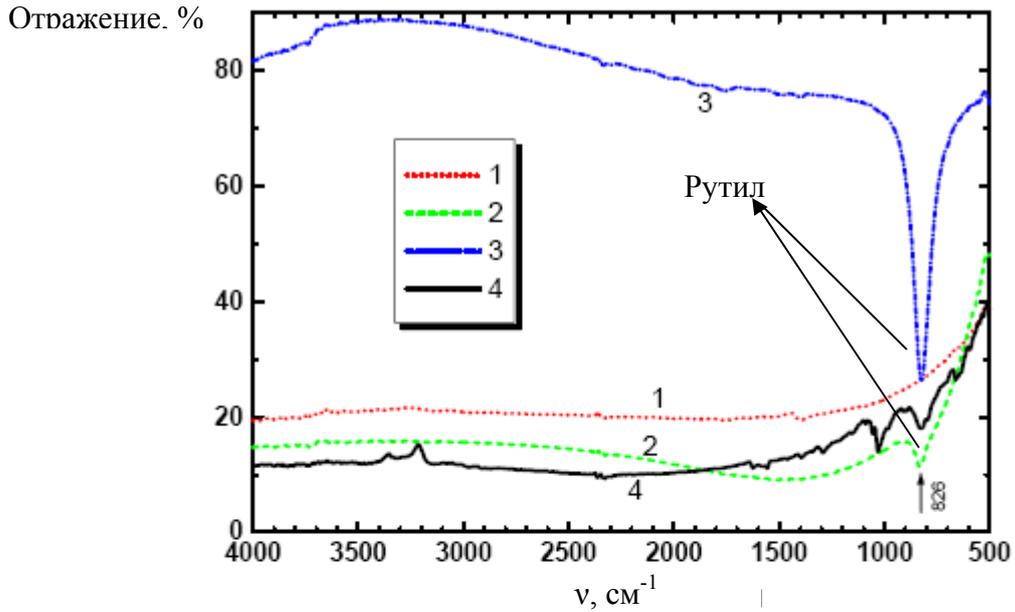
Максимальная интенсивность полосы 826 см^{-1} наблюдается только для титанового образца, подвергнутого ЭПП-обработке (кривая 3 на рис. 6.2.6), в то время как данная группа полос отсутствует в спектре титановой подложки подвергавшейся только кислотному травлению (кривая 1 на рис. 6.2.6). На основании этих результатов можно сделать вывод, что в формировании пленки оксида титана с кристаллической структурой рутила определяющую роль играют плазмохимические процессы, связанные с воздействием химически активных частиц ЭПП кислорода на поверхность титана.

Для титановой подложки, подвергнутой кислотному травлению (кривые 1, 2 на рис. 6.2.6), базовая линия отражения значительно меньше, чем для образца без травления в кислотной среде (кривая 3 на рис. 6.2.6). Этот эффект может быть связан со значительно меньшей степенью шероховатости поверхности образца без кислотного травления, чем у

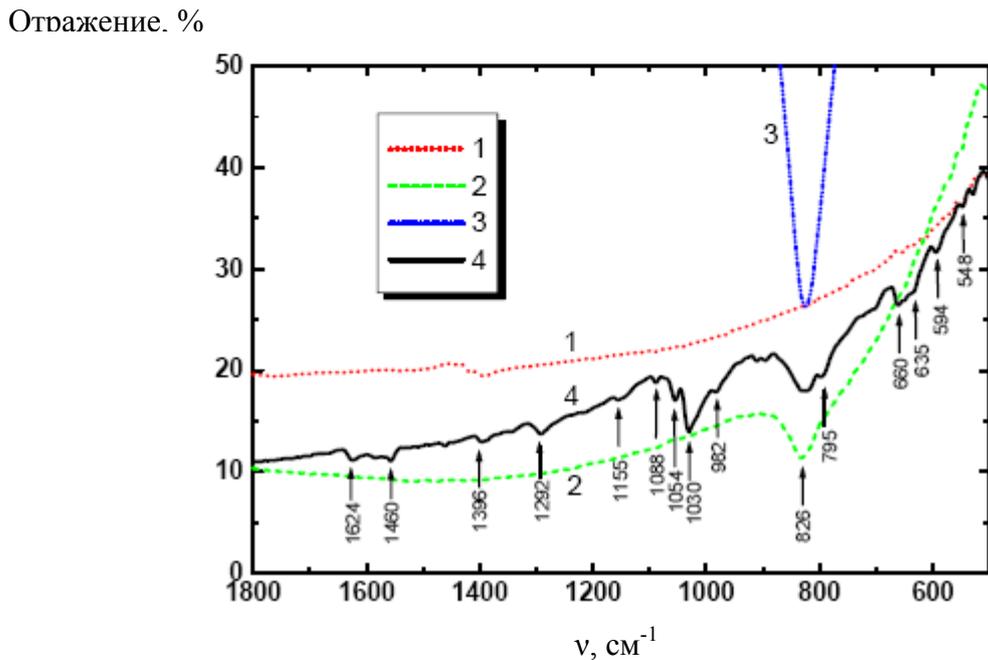
образцов, подвергшихся воздействию кислотами из-за углового рассеяния ИК-излучения на шероховатостях поверхности. Этот вывод согласуется с результатами, полученными с помощью сканирующей электронной микроскопии.

При рамановской спектроскопии плоского образца, обработанного в ЭПП смеси аргона и кислорода, были выявлены линии с рамановским сдвигом 234, 444 и 610 см^{-1} , которые соответствуют оксиду титана (IV) в кристаллической форме рутил (рис. 6.2.7). Аналогичные линии наблюдались и рамановских спектрах образцов, полученных в ЭПП кислорода при $T_s = 330\text{ }^\circ\text{C}$ и $550\text{ }^\circ\text{C}$, однако их интенсивность была значительно ниже, что свидетельствует о возрастании толщины слоя TiO_2 при обработке в ЭПП смеси аргона и кислорода.

На рис. 6.2.8 показана поверхность частиц титанового порошка до и после обработки в ЭПП кислорода. В результате ЭПП-воздействия поверхность порошка приобретала характерный рельеф за счет плазмохимического травления. С помощью Оже-спектроскопии было показано снижение содержания углерода, азота и других примесей после ЭПП-обработки и образование оксидов титана.



а)



б)

Рис. 6.2.6. ИК-Фурье спектры отражения-поглощения подложек титана, обработанных различными способами. Образец после кислотного травления (кривая 1), образец после кислотного травления и ЭПП-обработки при 550 °С (кривая 2), образец после ЭПП-обработки при 550 °С без предварительного кислотного травления (кривая 3), образец после кислотного травления, ЭПП-обработки при 550 °С и инкубирования в SBF в течение двух недель (кривая 4).

Условия ЭПП-обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА. Спектры в диапазоне волновых чисел (ν) 500-4000 cm^{-1} (а) и фрагменты в диапазоне 500-1800 cm^{-1} (б).

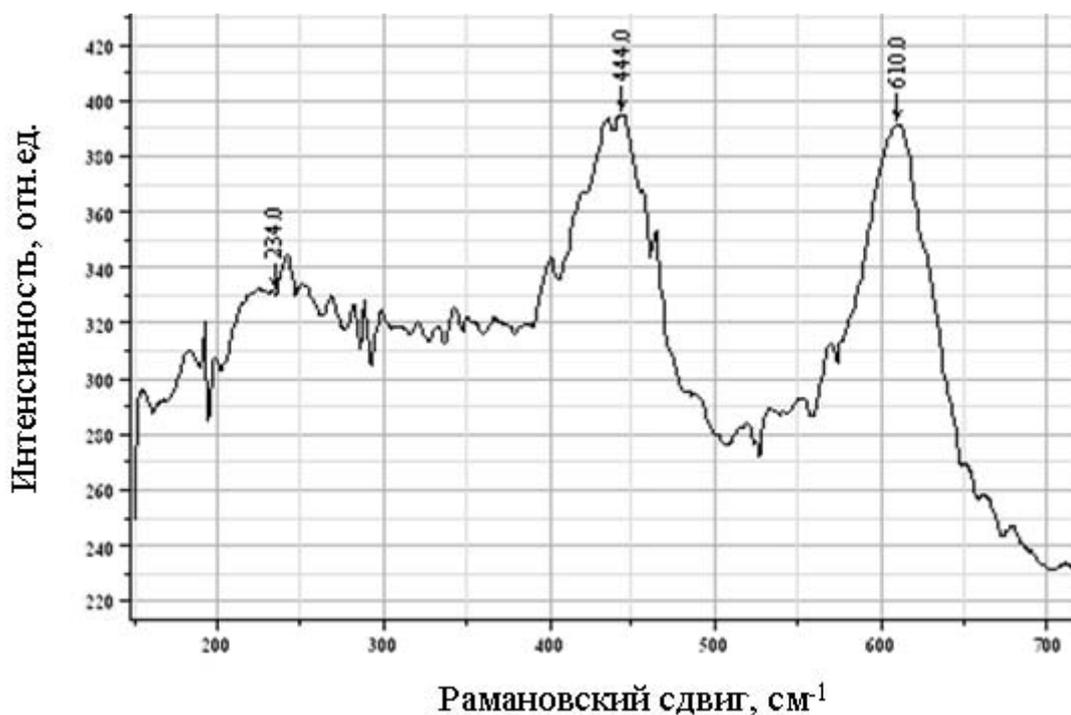
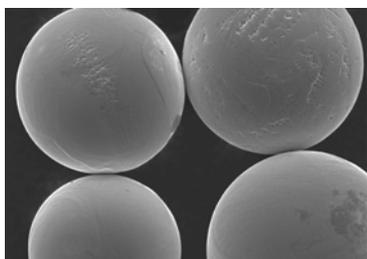
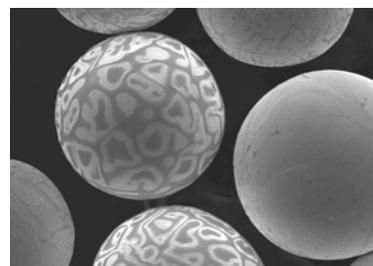


Рис. 6.2.7. Рамановский спектр слоя TiO_2 , синтезированного на поверхности плоского титанового образца в ЭПП смеси аргона и кислорода.

Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $T_s = 550$ °С



а)



б)

Рис. 6.2.8. Поверхность частиц титанового порошка: а) до ЭПП-обработки и б) после обработки в ЭПП кислорода в течение 30 мин при $P_m = 5$ Торр (увеличение $\times 300$).

6.3. Гидрофильные свойства и биосовместимость оксидных покрытий, полученных на поверхности титановых сплавов ЭПП-стимулированным синтезом

Гидрофильно-гидрофобные свойства поверхности образцов являются важнейшим фактором, определяющим биологические свойства материала (по крайней мере, применительно к задачам повышения биосовместимости костных и дентальных имплантатов), поскольку именно они во многом определяют степень контакта с

межклеточной жидкостью, формирование гидроксиапатита (основного неорганического компонента костной ткани), способствуют адгезии и пролиферации остеогенных клеток.

Гидрофильность покрытий, синтезированных в различных условиях, была охарактеризована путем измерения краевого угла смачивания для дистиллированной воды. Результаты измерения контактного угла смачивания для воды на плоских образцах титана до и после ЭПП-обработки, приведены в таблице 6.3.1. Исследования показали, что образцы после кислотного травления и образцы с плазмохимически синтезированным TiO_2 -покрытием были более гидрофильными, чем необработанный титан. Эффект был стабильным в течение 48 часов, после чего наблюдалась деградация смачиваемости. После этого периода регистрировалось незначительное ухудшение гидрофильности образцов с плазмохимически синтезированным TiO_2 , однако у образцов, подвергнутых ЭПП-обработке, полного исчезновения гидрофильности не происходило. В тоже время гидрофильность образцов, подвергнутых только кислотному травлению, через 21 день стала одинаковой с необработанной титановой подложкой.

Таким образом, посредством ЭПП-стимулированного синтеза может быть получено покрытие из оксида титана в кристаллической форме рутила, обладающее высокой гидрофильностью. Обработка в ЭПП также замедляет деградацию смачиваемости, что подтверждает возможность применения пучково-плазменных технологий для получения оксидных покрытий с высокой стабильностью гидрофильных свойств.

Для характеристики биологической активности TiO_2 -покрытий, полученных в различных условиях ЭПП-обработки, также анализировали их способность перципитировать на своей поверхности гидроксиапатит из среды, имитирующей состав внутриклеточной жидкости. Морфология гидроксиапатита, осаждающегося на поверхности титановых образцов после их инкубации образцов в SBF, показана на рис. 6.3.1. Все изученные образцы преципитировали гидроксиапатит из SBF на своей поверхности. Сформировавшийся на всех образцах слой гидроксиапатита представлял собой агломераты, состоящие из частиц круглой формы диаметром 2-5 мкм. Однако гидроксиапатит на контрольном образце титана состоял из разрозненных дискретных кластеров. Технология плазменно-стимулированного синтеза TiO_2 позволила значительно улучшить равномерность преципитации гидроксиапатита, увеличить толщину гидроксиапатитного слоя и повысить степень его адгезии к титановой подложке, что было выявлено с помощью рентгеноструктурного анализа (рис. 6.3.1в).

Таблица 6.3.1. Контактный угол смачивания для воды поверхности образцов из сплава титана VT1-0, обработанных различными способами

Время после обработки, дни	Образец			
	Контрольный образец (полированный титан)	Образец после кислотного травления	Образец после кислотного травления и ЭПП-обработки при 550 °С	Образец после ЭПП-обработки при 550 °С без кислотного травления
0	66,0±2,5	21,1±7,6 *	6,9±1,2 *	8,8±1,6 *
1	69,8±2,1	19,3±4,2 *	9,0±1,5 *	15,7±1,9 *
2	67,8±1,5	20,3±5,3 *	17,5±2,3 *	16,4±2,1 *
7	70,0±2,7	29,2±4,9 *	22,8±0,5 *	18,0±1,5 *
21	66,7±1,8	59,3±2,4	32,5±4,2 *·**	20,9±1,5 *·**

Данные представлены в виде среднее ± стандартное отклонение

* $p < 0,05$ достоверно по отношению к контрольному образцу

** $p < 0,05$ достоверно по отношению к образцу после кислотного травления

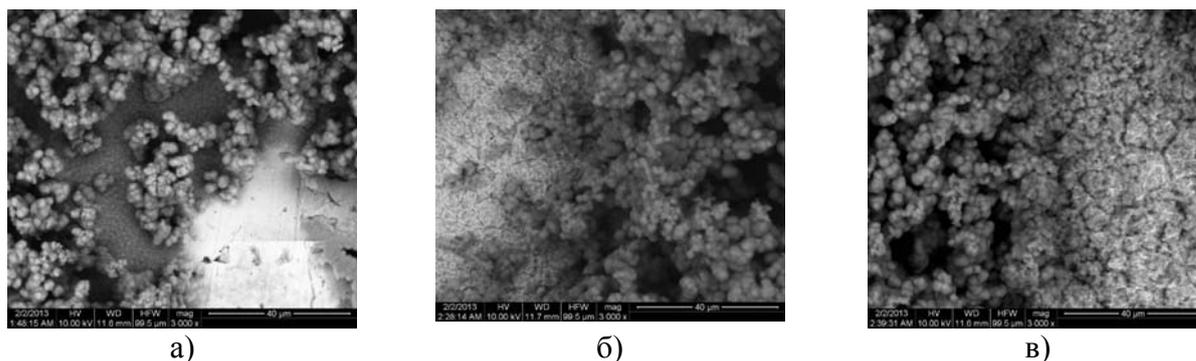
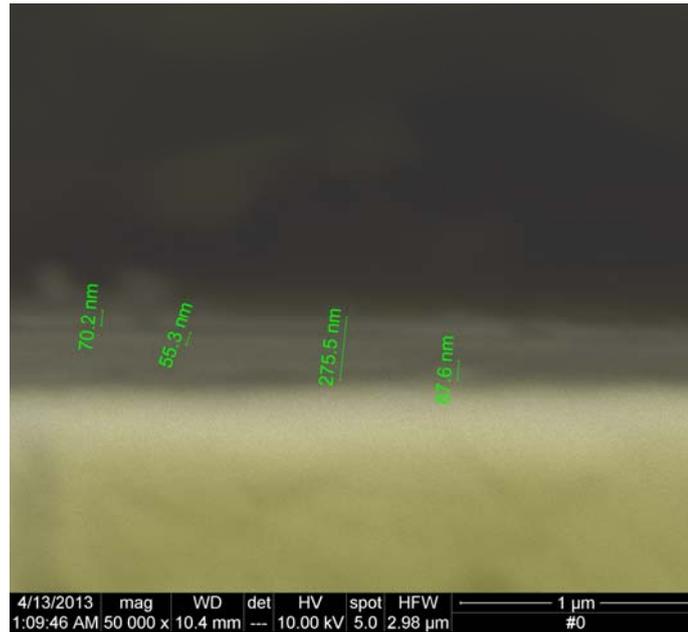


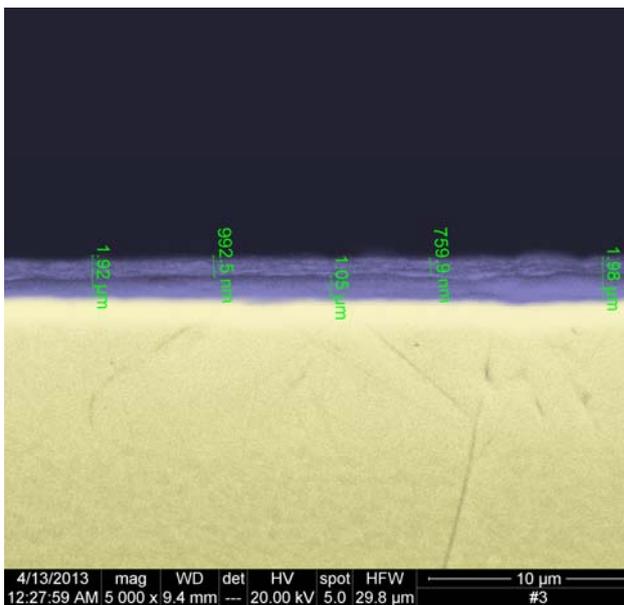
Рис. 6.3.1. Образование гидроксиапатита на TiO_2 -покрытиях, синтезированных в ЭПП кислорода: а) контрольный образец, б) образец, обработанный в ЭПП при 330 °С, в) образец, обработанный в ЭПП при 550 °С.

Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА

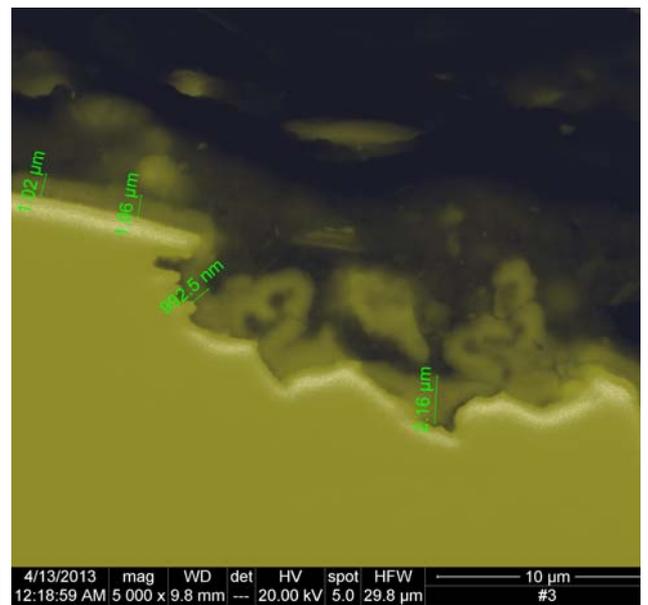
Слой гидроксиапатита наибольшей толщины и равномерности формировался на поверхности образца, обработанного в ЭПП при 550 °С (предварительное кислотное травление). Осажденный гидроксиапатит формировал макропористые образования удлиненной формы, диаметром ~50-100 нм. Значительное число образований обнаруживало тенденцию к агломерации и образованию кластеров диаметром ~ 3 мкм.



а)



б)



в)

Рис. 6.3.2. SEM-фотографии продольных срезов плоских титановых образцов после их инкубирования в SBF в течение 2-х недель: а) контрольный образец после травления в смеси кислот (увеличение $\times 50\,000$), б) образец, обработанный в ЭПП кислорода без предварительного кислотного травления (увеличение $\times 5000$), в) образец, обработанный в ЭПП кислорода с предварительным кислотным травлением (увеличение $\times 5000$).

Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $T_s = 550$ °С

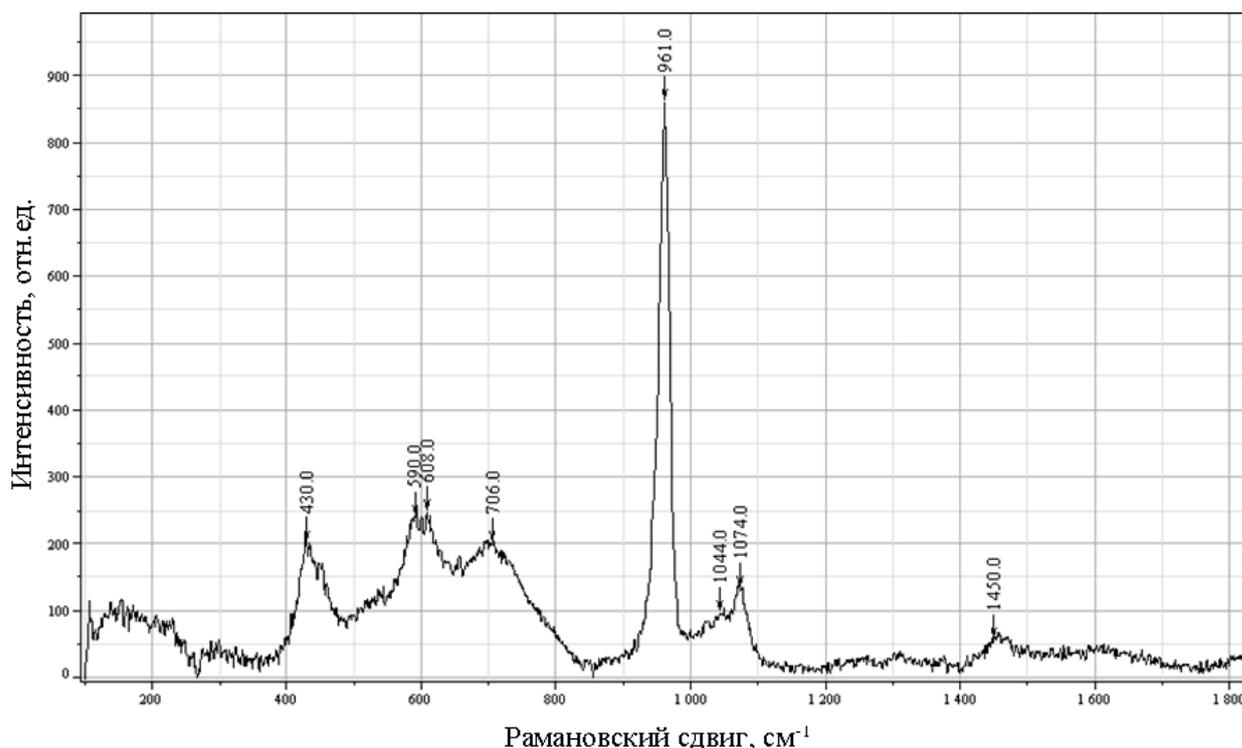


Рис. 6.3.3. Рамановский спектр слоя гидроксиапатита, преципитировавшего на поверхности TiO_2 -покрытия, полученного при обработке плоского образца из сплава ВТ1-0 в ЭПП кислорода.

Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $T_s = 550$ °С, образец без предварительного травления в смеси кислот; инкубирование в SBF после ЭПП-стимулированного синтеза TiO_2 в течение 2-х недель.

При выполнении SEM продольных срезов плоских титановых образцов была прямо измерена толщина слоя гидроксиапатита, преципитировавшего их на поверхности (рис. 6.3.2). При этом было показано, что слой гидроксиапатита, сформировавшийся на контрольном образце, подвергнутом только травлению в смеси кислот, имел толщину, не превышающую 100 нм. В тоже время ЭПП-обработка увеличивала толщину слоя гидроксиапатита на порядок: толщина слоя на таких образцах достигала 1 мкм. При этом предварительное травление образца в смеси кислот перед ЭПП-обработкой не приводило к усилению преципитации гидроксиапатита на его поверхности по сравнению с образцом обработанным только в ЭПП.

В ИК-спектре этого образца после инкубирования в SBF (кривая 4 на рисунке 6.2.6) наблюдается ряд характерных полос поглощения различных функциональных групп гидроксиапатита в волновом диапазоне 400-600 и 900-1200 cm^{-1} . Полосы с минимумами отражения на 468 , 487 , 502, 548 , 594 , 982 , 1030, 1054 , 1088 и 1155 cm^{-1} могут быть

связаны с валентным и деформационным колебаниям PO_4^{3-} -групп гидроксиапатита. Полосы при 655 и 660 см^{-1} можно отнести к колебаниям ОН-групп гидроксиапатита. Полосы при 1292, 1396, 1460, 1624 см^{-1} могут быть связаны с колебаниями CO_3^{2-} -групп.

Наличие кристаллического карбонизированного гидроксиапатита (характерного для зубной эмали и дентина) на поверхности TiO_2 -покрытия, полученного при обработке плоского титанового образца в ЭПП кислорода было подтверждено и с помощью спектроскопии комбинационного рассеивания света (рис. 6.3.3). На рамановских спектрах были идентифицированы характерные для гидроксиапатита линии, соответствующие симметричным валентным колебаниям $\nu_1(A_1)$ связей Р–О (961 см^{-1}), ассиметрическим деформационным колебаниям О–Р–О $\nu_2(E)$ и $\nu_4(F_2)$ (430 см^{-1} и 590 см^{-1} соответственно) фосфатных групп PO_4^{3-} , а также валентным и деформационным колебаниям групп CO_4^{3-} 1074 см^{-1} и 1044 см^{-1} и веерным колебаниям CH_2 (1450 см^{-1}).

Таким образом, результаты, приведенные в данном разделе диссертационной работы, показывают, что оптимизируя условия проведения плазмохимического синтеза (температуру в процессе обработки, определяемую комбинацией плотности тока ЭП j_b (в конечном счете, интегральным током пучка I_b и амплитудой сканирования) и давления плазмообразующего газа P_m , состав плазмообразующей среды и время пучково-плазменного воздействия) возможно получать TiO_2 -покрытия, обладающие улучшенными характеристиками поверхности (однородный микрорельеф, повышение гидрофильности), а также высокой биосовместимостью. Предлагаемые пучково-плазменные технологии могут быть использованы для производства дентальных, ортопедических и т.п. имплантатов.

6.4. ЭПП-стимулированный синтез покрытий на поверхности порошков и волокон биополимеров

Целью данной части работы являлось прямое доказательство применимости пучково-плазменных технологий осаждения различных веществ (в том числе и лекарственных) на поверхность частиц порошков термолабильных соединений, а также на волокнистые материалы и ткани.

В ходе экспериментов, описанных в разделе 4.3, рассматривалось формирование реакционной зоны и проблемы получения устойчивого и управляемого реакционного объема при введении в плазмообразующую среду порошков оксида алюминия (III) и углерода. Полученные в разделе 4.3 результаты использованы для разработки методов плазменно-стимулированного синтеза покрытий на поверхности порошков биополимеров: (БСА, лизоцима или хитозана), а также на поверхности хлопчатобумажных волокон и

тканей в гибридной плазме, генерируемой при инъекции ЭП в зону ВЧ-разряда (Рис. 6.4.1).

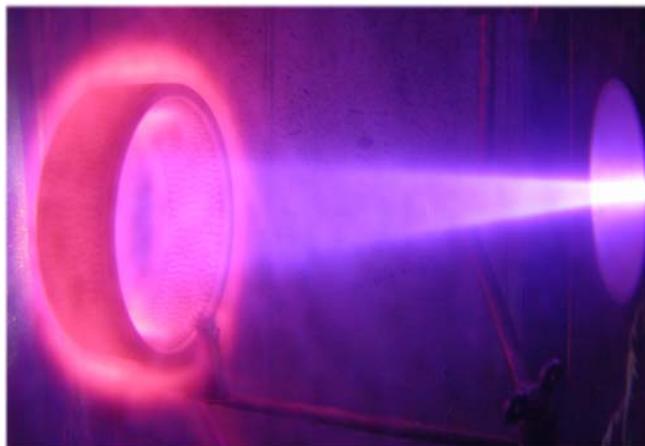


Рис. 6.4.1. Фотография гибридной плазмы.

Условия генерации: ВЧ-разряд с частотой 13,56 МГц, эффективная мощность 50 Вт, $I_b = 1,5$ мА, $U = 30$ кВ, плазмообразующий газ - кислород.

В работе использовали ВЧ-электрод специальной конструкции (Рис. 6.4.2а), конструктивно объединенный с цилиндрическим контейнером 1, на дно которого помещалась пьезокерамическая пластина 6 в форме диска для перемешивания порошков биополимеров в течение всего эксперимента. Порошок биополимера 2 массой ≈ 50 мг насыпали равномерным тонким слоем поверх пластины. Сверху контейнер накрывался металлической сеткой 3, являющейся обязательным элементом конструкции электрода. На электрод подавалось питание от генератора Genesis GHW-12 (MKS Instruments, Великобритания), с частотой 13,56 МГц и выходной мощностью, регулируемой в диапазоне от 0 до 50 Вт. Для создания радиального профиля электрического поля, удерживающего частицы в плазме, по периметру электрода накладывалось металлическое кольцо 5. Фотография порошка, находящегося на ВЧ-электроде, показана на рис. 6.4.2б.

В качестве модельных неорганических соединений использовали аморфный углерод, обладающий, как известно, гемостатическими свойствами [6.4.1], и серу, которая является одним из биогенных элементов. В качестве модельного лекарственного вещества для нанесения на поверхность порошка биополимера была выбрана ацетилсалициловая кислота, поскольку она широко используется в клинической практике для терапии и профилактики различных заболеваний.

Температуры плавления и испарения ацетилсалициловой кислоты практически одинаковы (около 140 °С), т.е. в экспериментах кислота вела себя как сублимирующее вещество. Низкие температуры фазовых переходов, небольшие величины теплоты

фазовых переходов и малое давление насыщенного пара (0,004 Па при 25 °С) также являются важными достоинствами ацетилсалициловой кислоты, как рабочего тела, поскольку испарение навески не приводило к изменению остаточного давления в рабочей камере, а мощность испаряющего импульса можно было сделать минимальной.

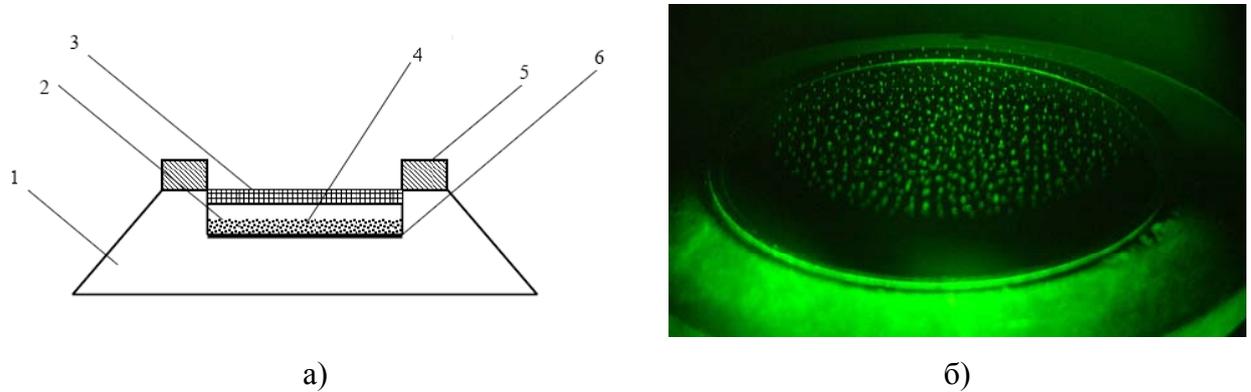


Рис. 6.4.2. Формирование подложки из частиц порошков биополимеров для последующего осаждения на их поверхность ацетилсалициловой кислоты и серы.

а) – Конструкция ВЧ-электрода: 1 – корпус электрода; 2 – порошок биоматериала; 3 – металлическая сетка; 4 – слой порошка биополимера; 5 – диэлектрическое формирующее кольцо; 6 – пьезокерамическая пластина.

б) – Фотография порошка БСА, находящегося на ВЧ-электрде.

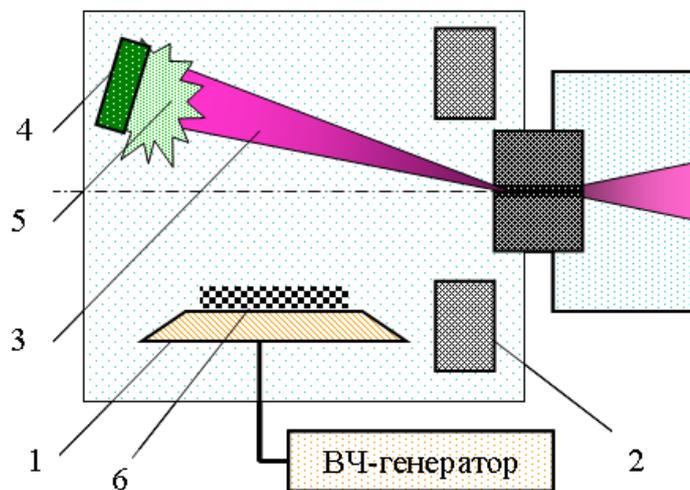


Рис. 6.4.3. Осаждение паров неорганических соединений и ацетилсалициловой кислоты на поверхность порошков биополимеров: 1 – ВЧ-электрод; 2 – отклоняющая система; 3 – ЭП; 4 – испаряемая мишень; 5 – облако пара; 6 – порошок биополимера.

Процесс нанесения покрытия иллюстрируется рисунком 6.4.3. Навеску неорганических соединений или ацетилсалициловой кислоты, массой не более 100 мкг, испаряли одиночными короткими импульсами ЭП. Мощность импульса ЭП подбиралась

таким образом, чтобы вся навеска могла быть испарена за один импульс. Оптимальные величины давления в реакционной камере P_m и мощности, вкладываемой в ВЧ-разряд были подобраны экспериментально. Для генерации плазмы использовались гелий (при давлении $<2,0$ Торр), кислород (при давлении $<0,5$ Торр) и воздух (при давлении $<1,0$ Торр). Регулировка энерговклада в разряд производилась либо за счет изменения выходной мощности генератора, либо подбором уровня согласования выхода ВЧ-генератора с нагрузкой, которой является электрод с окружающей его плазмой. При необходимости процесс осаждения мог многократно повторяться, для чего использовались импульсно-периодические пучки.

Конденсация паров неорганических соединений и ацетилсалициловой кислоты на поверхности частиц порошков белков или полисахаридов приводила к формированию на них покрытия. Таким же образом были получены покрытия из аморфного углерода и ацетилсалициловой кислоты на поверхности плоской подложки (полимерной пленки или марли).

Важной особенностью процесса является то, что абсорбция биоактивного вещества на поверхности частиц порошка биополимеров или ткани происходит в условиях активации плазмой газового разряда, как пара ацетилсалициловой кислоты, так и поверхности субстрата, что приводит к улучшению его гидрофильности и адгезионных свойств [6.4.2-6.4.5]. Особо следует отметить, что плазменной обработкой тканевой подложки в присутствии ЭП достигается не только ее активация, но и стерилизация.

Используя данный подход, можно создавать покрытия необходимой толщины и многослойные покрытия из различных веществ. Покрытия с большей толщиной или многослойные композиционные покрытия могут быть получены посредством испарения нескольких мишеней. Для этого мишени предварительно помещаются в реакционную камеру, и специальный механический манипулятор который, приводится во вращение шаговым электродвигателем. Поворачиваясь на заданный угол, манипулятор подводит к оси ЭП новую мишень взамен испаренной. Таким образом на тканевой основе были получены комбинированные покрытия из углерода и ацетилсалициловой кислоты.

Данная технология является перспективным способом получения гибридных материалов и покрытий с комбинированными биологическими и фармакологическими свойствами (например, антисептическими и гемостатическими), супрамолекулярных комплексов «белок-лекарственный агент» и «полисахарид-лекарственный агент», систем адресной доставки лекарственных препаратов, а также с возможностью их контролируемого высвобождения и пролонгированным фармакологическим эффектом.

6.5. Плазменно-стимулированный синтез композиционных биоактивных материалов на основе биополимеров

Задачей данной части работы было экспериментальное доказательство возможности получения комбинированных гемостатических материалов, содержащих в своем составе ковалентно связанные полисахаридную основу и белок, активирующий свертывание крови, в низкотемпературной неравновесной плазме. Эксперименты проводили, используя в качестве полисахаридной матрицы губку, изготовленную путем лиофилизации из 3% раствора альгината натрия, и белок плазмы крови тромбин, являющийся мощным естественным активатором процесса коагуляции. Саму процедуру плазменно-стимулированного синтеза проводили по следующей схеме:

1) Активация и функционализация поверхности полисахаридной губки посредством ее обработки в гибридной плазме аммиака ($P_m = 0,5$ Торр) или кислорода ($P_m = 0,5$ Торр) в течение 10 мин. Температуру в течение всего процесса обработки контролировали ИК-пирометром и поддерживали на уровне $T_s = 60$ °С, чтобы исключить тепловую деструкцию материала. Остальные условия плазмохимической обработки: частота 13,56 МГц, эффективная мощность ВЧ-разряда 50 Вт, ток ЭП варьировали в пределах $I_b = 0,4-0,6$ мА, $U = 30$ кэВ.

Данный этап позволил создать на поверхности полисахарида химически активные кислород- (гидроксильные –ОН, карбонильные –СОН и –С=О, карбоксильные –СООН) и азотсодержащие (например, –NH₂) группы (см. раздел 5.1.4), которые на следующем этапе являлись реакционными центрами связывания для тромбина. Дополнительным и важным эффектом плазмохимической активации поверхности губки являлось повышение ее гемостатической активности (см. раздел 5.2.4).

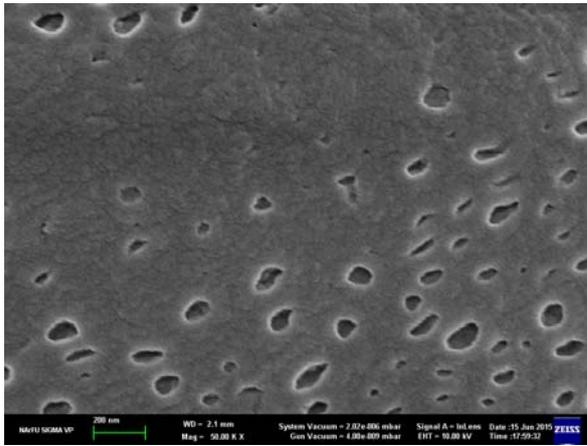
2) Нанесение на активированную поверхность губки раствора тромбина (активность 500 НИН), которое производили сразу же после ее извлечения из реакционной камеры.

3) Обработка губки с нанесенным тромбином в плазме ВЧ-разряда (частота 13,56 МГц, эффективная мощность 20 Вт, плазмообразующий газ – гелий при давлении $P_m = 0,5$ Торр) в течение 10 мин и $T_s = 30$ °С. Предполагалось, что данный этап будет способствовать формированию прочных ковалентных связей между активными группами функционализованного полисахарида и тромбина.

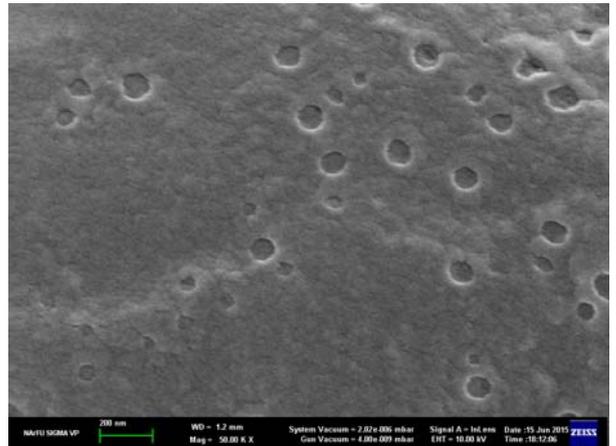
При анализе структуры и свойств полученных композиционных материалов контрольными образцами являлись: необработанная губка из 3% раствора альгината натрия, губка, обработанная в гибридной плазме (условия обработки были идентичны условиям этапа №1) и тромбин.



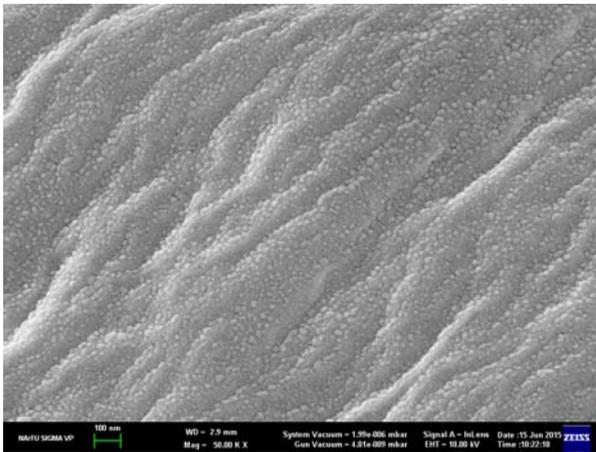
а)



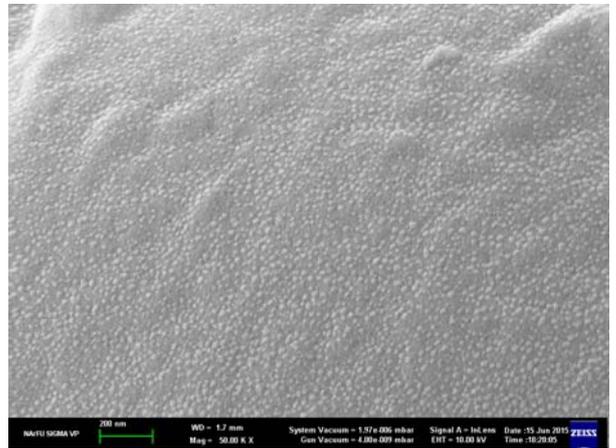
Б)



В)



Г)



Д)

Рис. 6.5.1. SEM-Фотографии поверхности губок из альгината натрия (увеличение $\times 5000$): а) необработанная контрольная губка, б) губка, обработанная в кислородной гибридной плазме, в) губка, обработанная в гибридной плазме аммиака, в) губка, обработанная в кислородной гибридной плазме, после нанесения тромбина и обработки в ВЧ-разряде гелия, д) - губка, обработанная в гибридной плазме аммиака, после нанесения тромбина и обработки в ВЧ-разряде

Поверхность образцов характеризовали с помощью SEM-микроскопии, полученные фотографии представлены на рис. 6.5.1. В результате обработки в гибридной плазме как в кислородной так и аммиачной плазмообразующей среде увеличивается шероховатость поверхности и возрастает пористость губки – образуются углубления с характерным размером 50-100 нм. После нанесения тромбина и повторной обработки образцов в ВЧ-разряде гелия на поверхности материала обнаруживается характерная зернистость, возникающая за счет связывания частиц белка.

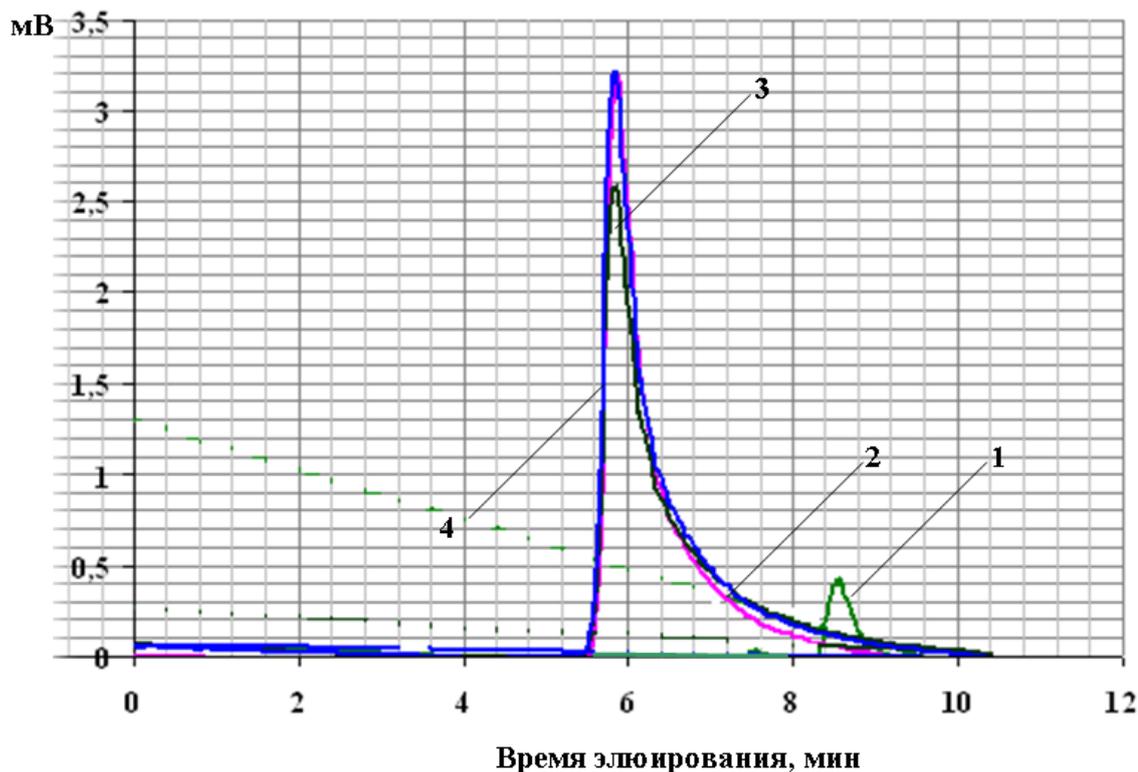


Рис. 6.5.2. Хроматограммы индивидуальных тромбина и альгината натрия и связанного с тромбином альгината натрия, полученного в гибридной плазме: 1 – тромбин; 2 – альгинат натрия, обработанный в гибридной плазме кислорода; 3, 4 – образцы альгината натрия с тромбином, полученные в гибридной плазме аммиака и кислорода, соответственно.

Для характеристики типа связей, сформировавшихся между поверхностью плазмохимически активированной полисахаридной губки и тромбином, полученные образцы были исследованы с помощью денатурирующего PAGE электрофореза, при проведении которого разрушаются дисульфидные, но не ковалентные связи, и ВЭЖХ. При PAGE электрофорезе полученного образца не было обнаружено характерных линий, соответствующих по молекулярной массе А (~ 6 кДа) и Б (~ 30 кДа) [6.5.1] цепям тромбина.

Результаты ВЭЖХ представлены на рис. 6.5.2. На хроматограмме коммерческого препарата тромбина определяется пик соответствующий его молекулярной массе (~ 40 кДа) со временем элюирования 8,58 мин. В то же время на хроматограмме образцов, полученных в ходе плазмохимического синтеза, пик индивидуального тромбина отсутствует, что свидетельствует о прочном связывании белка с материалом губки. Таким образом, анализ результатов PAGE электрофореза и ВЭЖХ позволяет предположить наличие ковалентных связей между тромбином и поверхностью полисахаридной губки, предварительно активированной в гибридной плазме.

6.6. Исследование изменений структуры веществ, использовавшихся в экспериментах, под действием ЭП и ВЧ-разряда

Для разработки новых способов создания эффективных композитных гемостатических средств крайне важно сохранить нативную структуру и биологические свойства соединений (особенно для белковой природы), осаждаемых на тканевую основу или полисахаридную губку. Хотя в описываемых в данном разделе экспериментах задача получить плазменно-деструктурированные биополимеры не ставилась, нельзя было исключить возможность изменения структуры и, следовательно, биологических свойств соединений в результате воздействия как быстрых электронов пучка, так и ВЧ-разряда. В данном случае такие изменения являются нежелательным, побочным эффектом.

С целью изучения возможного влияния ЭП на ацетилсалициловую кислоту и ВЧ-разряда на БСА, лизоцим и тромбин был проведен ряд дополнительных исследований (ИК- и ЯМР- спектроскопия, определение содержания аминокислотных остатков, электрофорез в полиакриламидном геле). Порошки белков обрабатывали в течение 5 мин в ВЧ-разряде емкостного типа (использован генератор Genesis GHW-12 (MKS Instruments, Великобритания) с частотой 13,56 МГц и выходной мощностью, регулируемой в диапазоне от 0 до 50 Вт) в кислороде при давлении 0,5 Торр. Эффективная мощность составляла 20 Вт. Температура образца в процессе обработки контролировалась ИК-пирометром Optris LS (Optris GmbH, Германия).

Спектральные измерения проводили на ИК-спектрометре “Portmann Instruments”, оснащенный рабочей секцией, которая была изготовлена на основе 12-проходного кристалла ZnSe. Для получения спектров поглощения порошок исследуемого вещества насыпали тонким слоем на поверхность рабочей секции. Регистрацию первичных спектров осуществляли в диапазоне волновых чисел 500-3600 см⁻¹. С целью увеличения разрешения и повышения информативности спектры подвергали Фурье-анализу с

помощью специально разработанного программного обеспечения. При ИК-спектроскопии различия в составе исходной ацетилсалициловой кислоты и ацетилсалициловой кислоты, обработанной ЭП, обнаружены не были. ЯМР-спектроскопия высокого разрешения (спектрометр Bruker Avance DRX-300 (Германия), были зарегистрированы спектры на ядрах протонов – ^1H и спектры на ядрах углерода с развязкой от протонов $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$) также не выявила каких-либо изменений структуры ацетилсалициловой кислоты после воздействия на нее ЭП и пучковой плазмы (рис. 6.6.1). Это дает основания полагать, что изменения химической структуры и, следовательно, изменения фармакологической активности ацетилсалициловой кислоты под воздействием ЭП не происходит.

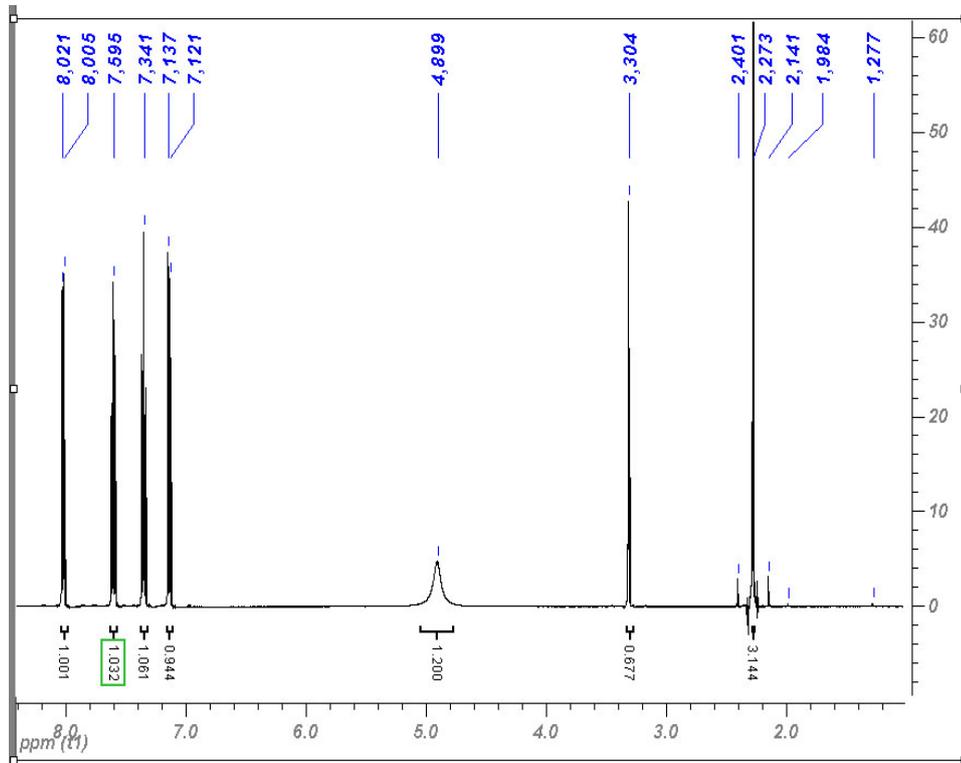
После воздействия ВЧ-разряда (время обработки составило 10 мин) БСА, лизоцим и тромбин сохраняли полную растворимость в дистиллированной воде. При определении содержания аминокислотных остатков в БСА и лизоциме до и после их обработки в ВЧ-разряде (массовую долю аминокислот определяли на анализаторе T 339M (Mikrotechha-N.P., Чехословакия), образцы подвергали предварительному кислотному гидролизу) не наблюдалось отсутствие каких-либо изменений (в таблице 6.6.1, в качестве примера приведены данные для БСА). При электрофорезе в 7,5 % полиакриламидном геле было показано, что образцы исходного БСА и БСА, обработанного в ВЧ-разряде имели идентичную молекулярную массу 66 кДа (Рис. 6.6.2). Структура белка полностью сохраняется и при более длительной, вплоть до 20 минут, обработке в ВЧ-разряде. В тоже время обработка в ВЧ-разряде натуральных волокон и тканей повышает их гидрофильность [6.6.2-6.6.4]. Это обеспечивает не только лучшую адгезию осажденных частиц на поверхности подложки [6.6.5], но и более плотное прилегание повязки к раневой поверхности, что вносит дополнительный вклад в обеспечение гемостатического эффекта.

Таким образом:

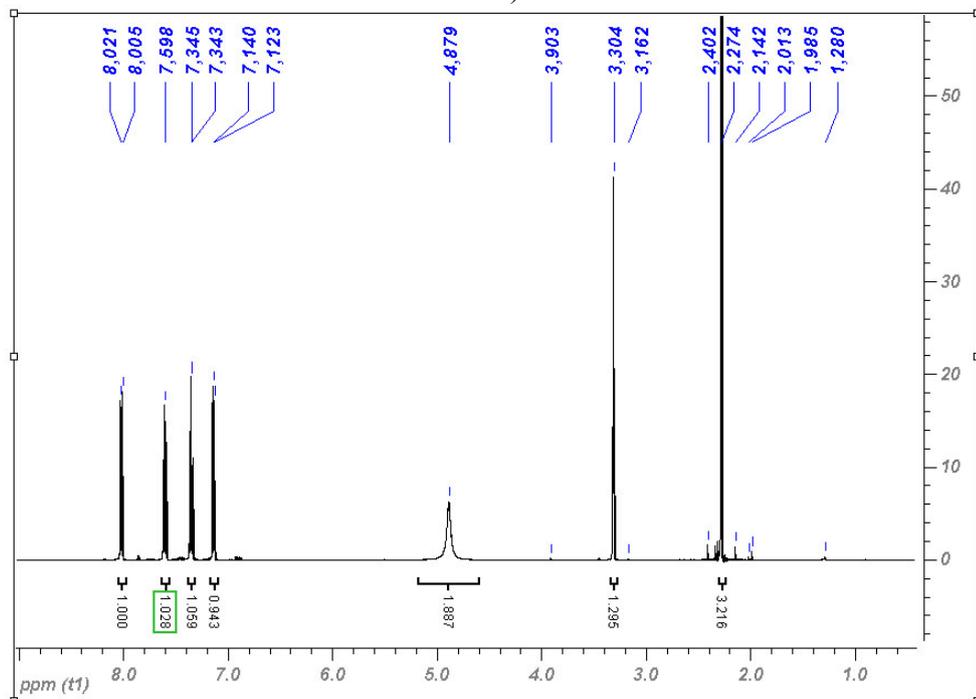
1) На примере углерода, серы и ацетилсалициловой кислоты экспериментально доказана принципиальная возможность плазменно-стимулированного осаждения низкомолекулярных органических лекарственных соединений на поверхность тканевых материалов и порошков биополимеров (бычьего сывороточного альбумина, лизоцима, хитозана). Таким образом были получены супрамолекулярные комплексы «белок-лекарственный агент» и «полисахарид-лекарственный агент».

2) На примере совместного плазменно-стимулированного осаждения аморфного углерода и ацетилсалициловой кислоты на тканевую основу показано, что пучково-плазменные реакторы могут быть использованы для получения гибридных материалов с комбинированными биологическими и фармакологическими свойствами.

3) На примере губки из альгината натрия и белка-стимулятора свертывания крови тромбина показана возможность получения комбинированных гемостатических материалов, в которых активные компоненты образуют между собой ковалентные связи.



а)



б)

Рис. 6.6.1. ЯМР-спектры ацетилсалициловой кислоты: а) – исходная ацетилсалициловая кислота; б) – ацетилсалициловая кислота, обработанная ЭП и пучковой плазмой.

Таблица 6.6.1. Содержание аминокислотных остатков в образцах исходного БСА и БСА, обработанного ВЧ-разрядом в течение 10 мин, % масс.

Аминокислота	Исходный БСА	БСА, обработанный в ВЧ-разряде
Лизин	9,10±0,91	8,97±0,88
Гистидин	3,36±0,34	3,26±0,33
Аспарагиновая кислота	8,16±0,82	8,39±0,76
Треонин	4,43±0,44	4,37±0,43
Серин	3,00±0,30	2,94±0,29
Глутаминовая кислота	15,50±1,55	14,91±1,15
Пролин	3,44±0,34	4,04±0,40
Глицин	1,94±0,19	1,81±0,16
Аланин	4,66±0,47	4,70±0,48
Цистин	5,21±0,52	5,11±0,42
Валин	4,81±0,48	4,72±0,46
Метионин	1,27±0,13	1,19±0,12
Изолейцин	2,25±0,22	2,17±0,21
Лейцин	9,21±0,92	8,89±0,89
Тирозин	3,96±0,40	3,85±0,36
Фенилаланин	5,46±0,55	5,44±0,48

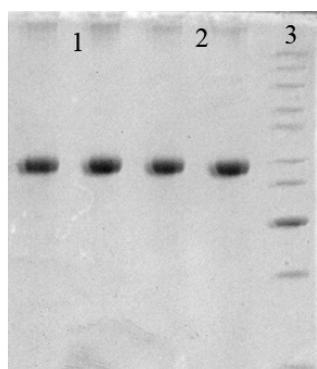


Рис. 6.6.2. PAGE-электрофорез образцов исходного БСА и БСА, обработанного ВЧ-разрядом в течение 10 мин:

1 – исходный БСА, 2 – БСА, обработанный в ВЧ-разряде, 3 – маркеры.

При подключении различных полимерных матриц и биоактивных пептидов и белков или иных биомолекул данный подход может быть в дальнейшем использован для создания гемосовместимых материалов (например, сосудистых стентов, искусственных

сердечных клапанов и т.д.), функционализации пластика для клеточных культур, разработки биосенсоров.

6.7. Получение углеродных материалов, допированных атомами неметаллов, в гибридной плазме

В данной части работы исследовалась возможность допирования различных аллотропных модификаций углерода атомами неметаллов в гибридной плазме и перспективность данной технологии для получения легированных углеродных материалов. Эксперименты проводили на следующих аллотропных формах углерода:

а) одностенные и многостенные углеродные нанотрубки, полученные методами CVD-синтеза в ГНЦ ФГУП «Исследовательский центр им. М.В. Келдыша»;

б) однослойный графен на кремниевых и медных подложках (Рис. 6.7.1), полученный методами CVD в ФГУБН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН.

Перечисленные модификации углерода являются одними из самых многообещающих с точки зрения медико-биологических приложений и смежных с ними областей. Примерами могут служить разработка углеродсодержащих композитных материалов, нанокапсул для хранения газов, металлов, биологически активных веществ, систем адресной доставки биоактивных молекул и лекарств, нанопипеток, нанодатчиков и сенсоров с ультравысокой чувствительностью для мониторинга окружающей среды и медицинской диагностики, создания соединений между биологическими нейронами и электронными устройствами в новейших нейрокомпьютерных системах, создания искусственных мышц [6.7.1]. Однако для более эффективного использования нанотрубок и графена необходимо иметь возможность управлять их свойствами. Одним из наиболее перспективных подходов является внедрение в гексагональную решетку углерода примесей других элементов (допирование, легирование), которое нарушает симметрию решетки и позволяет, например, получать полупроводники с разным типом проводимости и необходимой шириной запрещенной зоны. Подобная модификация чрезвычайно важна при разработке сенсоров, в том числе содержащих активные эффекторные биомолекулы (пептиды, ферменты, антитела, ДНК).

Основная часть экспериментов выполнялась на графене, т.к. он является новейшим углеродным материалом и обладает уникальными свойствами, такими как высокая электрическая проводимость, высокая теплопроводность, высокая механическая прочность и показал большой потенциал для использования не только в электронике и нанотехнологиях, но и в биотехнологиях. В качестве элементов для допирования были

выбраны азот и сера, позволяющие создать графен с n-типом и p-типом проводимости, соответственно.

Допирование углеродных материалов проводили в гибридной плазме, условия обработки были определены в ходе предварительных экспериментов, и затем оптимизированы:

- ВЧ-разряд с частотой 13,56 МГц и эффективной мощностью 10-50 Вт
- Плазмообразующие газы – аммиак ($P_m = 0,5$ Торр) и гексафторид серы SF_6 ($P_m = 0,3$ Торр)
- Параметры ЭП: $I_b = 0,4-0,6$ мА, $U = 30$ кэВ
- Температура образца $T_s = 25-30$ °С
- Время обработки варьировалось в интервале 2-80 мин и после оптимизации режимов составило 10 мин.

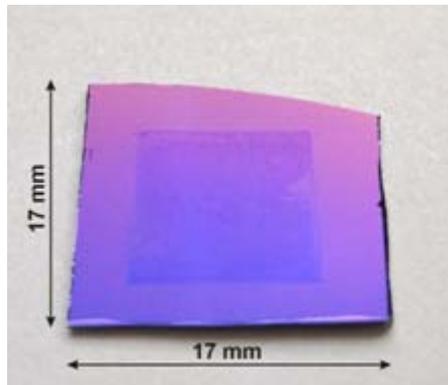


Рис. 6.7.1. Фотография образца однослойного графена, использовавшегося в экспериментах.

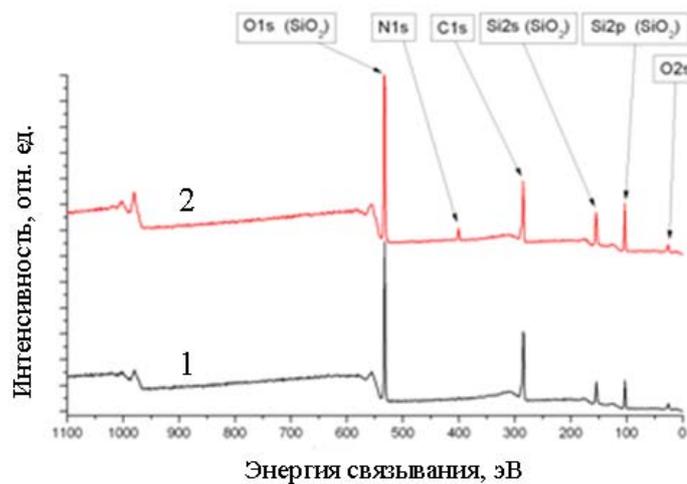


Рис. 6.7.2. Обзорный XPS-спектр образцов однослойного графена: 1 – исходный образец, 2 – образец, обработанный в гибридной плазме аммиака в течение 20 мин и эффективной мощности ВЧ-разряда 20 Вт.

Модифицированные в гибридной плазме образцы графена были проанализированы с помощью Раман-спектроскопии и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS). При этом было показано, что при плазмохимической модификации в гибридной плазме происходит допирование графена атомами азота и серы (Рис. 6.7.2). Причем в оптимизированных условиях содержание примесей достигает 3%, что является результатом, сопоставимым с мировым уровнем [1.4.22-1.4.26].

Таким образом, использование гибридной плазмы для легирования углеродных материалов является обоснованным и перспективным методом. Дальнейшее развитие данной технологии позволит легировать графен и другие аллотропные модификации углерода не только атомами N и S, но и атомами F, O, B, получать углеродные структуры с полупроводниковыми свойствами и с различными типами проводимости, а также со свойствами диэлектриков, что является крайне важным для создания на их основе биосенсоров. Также плазмохимически стимулированное внедрение в структуру углерода различных биогенных элементов может быть крайне актуально для разработки биосовместимых покрытий и функциональных материалов нового поколения.

ГЛАВА VII. АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭПП НА МАТЕРИАЛЫ ПРИ РЕШЕНИИ ЗАДАЧ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И МАТЕРИАЛОВ

7.1. Физическая модель рабочего процесса в пучково-плазменном реакторе

Анализ накопленных экспериментальных данных проводился в рамках физической модели процессов, протекающих в реакционном объеме пучково-плазменного реактора, основные положения которой состоят в следующем. Тонкий непрерывный ЭП инжектируется в молекулярный газ известного химического состава, генерируя неподвижное плазменное облако, в которое помещается обрабатываемый образец. В качестве примера, иллюстрирующего постановку физической задачи, на рис. 7.1.1 изображен образец в виде полуограниченного твердого тела, хотя все нижеследующие рассуждения могут быть отнесены и образцам другой геометрии, а также к реакционному объему, содержащему конденсированную дисперсную фазу. Задача рассматривается в цилиндрической системе координат, продольная ось z которой совпадает с направлением инжекции ЭП.

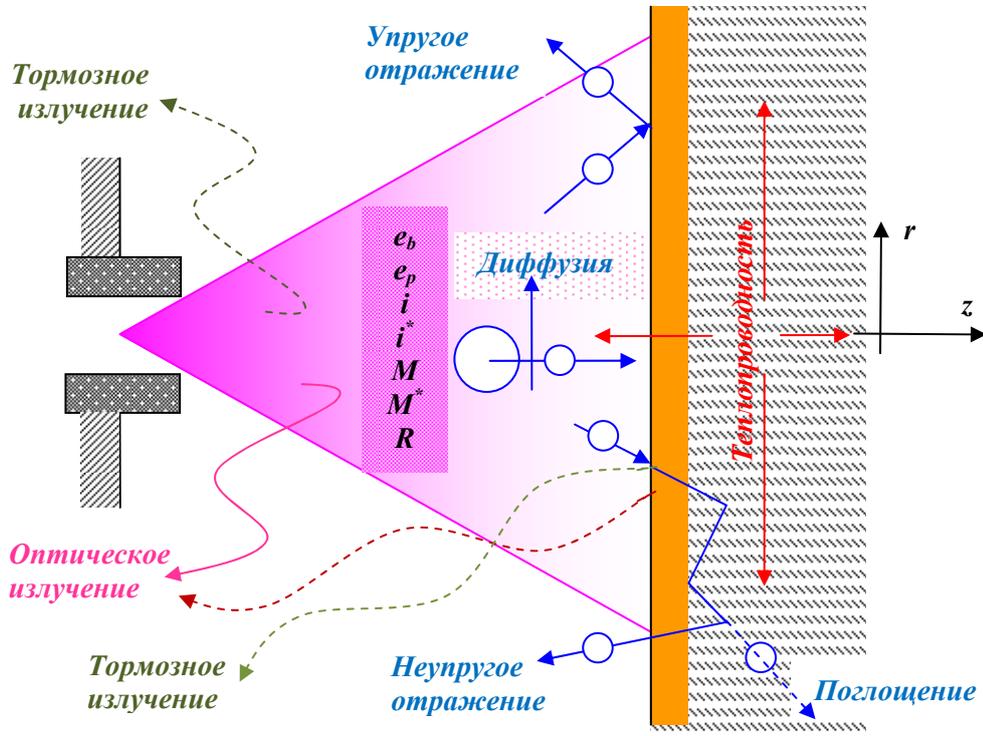


Рис. 7.1.1. Процессы, происходящие при обработке образца в ЭПП.

Модель строилась в следующих предположениях:

- ЭП является нерелятивистским, поскольку начальная энергия электронов, инжектируемых в плазмообразующую среду, не превышала нескольких десятков кэВ.
- Генерируемая плазма является квазистационарной, поскольку для ее возбуждения использовались либо непрерывные пучки, либо импульсные пучки большой длительности, существенно превышающей характерные времена плазмохимических реакций. Процессы распада плазмы после прекращения инъекции ЭП в работе не рассматривались.
- ЭПП атомарных и молекулярных газов является идеальной; ЭПП, содержащая конденсированную дисперсную фазу, может быть неидеальной с параметром неидеальности $\Gamma \gg 1$.
- ЭПП атомарных и молекулярных газов является оптически тонкой и не поглощает генерируемые в ней излучения всех длин волн. Плазма, содержащая конденсированную дисперсную фазу, может быть оптически толстой.
- Торможение электронов в газе и твердом теле описывается моделью непрерывного замедления [7.1.1], в которой используется формула

$$-\frac{1}{n} \frac{dE}{dz} = L(E), \quad (7.1.1)$$

где n – плотность атомов тормозящей среды, E – текущее значение энергии тормозящегося электрона, $L(E)$ – эффективное торможение или функция потерь. В аналитическом приближении Бете

$$L(E) = 2\pi Z e^4 E^{-1} \ln E/E_{\text{ср}}, \quad (7.1.2)$$

где Z – заряд ядра атомов тормозящей среды, $E_{\text{ср}} \sim 13 Z$ эВ – средняя атомная энергия возбуждения, e – заряд электрона. Численные значения средней энергии возбуждения молекул некоторых газов приведены в таблице 7.1.1.

Скорости ионизации Q_i и возбуждения в газе могут быть найдены из соотношений

$$Q_i = \nu_i n \text{ и } Q_{\text{ex}} = \nu_{\text{ex}} n, \quad (7.1.3)$$

где ν_i и ν_{ex} – частоты ионизации и возбуждения атомов тормозящей среды соответственно. Для Ag с хорошей точностью в диапазоне энергий пучка $E_{b0} = 10^3 - 10^6$ эВ выполняется соотношение $\nu_i \approx 0,4\nu_{\text{ex}}$; для других газообразных тормозящих сред имеют место аналогичные соотношения, но с иными значениями коэффициента пропорциональности. Частота ионизации может быть найдена по формуле

$$\nu_i = j_b / eFL(E)/U_i, \quad (7.1.4)$$

где j_b – плотность тока пучка, F – геометрический фактор, учитывающий рассеяние электронов пучка в газе, U_i – энергия образования электрон-ионной пары, значения которой для использовавшихся нами плазмообразующих газов известны (см. таблицу 7.1.2). Например, для Ar $U_i = \text{const} = 25,4$ эВ при $E = 10^3 - 10^6$ эВ.

Пространственное распределение плотности тока первичного ЭП, распространяющегося в газе, имеет вид [7.1.2]:

$$j(r, z) = j_0 \exp\left\{-\left[\frac{z}{a} + \frac{r^2}{b(z)^2}\right]\right\}, \quad (7.1.5)$$

где j_0 – плотность тока первичных электронов в выходном сечении выводного окна,

$$a = [\alpha(E_{b0})\rho_g]^{-1}$$

α – коэффициент поглощения,

E_{b0} – начальная энергия электронов пучка,

ρ_g – плотность газа,

$$b(z) = r_0 \sqrt{f(z)e^{z/a}} - \text{огibaющая пучка,}$$

r_0 – начальный радиус пучка,

$f(z)$ – функция, которая входит в феноменологическую модель как параметр; обычно используют линейную аппроксимацию.

Из соотношения (7.1.5) следует, что плотность тока первичного пучка уменьшается в осевом направлении по мере удаления от выводного окна, и имеет радиальный профиль типа Гауссовского.

В предположении, что профиль ЭП, распространяющегося в газе, определяется процессами многократного упругого рассеяния, в работе [1.5.77] получено соотношение

$$r(z)^2 = r_0^2 + C \rho_g \frac{z^3}{E},$$

где C – константа, зависящая от рода газа.

В частности, для ЭПП воздуха это соотношение принимает вид

$$r(z)^2 = r_0^2 + \frac{400}{E_{b0}^2} \frac{P_m}{T_g} z^3,$$

где P_m и T_g – давление и температура воздуха соответственно в Торр и К; z и r измеряются в см, а E_{b0} – в кэВ.

Для вычисления уменьшения энергии электронов нерелятивистского пучка при их движении в среде с плотностью ρ , состоящей из атомов одного сорта с атомным номером Z и атомным весом A удобно пользоваться соотношением (7.1.6), которое вытекает из

формул (7.1.1) и (7.1.2) при подстановки в них значений фундаментальных физических констант.

$$\frac{dE}{dz} = -\frac{7,85 * 10^4 Z\rho}{AE} \ln \frac{1,166E}{E_{cp}} \quad (7.1.6)$$

Для веществ, молекулы которых состоят из различных атомов, интегральные энергетические потери можно определить как сумму потерь на атомах каждого вида. Численные значения средней энергии возбуждения для некоторых плазмообразующих газов, использовавшихся в настоящей работе, приведены в таблице 7.1.1.

Таблица 7.1.1. Средние энергии возбуждения молекул некоторых газов [1.5.77]

Частица	He	N ₂	O ₂	Ar	CO ₂	H ₂ O
Энергия возбуждения, эВ	41	87	102	190	85	72

Следует отметить, что модель непрерывного замедления применима к пучкам, распространяющимся в любой плотной среде, а не только в газе. Поэтому формула Бете справедлива и для расчета энергетических потерь ЭП в материале твердой мишени.

Энергия пучка, выделяющаяся в плазмообразующем газе при неупругих столкновениях электронов с молекулами газа, расходуется на их ионизацию и возбуждение с возможной последующей диссоциацией, если молекулы состоят из более, чем одного атома. Обозначив диссипацию энергии ЭП в единице объема газа за единицу времени как Q , можно найти доли энергии $W_{ion} = Q_{ion} / Q$ и $W_{ex} = Q_{ex} / Q$, расходуемой соответственно на ионизацию и возбуждение. Важно заметить, что величины W практически не зависят от энергии электронов, если она превышает несколько кэВ, хотя сами скорости ионизации и возбуждения Q_{ion} и Q_{ex} от нее, конечно, зависят:

$$Q_{ion} = -\frac{dE_b}{dz} \frac{nj_b}{eU_{ion}} \quad Q_{ex} = -\frac{dE_b}{dz} \frac{nj_b}{eU_{ex}}, \quad (7.1.7)$$

поскольку, согласно (7.1.5), j_b является функцией E_b . В соотношениях (7.1.7) e – заряд электрона, n – количество нейтральных частиц в единице объема газа, а U_{ion} и U_{ex} – энергетические цены образования электрон-ионной пары и возбуждения молекулы соответственно. В таблице 7.1.2 приведены численные значения энергетических цен образования электрон-ионной пары в различных газах, а в таблице 7.1.3 – распределение

энерговклада деградирующего ЭП по неупругим степеням свободы молекул некоторых плазмообразующих сред, использовавшихся в настоящей работе.

Таблица 7.1.2. Энергетические цены образования электрон-ионной пары в некоторых газах [1.5.77]

Частица	He	N ₂	O ₂	Ar	CO ₂	Воздух
U_{ion} , эВ	27,8	35,3	32,0	25,4	31	32,3

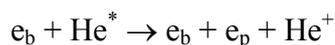
Таблица 7.1.3. Доля мощности слаборелятивистского ЭП, вкладываемая в неупругие степени свободы молекул O₂ и Ar, при торможении пучка в различных плазмообразующих средах; $P_m \sim 10^2$ Торр [7.1.3]

Молекула	Плазмообразующий газ	Ионизация, %	Электронное возбуждение, %	Колебательное и вращательное возбуждение, %	Диссоциация, %
O ₂	Кислород	29,1	50,2	2,2	17,8
O ₂	Воздух	11	13	1,5	3,98
Ar	Аргон	50	50	-	-

7.2. Кинетические схемы ЭПП газов, использовавшихся в экспериментах

Образующиеся в неупругих процессах частицы участвуют в самых разнообразных реакциях, в результате которых в плазме устанавливаются стационарные плотности частиц, формирующих, в конечном счете, компонентный состав ЭПП¹. Кинетические модели ЭПП оказываются весьма сложными: в них приходится закладывать большое количество реакций с участием нейтральных, заряженных и возбужденных частиц. В качестве примера в таблице 7.2.1 приведена предложенная Н.Л. Александровым кинетическая модель плазмы чистого гелия [7.2.1] с указанием констант скоростей соответствующих плазмохимических реакций при типичных условиях ее генерации в экспериментальной установке, использовавшейся в настоящей работе.

В эту модель не вошли некоторые реакции, в частности реакции ударной ионизации возбужденного атома He*



и его пеннинговской ионизации



¹ В данном параграфе рассматривается плазма, генерируемая непрерывной инъекцией ЭП. Плазма, возбуждаемая импульсно-периодическими пучками, требует специального рассмотрения с учетом процессов ее распада.

так как в условиях проводившихся экспериментов они не вносят заметного вклада в баланс частиц плазмы.

Таблица 7.2.1. Реакции, протекающие в ЭПП чистого гелия, и их константы скорости T – температура газа, К; T_e – электронная температура, эВ

№ пп	Реакция	Константа скорости реакции
1	$e_b + He \rightarrow e_b + e_p + He^+$	$Q_{ion} \text{ см}^{-3}\text{с}^{-1}$ (из соотношений (7.1.3))
2	$e_b + He \rightarrow e_b + He^*$	$Q_{ex} \text{ см}^{-3}\text{с}^{-1}$ (из соотношений (7.1.3))
3	$He^+ + 2He \rightarrow He_2^+ + He$	$k_3 = 1,1 \times 10^{-31} (300/T)^{0,75} \text{ см}^6\text{с}^{-1}$
4	$He_2^+ + 2He \rightarrow He_3^+ + He$	$k_4 = 0$
5	$He_2^+ + He \rightarrow He^+ + 2He$	$k_5 = 1,04 \times 10^{-9} (28650/T)^{0,5} \times \exp(-28650/T) \text{ см}^3\text{с}^{-1}$
6	$He_3^+ + He \rightarrow He_2^+ + 2He$	$k_6 = 0$
7	$He_2^+ + e_p \rightarrow He^* + He$	$k_7 = 1,3 \times 10^{-11} T_e^{-1} \text{ см}^3\text{с}^{-1}$
8	$He_3^+ + e_p \rightarrow He^* + 2He$	$k_8 = 0$
9	$He^+ + 2 e_p \rightarrow He^* + e_p$	$k_9 = 2,61 \times 10^{-22} (0,086/T_e)^{4,5} \text{ см}^6\text{с}^{-1}$
10	$He^* + e_p \rightarrow He + e_p$	$k_{10} = 4 \times 10^{-7} \text{ см}^3\text{с}^{-1}$
11	$He^* + He^* \rightarrow He_2^+ + e_p$	$k_{11} = 10^{-10} \text{ см}^3\text{с}^{-1}$
12	$He_2^+ + e_p \rightarrow He^+ + He + e_p$	$k_{12} = 9 \times 10^{-8} \exp(-2,5/T_e) \text{ см}^3\text{с}^{-1}$
13	$He_3^+ + e_p \rightarrow He^+ + 2He + e_p$	$k_{13} = 0$
14	$He^* + He^* \rightarrow He^+ + He + e_p$	$k_{14} = 10^{-9} \text{ см}^3\text{с}^{-1}$
15	$He_2^+ + e_p + e_p \rightarrow He^* + He + e_p$	$k_{15} = 1,8 \times 10^{-26} T_e^{-4} \text{ см}^6\text{с}^{-1}$
16	$He_2^+ + e_p + He \rightarrow He^* + He + He$	$k_{16} = 1,3 \times 10^{-28} T_e^{-1} \text{ см}^6\text{с}^{-1}$

Кинетические модели ЭПП аргона, паров воды и аммиака приведены в работах [7.2.1] и [7.2.2]. Таблица 7.2.2 содержит основные реакции, протекающие в ЭПП аргона. В работе [7.2.1] при моделировании ЭПП паров воды учитывались 282 реакции с участием 31 реагента: положительно заряженных ионов O^+ , O_2^+ , O_4^+ , H^+ , H_2^+ , OH^+ , H_2O^+ , $O_2^+(H_2O)$, H_3O^+ , $H_3O^+(H_2O)$, $H_3O^+(OH)$, отрицательных ионов O^- , O_2^- , O_3^- , H^- , OH^- , H_2O^- , атомов O и H , молекул H_2 , O_2 , H_2O , O_3 , радикалов OH , HO_2 , H_2O_2 , возбужденных состояний $O(^1D_1)$, $O(^1S_0)$ и $O_2(^1\Delta_g)$ и электронов. Кроме того, при описании ЭПП паров воды рассматриваются также реакции ион-ионной рекомбинации каждого из положительных ионов с каждым из отрицательных. Схема основных реакций, протекающих в ЭПП паров воды приведена на рис. 7.2.1 и в таблице 7.2.3 [7.2.2], где также указаны их константы скорости, которые могут быть вычислены с точностью лишь до порядка.

Таблица 7.2.2. Кинетическая схема ЭПП чистого аргона. T – температура газа, К; T_e – температура электронов, эВ

Реакция	Константа скорости реакции	Примечание
$e_b + Ar \rightarrow e_b + e + Ar^+$	$Q_{ion} \text{ cm}^{-3}\text{s}^{-1}$	Рассчитывается прямым моделированием методом Монте-Карло
$e_b + Ar \rightarrow e_b + Ar^*$	$Q_{ex} \text{ cm}^{-3}\text{s}^{-1}$	То же
$Ar^+ + 2Ar \rightarrow Ar_2^+ + Ar$	$k_3 = 2.5 \times 10^{-31} (300/T)^{0.75} \text{ cm}^6\text{s}^{-1}$	[7.2.3]
$Ar_2^+ + 2Ar \rightarrow Ar_3^+ + Ar$	$k_4 = 7 \times 10^{-32} (300/T)^{0.75} \text{ cm}^6\text{s}^{-1}$	То же
$Ar_2^+ + Ar \rightarrow Ar^+ + 2Ar$	$k_5 = 9.3 \times 10^{-10} (1.4 \times 10^4/T)^{0.5} \exp(-1.4 \times 10^4/T) \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	Оценки с использованием данных из [7.2.4]
$Ar_3^+ + Ar \rightarrow Ar_2^+ + 2Ar$	$k_6 = 9.3 \times 10^{-10} (2.3 \times 10^3/T)^{0.5} \exp(-2.3 \times 10^3/T) \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	То же
$Ar_2^+ + e \rightarrow Ar^* + Ar$	$k_7 = 7.3 \times 10^{-8} T_e^{-0.67} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	[7.2.5]
$Ar_3^+ + e \rightarrow Ar^* + 2Ar$	$k_8 = 1.6 \times 10^{-7} T_e^{-0.54} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	То же
$Ar^+ + 2e \rightarrow Ar^* + e$	$k_9 = 2.61 \times 10^{-22} (0.086/T_e)^{4.5} \text{ cm}^6\text{s}^{-1}$	[7.2.3]
$Ar^* + e \rightarrow Ar + e$	$k_{10} = 4.5 \times 10^{-10} T_e \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	[7.2.5]
$Ar^* + Ar^* \rightarrow Ar_2^* + e$	$k_{11} = 6 \times 10^{-10} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	То же
$Ar_2^+ + e \rightarrow Ar^+ + Ar$	$k_{12} = 9 \times 10^{-8} \exp(-1.2/T_e) \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	Оценки с использованием данных из [7.2.6]
$Ar_3^+ + e \rightarrow Ar^+ + 2Ar$	$k_{13} = 9 \times 10^{-8} \exp(-1.2/T_e) \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	То же

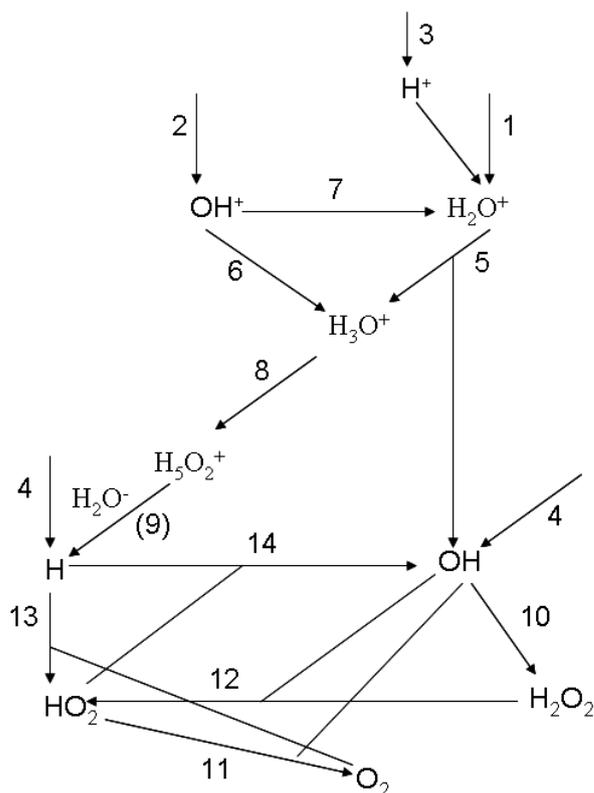


Рис. 7.2.1. Схема основных реакций, протекающих в ЭПП паров воды [7.2.2].

Таблица 7.2.3. Реакции, протекающие в ЭПП паров воды, и их константы скорости; T – температура газа, К; T_e – электронная температура, эВ [7.2.2].

№ пп	Реакция	Энергетическая цена процесса (эВ (*)) или константа скорости реакции (см ³ /с или см ⁶ /с)
1	$e_b + H_2O \rightarrow H_2O^+ + e_b + e_p$	1,99 (*)
2	$e_b + H_2O \rightarrow OH^+ + H + e_b + e_p$	0,57 (*)
3	$e_b + H_2O \rightarrow OH + H^+ + e_b + e_p$	0,67 (*)
4	$e_b + H_2O \rightarrow H + OH + e_b$	4,17 (*)
5	$H_2O^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+ + OH$	$1,7 \times 10^{-9}$
6	$OH^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+ + O(D)$	$1,5 \times 10^{-9}$
7	$OH^+ + H_2O \rightarrow H_2O^+ + OH$	3×10^{-9}
8	$H_3O^+ + H_2O + M \rightarrow H_5O_2^+ + M$	$3,5 \times 10^{-27} (0,026/T)^3$
9	$e_p + H_5O_2^+ + H_2O \rightarrow H + 3H_2O$	$2,6 \times 10^{-23} (0,026^{7/2} T^{-2} T_e^{-3/2})$
10	$2OH + M \rightarrow M + H_2O_2$	$6,9 \times 10^{-31} (0,026/T_e)^{0,8}$
11	$OH + HO_2 \rightarrow H_2O + O_2$	$4,8 \times 10^{-11} \exp(250 \times 8,6 \times 10^{-5} / T)$
12	$OH + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2$	$2,9 \times 10^{-12} \exp(-160 \times 8,6 \times 10^{-5} / T)$
13	$H + O_2 + H_2O \rightarrow HO_2 + H_2O$	$6,4 \times 10^{-31}$
14	$H + HO_2 \rightarrow 2OH$	8×10^{-11}

В таблице 7.2.4 приведена кинетическая схема плазмы кислорода, на основе которой были проведены количественные оценки потоков нейтральных частиц для задач синтеза оксидов титана на плоских образцах и внутренней поверхности трубчатых образцов (раздел 7.3) и которая учитывала:

- процессы, происходящие под действием электронов первичного пучка;
- электрон-ионную и ион-ионную рекомбинацию;
- конверсию и перезарядку как положительных, так и отрицательных ионов;
- прилипание и отлипание электронов;
- реакции с участием нейтральных компонентов¹;
- процессы тушения состояния $O_2(a)$.

¹ Именно эти реакции учитываются в простейших плазмохимических моделях, используемых для расчета концентраций нейтральных компонент ЭПП кислорода.

Для оценок потоков заряженных частиц использовались более сложные схемы, учитывавшие 12 компонентов плазмы (O_2 , O , O_3 , $O_2(a)$, O^+ , O_2^+ , O_4^+ , O^- , O_2^- , O_3^- , O_4^- , а также электроны) с числом реакций более 70.

Таблица 7.2.4. Кинетическая схема, использованная для расчета концентрации нейтральных компонент ЭПД кислорода.

	Реакция	Энергетическая цена процесса (эВ (*)) или константа скорости реакции (cm^3/c или cm^6/c (**))	
Процессы под действием электронного пучка			
1	$e_b + O_2 \rightarrow e_b + O + O$	20,2 (*)	[7.1.3.]
2	$e_b + O_2 \rightarrow e_b + O_2(a)$	23,1 (*)	[7.1.3.]
3	$e_b + O_2 \rightarrow e_b + e + O_2^+$	47,5 (*)	[7.1.3.]
4	$e_b + O_2 \rightarrow e_b + e + O^+ + O$	125 (*)	[7.1.3.]
Химия нейтральных компонентов			
5	$O + 2O_2 \rightarrow O_3 + O_2$	$6,9 \times 10^{-34} (300/T)^{1.25} (**)$	[7.2.7]
6	$O + O_3 \rightarrow O_2 + O_2$	$2 \times 10^{-11} \exp(-2300/T)$	[7.2.7]
7	$O + O + O_2 \rightarrow 2O_2$	$6,7 \times 10^{-33} (300/T)^{0.63} (**)$	[7.2.7]
8	$O_3 + O_2 \rightarrow O + 2O_2$	$1,65 \times 10^{-9} \exp(-11400/T)$	[7.2.8]
Тушение состояния $O_2(a)$			
9	$O_2(a) + O \rightarrow O_2 + O$	7×10^{-16}	[7.2.7]
10	$O_2(a) + O_2 \rightarrow O_2 + O_2$	$2,2 \times 10^{-18} (T/300)^{0,8}$	[7.2.7]
11	$O_2(a) + O_3 \rightarrow 2O_2 + O$	$9,7 \times 10^{-13} \exp(-1564/T)$	[7.2.7]
12	$O_2(a) + O_2(a) \rightarrow 2O_2$	$1,9 \times 10^{-17}$	[7.2.9]
Конверсия и перезарядка положительных ионов			
13	$O^+ + O_2 \rightarrow O_2^+ + O$	2×10^{-11}	[7.2.8]
14	$O^+ + O + O_2 \rightarrow O_2^+ + O_2$	$10^{-29} (**)$	[7.2.7]
15	$O^+ + O_3 \rightarrow O_2^+ + O_2$	10^{-10}	[7.2.7]
16	$O_2^+ + 2O_2 \rightarrow O_4^+ + O_2$	$2,4 \times 10^{-30} (300/T)^{3.2} (**)$	[7.2.7]
17	$O_4^+ + O_2 \rightarrow O_2^+ + 2O_2$	$3,3 \times 10^{-6} (300/T)^4 \exp(-5030/T)$	[7.2.7]
18	$O_4^+ + O \rightarrow O_2^+ + O_3$	3×10^{-10}	[7.2.7]
19	$O_4^+ + O_2(a) \rightarrow O_2^+ + 2O_2$	10^{-10}	[7.2.7]
Электрон-ионная рекомбинация			
20	$e + O_2^+ \rightarrow O + O$	$2 \times 10^{-7} (300/T_e)$	[7.2.7]
21	$e + O_4^+ \rightarrow O_2 + O_2$	$4,2 \times 10^{-6} (300/T_e)^{0,48}$	[7.2.10]
Прилипание и отлипание электронов			
22	$e + 2O_2 \rightarrow O_2^- + O_2$	$2,3 \times 10^{-30}$	[7.2.11]
23	$O_2^- + O \rightarrow e + O_3$	3×10^{-10}	[7.2.8]
24	$O_2^- + O_2(a) \rightarrow e + 2O_2$	2×10^{-10}	[7.2.8]
25	$O^- + O \rightarrow e + O_2$	$2,3 \times 10^{-10}$	[7.2.12]
26	$O^- + O_2(a) \rightarrow e + O_3$	$1,9 \times 10^{-10}$	[7.2.12]
Конверсия и перезарядка отрицательных ионов			
27	$O_2^- + O \rightarrow O_2 + O^-$	$3,3 \times 10^{-10}$	[7.2.7]
28	$O_2^- + O_3 \rightarrow O_2 + O_3^-$	4×10^{-10}	[7.2.7]
29	$O_2^- + 2O_2 \rightarrow O_4^- + O_2$	$3,5 \times 10^{-31} (300/T) (**)$	[7.2.7]
30	$O^- + 2O_2 \rightarrow O_3^- + O_2$	$1,1 \times 10^{-30} (300/T) (**)$	[7.2.7]
31	$O^- + O_2(a) \rightarrow O + O_2^-$	10^{-10}	[7.2.12]

32	$O^- + O_3 \rightarrow O + O_3^-$	$5,3 \times 10^{-10}$	[7.2.7]
33	$O_3^- + O \rightarrow O_2^- + O_2$	$3,2 \times 10^{-10}$	[7.2.7]
34	$O_4^- + O_2 \rightarrow O_2^- + 2O_2$	$10^{-10} \exp(-1044/T)$	[7.2.7]
35	$O_4^- + O \rightarrow O_3^- + O_2$	4×10^{-10}	[7.2.7]
36	$O_4^- + O \rightarrow O^- + 2O_2$	3×10^{-10}	[7.2.7]
37	$O_4^- + O_2(a) \rightarrow O_2^- + 2O_2$	10^{-10}	[7.2.7]
Ион-ионная рекомбинация			
38	$A^- + B^+ \rightarrow A + B$	$2 \times 10^{-7} (300/T)^{0,5}$	[7.2.7]
39	$A^- + B^+ + O_2 \rightarrow A + B + O_2$	$2 \times 10^{-25} (300/T)^{2,5} (**)$	[7.2.7]
$A^-: O^-, O_2^-, O_3^-, O_4^-$ $B^+: O^+, O_2^+, O_4^+$ Если участвуют O_4^- или O_4^+ , то в продуктах они дают $2O_2$			

Таблица 7.2.5 иллюстрирует значения концентрации электронов n_e , ионов n_i и возбужденных частиц n_{ex} в плазме некоторых газов в условиях, характерных для пучково-плазменных установок, в реакционных зонах которых формируются свободно-локализованные неподвижные пучково-плазменные образования.

Таблица 7.2.5. Характерные значения концентраций заряженных частиц (вторичных электронов, n_e , и ионов, n_i) и возбужденных частиц (n_{ex}) в ЭПП некоторых газов, генерируемой тонким ЭП. Значения приведены для частиц (указаны в скобках) с максимальной концентрацией в данных условиях генерации плазмы

Плазмо-образующий газ	Условия генерации				Концентрация частиц, cm^{-3}		
	P_m , Торр	T_m , К	E_b , кэВ	I_b , мА	n_e	n_i	n_{ex}
Ar	15	300	25	20	$5 \cdot 10^{11}$	$4,5 \cdot 10^{11} (Ar^+)$	$5 \cdot 10^{12} (Ar^*)$
	15	800	25	20	$1,1 \cdot 10^{13}$	$1,05 \cdot 10^{13} (Ar^+)$	$3 \cdot 10^{12} (Ar^*)$
He	150	400	25	20	$2 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{12} (He_2^+)$	$3 \cdot 10^9 (He^*)$
	150	800	25	20	$2 \cdot 10^{12}$	$1,05 \cdot 10^{12} (He_2^+)$	$2 \cdot 10^9 (He^*)$
O ₂	1	300	30	10	$1,51 \cdot 10^{11}$	$1,49 \cdot 10^{11} (O_2^+)$	$8 \cdot 10^9 (O_2(a^1\Delta_g))$
	5	300	30	10	$3,75 \cdot 10^{10}$	$5,81 \cdot 10^{10} (O_2^+)$	$2 \cdot 10^{10} (O_2(a^1\Delta_g))$

Таким образом, можно сделать вывод, что компонентный состав ЭПП любого газа весьма сложен: в плазме присутствуют самые разнообразные нейтральные и заряженные тяжелые частицы в основном и возбужденном состояниях, а также высокоэнергетичные электроны первичного пучка и вторичные тепловые и надтепловые электроны. Все упомянутые частицы, попадая на контактирующую с плазмой поверхность твердого тела, способны стимулировать тепловые, радиационно-химические, плазмохимические и некоторые другие процессы в приповерхностном слое и в объеме материала. Рассмотрим некоторые из этих процессов более детально.

7.3. Физико-химические процессы, происходящие в приповерхностном слое и в объеме материала при воздействии ЭПП

Бомбардировка поверхности образца быстрыми электронами

Быстрый электрон, падая на поверхность твердого тела, может быть этим телом упруго отражен, неупруго отражен или поглощен. В первом случае электрон возвращается в газ и продолжает участвовать в генерации плазмы, а последних двух случаях его энергия переходит в тепло, расходуется на стимулирование радиационно-химических реакций в твердом теле и уносится тормозным излучением¹.

Нагрев твердого тела распределенным тепловым источником в различных условиях теплообмена тела с окружающей средой является хорошо изученной задачей, поэтому нет необходимости его детально обсуждать. Следует только отметить лишь несколько важных обстоятельств.

1. В условиях проводившихся экспериментов реализовывался «мягкий» режим теплового воздействия на материал, т.е. возможность кинжального разрушения материала предлагаемой моделью не учитывалась.
2. Для массивного образца определяющим механизмом отвода тепла из зоны контакта с плазменным облаком, как правило, является теплопроводность материала. Для пленочных, трубчатых и порошкообразных образцов главную роль играет теплопроводность в окружающий газ. При высокотемпературной пучково-плазменной обработке учитывалось и тепловое излучение образца.
3. Исследования оптических свойств ЭПП показали, что в типичных режимах работы пучково-плазменного реактора плазма является оптически тонкой, т.е. ИК-излучение нагретого образца, не поглощаясь, покидает реакционный объем.
4. Расчет температурных полей в образце является одним из модулей программного продукта, разработанного для компьютерного моделирования рабочих процессов в пучково-плазменном реакторе (см. раздел 7.4).

Образование ионов, возбужденных частиц и радикалов в веществе под действием ионизирующего излучения, в том числе – под действием высокоэнергетичных электронных пучков, относится к предметной области радиационной химии [см., например, 7.3.1]. Имеется обширная литература, в которой рассматриваются задачи, связанные с обработкой различных материалов на электронных ускорителях [1.5.64,

¹ Если потеря энергии электроном при его неупругом отражении невелика, то этот электрон после возвращения в газовую среду может участвовать в генерации плазмы вместе с остальными первичными электронами.

7.3.2]. Поэтому для оценки вклада быстрых электронов в интегральный эффект воздействия ЭПП на материалы мы использовали соответствующие базы данных.

УФ-излучение

В спектре оптического излучения ЭПП некоторых газов, например аммиака [7.3.3], наиболее интенсивные линии могут находиться в УФ-области. Высокоэнергетичные γ -кванты этого излучения способны стимулировать разнообразные фотохимические реакции: фотоокисления, фотовосстановления, фотоприсоединения и др. Особо следует отметить реакции фотодиссоциации и фотосенсибилизации, в результате которых происходит образование свободных радикалов, обладающих высокой реакционной способностью, например синглетного кислорода. Если пучково-плазменной обработке подвергаются полимерные или биополимерные материалы, то реакции с участием свободных радикалов могут оказать влияние на состав, структуру и свойства формирующегося при этом поверхностного слоя.

Однако, при анализе снятых нами спектров излучения ЭПП всех применявшихся в работе плазмообразующих газов (см. рис. 3.5.3) сколько-нибудь заметной генерации УФ-излучения обнаружено не было. В экспериментах, на основании результатов которых подготовлена настоящая диссертационная работа, аммиак использовался лишь в единичных случаях. Поэтому в предлагаемой модели полагается, что при пучково-плазменной обработке воздействие γ -квантов на материал обусловлено только тормозным излучением (см. далее).

Тормозное излучение

При торможении быстрого электрона в плотной среде генерируется рентгеновское излучение, которое имеет непрерывный спектр с резкой коротковолновой границей: $\lambda_{min}(\text{нм}) = 1,23/U$, где U – ускоряющее напряжение электронной пушки в кВ. Интегральная интенсивность, $J_{X\text{-ray}}$, тормозного излучения может быть вычислена по формуле

$$J_{X\text{-ray}} = CI_b ZU^2 \quad (7.3.1)$$

где I_b – сила тока ЭП, Z – порядковый номер вещества тормозящей среды, C – размерный коэффициент пропорциональности, численное значение которого определяется выбором единиц измерения. Таким образом, интегральная интенсивность тормозного излучения зависит от параметров ЭП и вещества тормозящей среды, а его спектральный состав меняется только с изменением энергии электронов и не зависит от вещества среды.

Несмотря на то, что КПД возбуждения рентгеновских лучей чрезвычайно мал (он составляет всего лишь примерно 1%, а остальные 99% представляют собой энергию летящих электронов, переходящую в тепловую энергию), тормозное излучение может оказать существенное воздействие на материалы, находящиеся в реакционной зоне пучково-плазменного реактора. Сказанное прежде всего относится к биоорганическим веществам, сложные молекулы которых весьма чувствительны к рентгеновскому облучению. В целом, энергетический баланс, устанавливающийся при пучково-плазменной обработке массивных образцов, характеризуется таблицей 7.3.1.

Таблица 7.3.1. Баланс энергии при пучково-плазменной обработке массивных образцов

Вид энергии	Доля в энергетическом балансе		Примечание
	Мягкий режим воздействия	Жесткий режим воздействия	
Тормозное излучение	~ 1 %	~ 1 %	
Эмиссия истинно-вторичных электронов	~ 1 %	~ 1 %	
Упругое и неупругое отражение электронов	5-50 %	5-50 %	Зависит от Z и ρ
Тепловое излучение	< 3 %	< 3 %	
Теплопроводность	До 60 %	1-3 %	Зависит от теплофизических свойств материала
Плавление	30-35 %	До 60 %	То же
Испарение	5-10 %	До 25%	То же

Электростатическая зарядка твердого тела в ЭПП и проблема устойчивости реакционного объема.

Поглощение электронов изолированным от земли образцом в процессе его пучково-плазменной обработки может привести к накоплению этим образцом значительного заряда, т.е. к его электростатической зарядке. Если тело находится в облаке ЭПП с достаточно высоким давлением ($P_m > 1-5$ Торр в зависимости от рода плазмообразующего газа), заряд стекает на землю через плазму, и потенциал тела не превышает нескольких вольт. По мере уменьшения давления потенциал быстро нарастает, и при $P_m = 0,1-0,5$ Торр он может достичь нескольких сотен вольт [7.3.4]. При обработке массивных образцов их электростатическая зарядка препятствует проникновению

электронов пучка и плазмы в приповерхностную область¹, а если диэлектрический образец имеет достаточно большие размеры, то может наблюдаться его дифференциальная зарядка, сопровождающаяся электрическими пробоями по поверхности образца.

Эксперименты показали (см., например, [7.3.5]), что в ЭПП, содержащей пылевые частицы, последние могут накапливать аномально высокий заряд, что приводит к нарушению однородности реакционного объема, а при определенных условиях – даже к полному выносу частиц порошка из реакционной зоны. Следовательно, когда в реакционном объеме присутствуют частицы конденсированной дисперсной фазы, необходимо учитывать электростатическое взаимодействие пылевых частиц, которое способно нарушить устойчивость рабочего процесса в пучково-плазменном реакторе.

Зажигание пучково-плазменного разряда.

Еще одним механизмом потери устойчивости ЭПП является раскачка в плазме ленгмюровских колебаний, которая может привести к зажиганию так называемого пучково-плазменного разряда – явлению, иногда наблюдаемому при инъекции достаточно мощного ЭП в газы с низким давлением. При определенных условиях инкремент усиления плазменных колебаний, γ , может оказаться сравнимым с частотой упругих столкновений термализующихся электронов с тяжелыми частицами плазмы, ν_{e-n} , и даже превышать ее:

$$\gamma \geq \nu_{e-n}. \quad (7.3.2)$$

Последнее неравенство, в котором величина γ вычисляется из соотношения (7.3.3), является условием зажигания пучково-плазменного разряда.

$$\gamma = \omega_p \sqrt[3]{\frac{n_{eb}}{n_{ep}}}, \quad (7.3.3)$$

где $\omega_p = \sqrt{\frac{4\pi e^2 n_{ep}}{m}}$ – плазменная частота; e и m – заряд и масса электрона соответственно.

¹ Очевидно, что тело, бомбардируемое быстрыми электронами, обычно накапливает отрицательный заряд, и только образцы, изготовленные из материалов с высоким коэффициентом вторичной эмиссии, способны заряжаться положительно. В настоящей работе такие материалы не использовались.

Действительно для ЭПП аргона, как это следует из таблицы 7.2.5, концентрация электронов может достигать $n_{ep} \approx 10^{13} \text{ см}^{-3}$. При таких условиях $v_m \approx 5 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$. С другой стороны, в аргоновой плазме при $P_m = 15 \text{ Торр}$, $T_m = 300 \text{ К}$, $T_e = 1 \text{ эВ}$ частота $\gamma \approx 10^9 \text{ с}^{-1}$ [7.3.6], и условие (7.3.2) оказывается выполненным.

Таблица 7.3.2. Общая характеристика физической модели рабочего процесса в пучково-плазменном реакторе

Процессы, рассматриваемые в рамках использованной модели	Процессы, которые не учитывались
<ol style="list-style-type: none"> 1. Упругое и неупругое рассеяние электронного пучка в газе 2. Элементарные процессы в плазме и плазмохимические реакции в соответствии с выбранной кинетической моделью 3. Нагрев газа 4. Диффузия нейтральных частиц плазмы 5. Амбиполярная диффузия заряженных частиц плазмы 6. Упругое и неупругое отражение быстрых электронов от поверхности твердого тела 7. Поглощение электронов твердым телом 8. Нагрев твердого тела 9. Теплопередача в объеме твердого тела 10. Теплообмен между твердым телом и окружающим его газом (плазмой) 11. Генерация тормозного излучения 12. Электростатическая зарядка твердого тела 13. Плазменно-стимулированные химические реакции на поверхности твердого тела¹ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Поглощение оптического излучения плазмой 2. Истинно-вторичная электронная эмиссия с поверхности твердого тела 3. Реактивное распыление материала 4. Фазовые переходы в твердом теле 5. Прямое модифицирующее действие тепловых электронов на материал 6. Генерация УФ-излучения 7. Зажигание пучково-плазменного разряда

При зажигании пучково-плазменного разряда степень ионизации ЭПП резко возрастает и может достигать единицы; одновременно существенно возрастают концентрации и других химически активных частиц плазмы. Такой режим работы пучково-плазменного реактора является потенциально интересным с точки зрения технологических приложений [см., например, 7.3.7], однако в настоящей диссертационной работе он не рассматривается.

¹ Реакции, стимулированные электронно-пучковой плазмой в приповерхностном слое материала, отдельно рассматриваются в параграфе 7.5 «Механизмы и пусковые процессы ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров».

Подводя итог анализа упомянутых выше процессов, можно заключить, что при обработке в ЭПП материал подвергается комбинированному воздействию многих факторов, каждый из которых способен вызвать те или иные физико-химические превращения как на поверхности, так и в объеме материала. Поэтому при внесении в реакционный объем конденсированной дисперсной фазы или твердого тела необходимо учитывать целый ряд дополнительных процессов (Таблица 7.3.2). Самосогласованное аналитическое и численное решение столь большого числа задач является крайне сложной проблемой. Поэтому большинство перечисленных выше процессов было исследовано экспериментально, а затем полученные результаты анализировали с помощью методов компьютерного моделирования с использованием специально разработанных программ «Doze» и «MolKin» [7.2.1].

В левом столбце таблицы 7.3.2 сведены все процессы, которые рассматриваются в рамках предлагаемой модели; в правом столбце этой таблицы перечислены процессы, которые в этой модели не учитываются, так как они не характерны для материалов, использовавшихся в настоящей работе, и для исследовавшихся режимов их обработки. Особо отметим, что прямое модифицирующее действие тепловых электронов на материал нами не рассматривалось, поскольку в литературе отсутствуют сведения об участии низкоэнергетических электронов в радиационно-химических процессах.

Необходимо также указать на то, что все формулы и соотношения данного раздела приведены исключительно для иллюстрации качественных закономерностей, характеризующих рабочий процесс в пучково-плазменном реакторе. Количественные оценки можно делать, используя результаты численного моделирования, самосогласованным образом учитывающего энерговыделение в газе, процессы рассеяния пучка и нагрев обрабатываемого образца. Дело в том, что из-за неоднородного нагрева газа в реакционном объеме становится неоднородной и плотность нейтральных частиц, на которых происходит рассеяние пучка, что, в свою очередь, оказывает обратное влияние на пространственное распределение плотности энерговыделения в газе. Дополнительным эффектом, нуждающимся в учете, является зависимость скоростей элементарных процессов от газовой температуры. Теплообмен между неоднородно нагретым образцом и окружающей его плазмой также влияет на формирование температурного поля в реакционном объеме. В разделе 7.4 настоящей работы приведено описание алгоритма решения такой самосогласованной задачи и компьютерной программы, реализующей данный алгоритм.

7.4. Компьютерное моделирование взаимодействия ЭПП с поверхностью образца

Компьютерное моделирование выполнялось для:

- Предварительного расчета комбинации характеристик ЭП (ускоряющего напряжения пушки, силы тока пучка, режима сканирования) и давления плазмообразующей среды заданного состава, обеспечивающей требуемую температуру образца при выбранном расположении образца в реакционной камере.
- Оценки плотности потоков частиц ЭПП, падающих на обрабатываемую поверхность с целью выявления тех частиц, потоки которых являются наиболее интенсивными.
- Проведения вычислительных экспериментов с целью оптимизации режимов обработки.

Моделирование проводилось с помощью разработанного С.Л. Лысенко программных продуктов «Doze» и «MolKin», в которых использовались предложенные Н.Л. Александровым кинетические схемы плазмохимических реакций (см. раздел 7.2), протекающих в ЭПП применявшихся в экспериментах газов. В данной главе подробно рассмотрено моделирование физико-химических процессов, происходящих при обработке материалов в ЭПП кислорода, поскольку использование кислорода в качестве плазмообразующего газа вызывало значительные изменения структуры и биологической активности исследуемых в работе материалов. Кинетическая схема, использованная для расчета концентрации нейтральных компонент ЭПП кислорода, приведена в таблице 7.2.4.

При моделировании самосогласованным образом решались следующие задачи:

- рассеяние быстрых электронов в газе;
- нагрев плазмообразующего газа за счет частичной диссипации энергии первичных электронов при их торможении в газе;
- нагрев обрабатываемого образца бомбардировкой быстрыми электронами пучка и электронами промежуточных энергий, образующихся при генерации ЭПП;
- теплообмен между образцом и контактирующим с ним газом и/или плазмой;
- теплопередача (теплопроводностью) в объеме образца, когда в нем имели место градиенты температуры;
- диффузия частиц в плазменном объеме; диффузия заряженных частиц считалась амбиполярной;
- наработка и гибель частиц плазмы в различных процессах с участием всех компонентов ЭПП.

При этом предполагалось, что наработка в плазме частиц любого сорта компенсируется процессами их гибели в плазменном объеме и на поверхности образца, а также выносом частиц диффузионными потоками. В результате, в плазменном объеме формируются квазистационарные пространственные распределения концентраций частиц. После выхода на стационарный тепловой режим в плазме и на обрабатываемой поверхности устанавливаются стационарные распределения температуры газа $T_g(r,z)$ и температуры поверхности образца $T_w(r,z)$, а также профили потоков частиц $q_j(r,z)$, которые в дальнейшем не изменяются во времени.

Сравнительный анализ результатов моделирования по различным схемам показал, что схема, приведенная в таблице 7.2.4, позволяет с достаточной точностью рассчитывать концентрации главных нейтральных компонент плазмы, а также концентрации ионов и возбужденного кислорода.

Следует особо отметить, что задача о распространении электронного пучка в газе, молекулярно-кинетические уравнения и уравнения диффузии решались совместно с расчетом температурных полей в плазменном объеме. При этом в выражения, аппроксимирующие температурные зависимости коэффициентов диффузии¹ и констант скоростей плазмохимических реакций, подставлялись значения температуры, вычисленные при решении тепловой задачи.

При решении задач электронной кинетики методом Монте-Карло моделировались траектории движения электронов в плазмообразующем газе и в обрабатываемом образце, а также вычислялся энерговклад пучка в любой точке области моделирования. Данная методика была подробно описана в [7.2.1] и верифицирована при исследовании ЭПП аргона.

Дальнейшие рассуждения относятся к моделированию процессов для задач, в которых рассматривается генерация плазмы в цилиндрическом контейнере (например – задача синтеза биоактивных оксидных покрытий на внутренней поверхности трубчатых изделий). С учетом цилиндрической симметрии теплопередача в системе ЭПП-обрабатываемый образец описывается уравнением теплопроводности

¹ В качестве примера приведем температурные зависимости коэффициентов диффузии, которые использовались нами при моделировании.

$$D = a \frac{T^{3/2}}{P} \quad a = \left[\frac{cm^2 \cdot T_{opp}}{c \cdot K^{3/2}} \right]$$

$a = 0,45$ для атомарного кислорода; $a = 0,03$ для молекулярного и молекулярного возбужденного кислорода; $a = 0,025$ для озона. [7.2.2]

$$\frac{1}{r} \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left(\lambda(T, r, z) \cdot r \cdot \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(\lambda(T, r, z) \cdot \frac{\partial T}{\partial z} \right) + Q(r, z) = 0,$$

где r – расстояние от оси трубки, $\lambda(T, r, z)$ – коэффициент теплопроводности газа или материала трубки в зависимости от координат и температуры среды T , Q – мощность тепловыделения электронного пучка в единице объема. Коэффициент теплопроводности титана принимался постоянным, а температурная зависимость коэффициента теплопроводности кислорода аппроксимировалась выражением, полученным на основании данных из справочника [7.4.1]

$$\lambda(T) = \exp(-12,726307 + 0,790091 \cdot \ln(T)) \cdot \text{Вт}/(\text{см} \cdot \text{К}).$$

Для титановой трубки дополнительно учитывается поток излучения тепла с ее внешней поверхности $(T^4 - 293^4) \cdot S$, где T – температура наружной поверхности трубки, S – площадь этой поверхности, $\sigma = 5,67 \cdot 10^{-12} \cdot \text{Вт}/(\text{см}^2 \cdot \text{К}^4)$ – постоянная излучения.

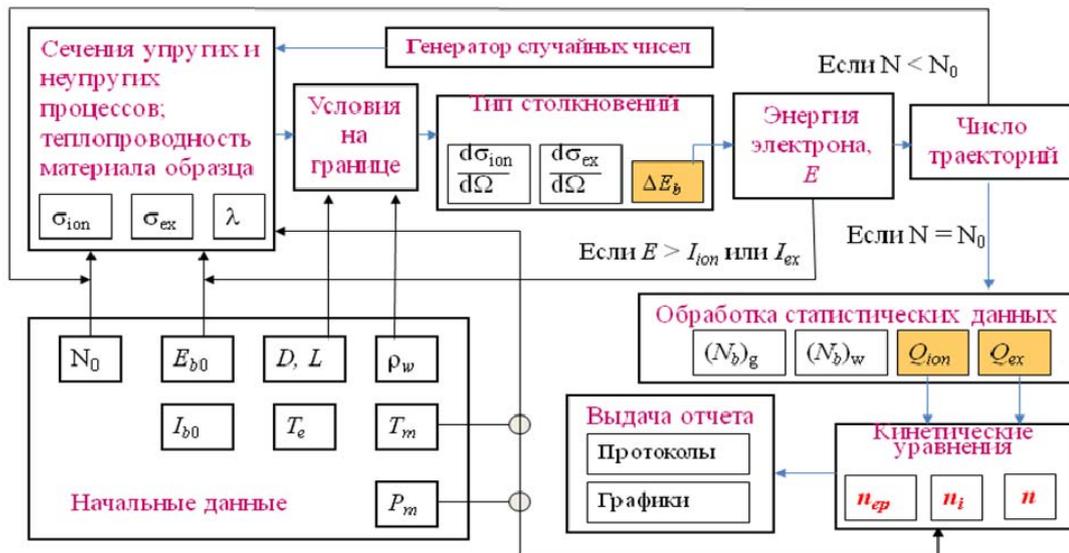


Рис. 7.4.1. Блок-схема вычислительного алгоритма, разработанного для компьютерного моделирования процесса пучково-плазменной обработки твердого образца.

Уравнения теплопередачи решались методом релаксации совместно с моделированием траекторий электронов. После моделирования одной траектории осуществлялась однократная прогонка метода релаксации, при этом контролировалась невязка. В процессе набора статистики одновременно формировалось температурное поле исследуемого пространства (газа и трубки). Значения температуры газа в заданных точках использовались для нахождения в этих точках; найденное значение плотности газа затем использовалось при моделировании следующей траектории. Давление газа считалось

постоянным во всей камере. Рисунок 7.4.1 иллюстрирует работу вычислительного алгоритма.

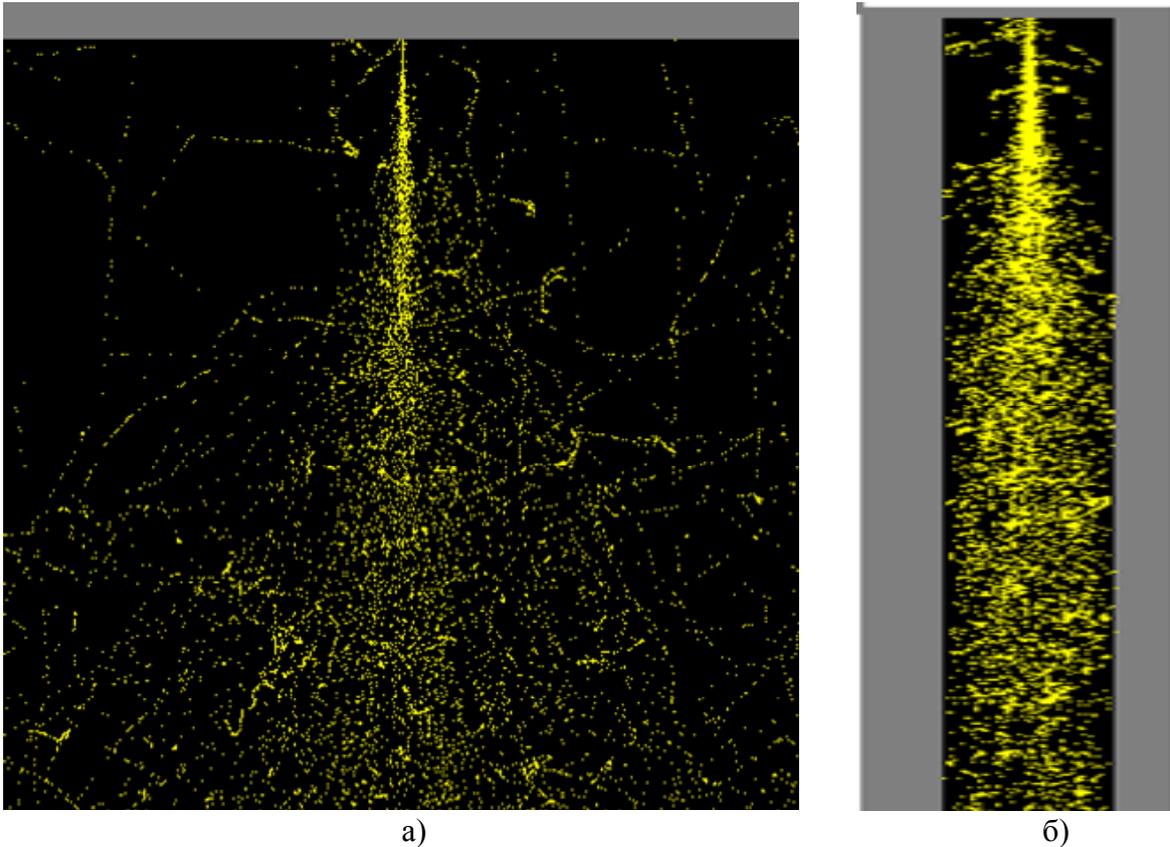


Рис. 7.4.2. Моделирование распространения ЭП с начальной энергией $E_{b0} = 30$ кэВ в кислороде при давлении $P_m = 10$ Торр: а) – в неограниченном объеме, б) – в контейнере диаметром 30 мм

В качестве иллюстрации работы программного продукта «Doza» на рисунке 7.4.2 приведены визуализированные расчеты траекторий электронов, которые позволяют наглядно представить распространение концентрированного ЭП в газообразной среде.

Величины потоков частиц любого сорта q_j (j – сорт частиц), падающих на внутреннюю поверхность трубы, рассчитывались по формуле

$$q_j = \frac{V_j \cdot N_j}{4},$$

в которой N_j – концентрация частиц данного сорта вблизи поверхности трубы, V_j – их

тепловые скорости $V_j = \sqrt{\frac{8kT_j}{\pi \cdot m_j}}$, определяемые температурой T_j и массой m_j

соответствующих частиц, k – постоянная Больцмана. Концентрации и температуры частиц плазмы являются функциями пространственных координат: $N_j = N_j(z, r)$ и $T_j = T_j(z, r)$. Таким образом, задача расчета величин q_j сводится к вычислению концентраций и температур частиц вблизи поверхности трубы. При выполнении расчетов предполагалось, что на

границе контакта плазма-поверхность температуры стенки трубы T_w и тяжелых частиц плазмы одинаковы ($T_w = T_i = T_n$, где T_i и T_n – температуры ионов и нейтралов соответственно), а распределение тяжелых частиц плазмы по скоростям – максвелловское.

Описанная выше компьютерная программа «Doza» совместно с программным продуктом «MolKin», предназначенным для расчета молекулярно-кинетических процессов в ЭПП, была использована для вычислительных экспериментов, которые проводились с целью установить, каким образом параметры химико-термического воздействия ЭПП на обрабатываемую поверхность зависят от характеристик электронного пучка, плазмообразующего газа и от геометрии образца. Так в частности, для трубчатых образцов исследовалось влияние регулируемых параметров обработки на температуру образца и плотность потоков частиц, падающих на его поверхность. При этом варьировались:

- начальная энергия электронов пучка, E_{b0} ,
- интегральный тока пучка, I_b ,
- величина углового разброса вектора скорости быстрых электронов на входе в реакционную камеру, θ_0 ,
- химический состав плазмообразующего газа,
- давление плазмообразующего газа, P_m .

На рис. 7.4.3 показаны результаты моделирования потоков электронов, атомарного и возбужденного кислорода и ионов O_2^+ , падающих на поверхность плоского образца в зависимости от расстояния от центра образца r .

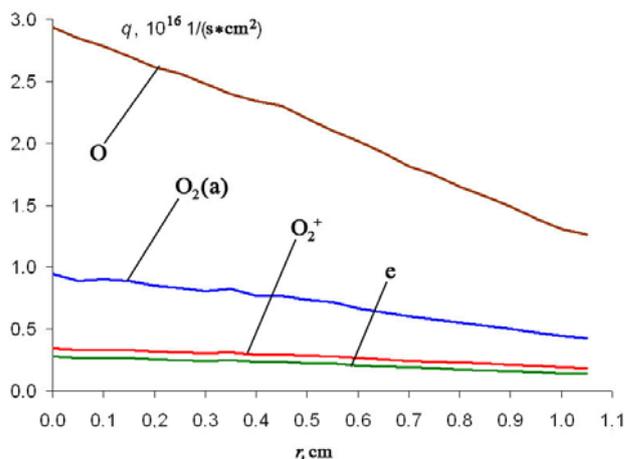


Рис. 7.4.3. Установившиеся радиальные распределения потоков (q) электронов, атомарного кислорода O, ионов O_2^+ и возбужденного кислорода $O_2(a)$, падающих на поверхность плоского образца.

r – расстояние от центра образца, см
Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $z_0 = 150$ мм

Рис. 7.4.4 иллюстрирует результаты моделирования процесса взаимодействия ЭПП кислорода с внутренней поверхностью трубы для типичных условий проводившихся экспериментов. На рисунке представлены зависимости от продольной координаты z потоков атомов кислорода и положительного иона O_2^+ , а также температуры внутренней поверхности трубы T_w и температуры газа T_g ($T_g = T_i = T_n$) на оси трубы ($r = 0$). Каждая из

перечисленных зависимостей нормирована на максимальное значение соответствующей величины, которые для потоков q_O и $q_{O_2^+}$ приведены в таблице 7.4.1. Максимальные значения температур T_w и T_g равны соответственно 524 °С и 560 °С.

В таблице 7.4.1 даны также максимальные значения потоков и других тяжелых частиц ЭПП кислорода, концентрации которых наиболее велики. Анализ данных этой таблицы показывает, что потоки частиц атомарного и возбужденного кислорода значительно превышают потоки остальных частиц плазмы, и, поэтому, можно вполне обоснованно полагать, что именно они вносят наиболее существенный вклад в процесс модификации обрабатываемой поверхности.

На рисунках 7.4.5-7.2.7 представлены результаты вычислительных экспериментов, иллюстрирующие влияние параметров, регулировку которых наиболее легко осуществить технически, на установившуюся температуру образца и на интенсивность потока химически активных частиц плазмы, падающих на его стенку. Для трубчатых образцов особый интерес представляют аксиальные профили этих величин, т.е. зависимости $T_w(z)$, $q_O(z)$ и $q_{O_2^+}(z)$, как функции давления плазмообразующего газа, начальной энергии электронов, а также от силы тока и начальной расходимости пучка. Характерной особенностью перечисленных зависимостей является наличие максимумов, положением и высотой которых следует управлять с целью оптимизации режимов обработки.

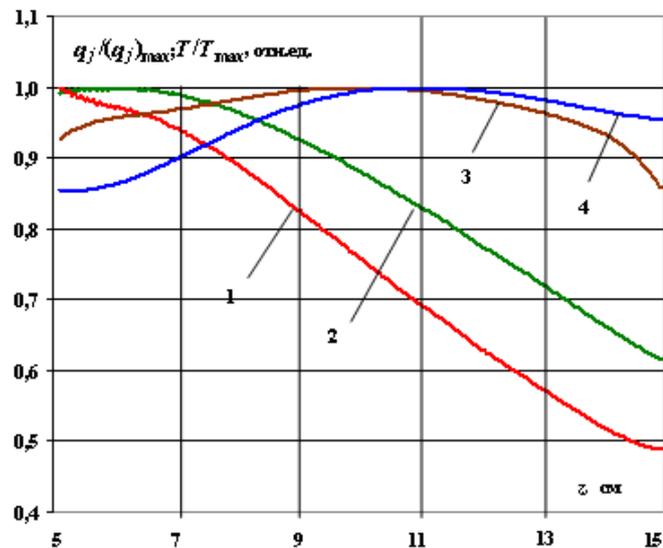


Рис. 7.4.4. Установившиеся аксиальные распределения потоков атомов кислорода (1) ионов O_2^+ (2), температуры газа на оси трубы (3) и температуры стенки трубы (4), нормированные на максимальные значения соответствующих величин.

Образец: труба \varnothing 22 мм из сплава ВТ1-00 длиной 100 мм.

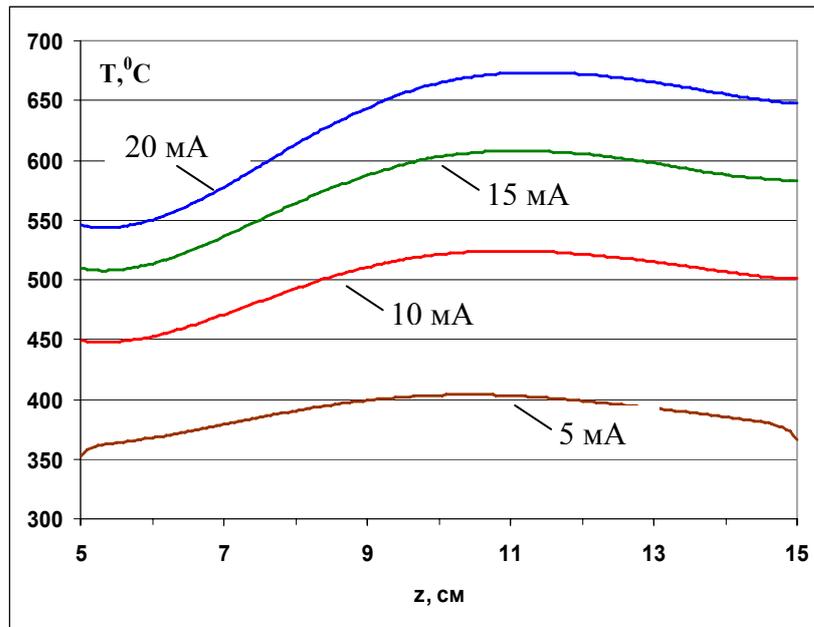
Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $z_0 = 50$ мм

Таблица 7.4.1. Максимальные значения потоков частиц ЭПП кислорода, падающих на внутреннюю поверхность трубы \varnothing 22 мм в экспериментах по синтезу биоактивных покрытий. Условия обработки: $P_m = 5$ Торр, $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $z_0 = 50$ мм

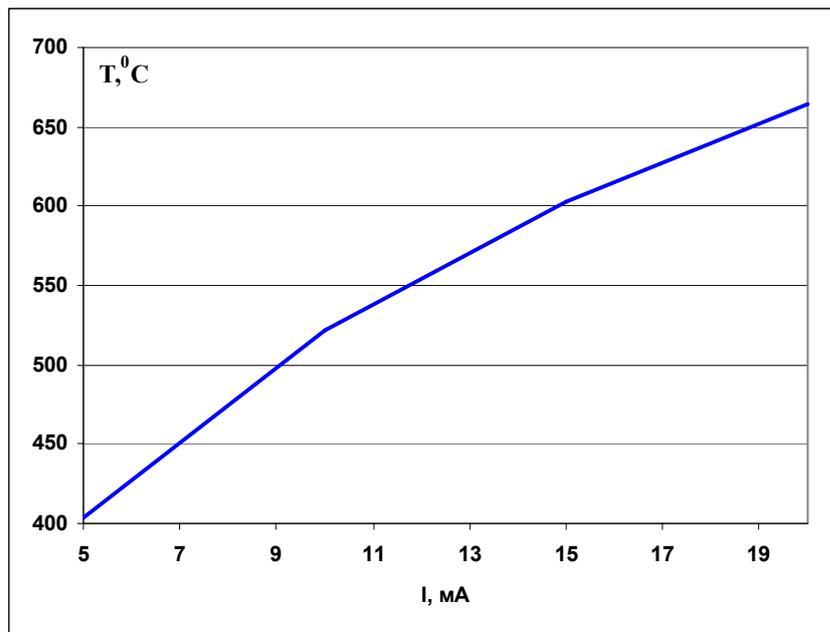
Частица	Нейтральные частицы			Ионы			
	O	O ₂ (a)	O ₃	O ₂ ⁺	O ₂ ⁻	O ⁺	O ₄ ⁺
Поток частиц данного сорта, падающий на стенку трубы, 1/с×см ²	2·10 ¹⁶	8·10 ¹⁵	10 ¹¹	4·10 ¹⁵	10 ¹³	5·10 ¹³	2·10 ¹¹

Рис. 7.4.5 показывает, что повышение мощности электронного пучка посредством увеличения силы его тока, вполне ожидаемо, приводит к возрастанию характерной температуры образца (рис. 7.4.5б), однако этот рост сопровождается некоторым смещением максимума температуры к дальнему от выводного окна концу трубы (рис. 7.4.5а). Эффект объясняется снижением плотности газа из-за его нагрева внутри трубы, что, в свою очередь, приводит к ослаблению рассеяния и торможения пучка в газе и смещению зоны с наиболее высокой скоростью наработки атомарного и синглетного кислорода в сторону больших z . Увеличение силы тока пучка ускоряет наработку атомарного и синглетного кислорода, однако концентрации этих частиц не могут превысить некоторых предельных значений, определяемых кинетикой плазмохимических реакций и условиями устойчивости плазменного объема (см. раздел 7.3). Величина ускоряющего напряжения U электронной пушки – параметра, определяющего начальную энергию электронов, выбирается, исходя из предполагаемого значения давления плазмообразующего газа с учетом геометрии обрабатываемого изделия. Обработка труб большей длины или повышение рабочего давления (последнее при прочих равных условиях позволяет ускорить процесс синтеза за счет повышения концентраций химически активных частиц плазмы) влекут за собой необходимость повышения U . Рис. 7.4.6 иллюстрирует влияние начальной энергии электронов на продольные профили установившейся температуры внутренней стенки трубы при фиксированной начальной расходимости пучка $\theta_0 = 3,5$ град. Рисунок, в частности, показывает, что для трубчатых образцов с заданной геометрией можно подобрать такое значение E_{b0} , при котором температуры всех точек поверхности образца приблизительно одинаковы. Для образцов, использовавшихся в наших экспериментах, это значение $U \approx 25$ кВ при давлении $P_m = 5$ Торр.

Необходимо отметить, что опыт разработки систем управления генераторами ЭПП с газодинамическими выводными окнами (см., например, [1.5.78]) показывает, что эту



а)



б)

Рис. 7.4.5. Продольные профили установившейся температуры внутренней стенки трубы $22 \times 1,5$ из сплава ВТ1-00 при различных значениях силы тока пучка (а) и установившееся значение температуры в срединном сечении трубы $l/2$ как функция силы тока пучка (б). Обработка в плазме кислорода при давлении $P_m = 5$ Торр, начальная энергия электронов $E_{b0} = 30$ кэВ, начальная расходимость пучка $\theta_0 = 3,5$ град.

заранее предустановленную величину ускоряющего напряжения в процессе обработки изменять нецелесообразно. Дело в том, что даже незначительные изменения ускоряющего напряжения способны вызвать радикальное изменение режима работы выводного окна, повлиять на работу генератора плазмы в целом и существенно усложнить

задачу управления. Намного удобнее осуществлять управление технологическим процессом, варьируя начальную расходимость пучка: этот параметр можно практически безинерционно подстраивать с помощью электромагнитных линз.

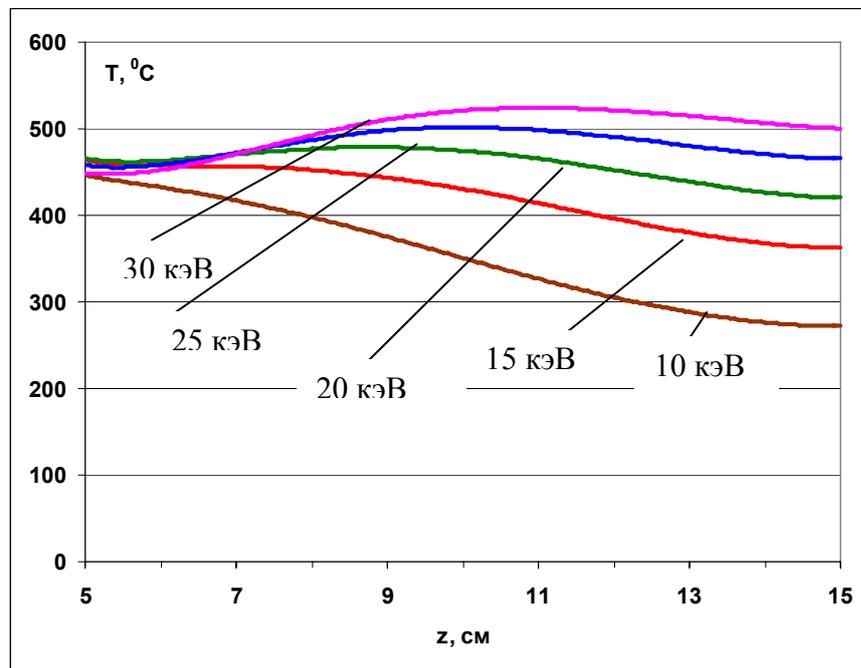


Рис. 7.4.6. Продольные профили установившейся температуры внутренней стенки трубы $22 \times 1,5$ из сплава ВТ1-00 при различных значениях начальной энергии электронов. Обработка в плазме кислорода при давлении $P_m = 5$ Торр, ток пучка $I_b = 10$ мА, начальная расходимость пучка $\theta_0 = 3,5$ град.

Рассмотрим влияние величины θ_0 на вид функций $T_w(z)$, $q_O(z)$ и $q_{O_{2(a)}}(z)$ более подробно. Рис. 7.4.7 и 7.4.8 показывают, что при прочих равных условиях, чем больше начальная расходимость пучка, тем ближе к переднему концу трубы расположены максимумы этих функций. Из этого, однако, не следует, что положение максимумов потоков атомарного и синглетного кислорода, падающих на стенку образца, совпадает с положением максимума функции $T_w(z)$. Рис. 7.4.9, на котором, кроме функций $T_w(z)$, $q_O(z)$ и $q_{O_{2(a)}}(z)$, представлены также профили скорости ионизации кислорода Q_{ion} , а также потоков атомарного (q_O) и синглетного ($q_{O_{2(a)}}$) кислорода и озона (q_{O_3}), падающих на внутреннюю поверхность образца, иллюстрирует последнее утверждение. Анализ кинетических схем пучковой плазмы кислорода показывает, что чрезмерный рост температуры газа, сопровождающий повышение температуры стенки трубы способен вызвать весьма существенное снижение концентраций активных частиц плазмы из-за ускорения процессов их гибели.

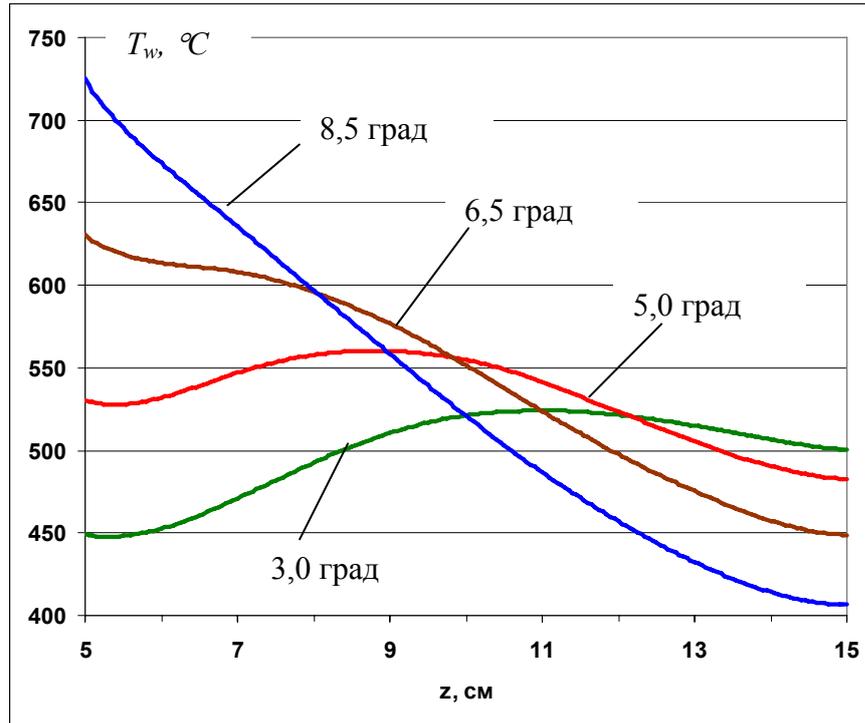


Рис. 7.4.7. Влияние начальной расходимости электронного пучка θ_0 (надписи на кривых) на продольные профили установившейся температуры внутренней стенки трубы $22 \times 1,5$ из сплава ВТ1-00 при обработке в плазме кислорода. Давление газа $P_m = 5$ Торр, ток пучка $I_b = 10$ мА, начальная энергия электронов $E_{b0} = 30$ кэВ.

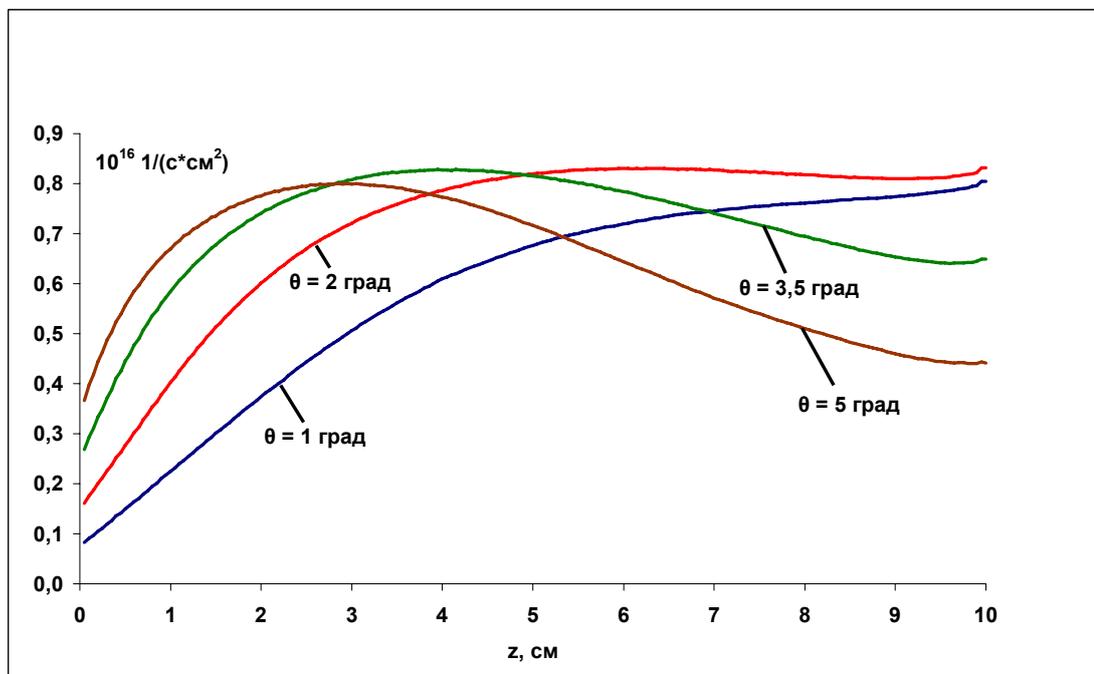


Рис. 7.4.8. Влияние начальной расходимости электронного пучка θ_0 (надписи на кривых) на продольные профили плотности потока атомов O , падающего на внутреннюю стенку трубы $22 \times 1,5$ из сплава ВТ1-00 при обработке в плазме кислорода. Давление газа $P_m = 1$ Торр, ток пучка $I_b = 10$ мА, начальная энергия электронов $E_{b0} = 30$ кэВ.

Этот факт наглядно иллюстрируется ходом кривых $T_w(z)$ и $q_{O_3}(z)$ на рис. 7.4.9. Уменьшение потоков химически активных частиц на обрабатываемую поверхность является нежелательным, поскольку оно сопровождается снижением скорости синтеза оксидов; следовательно, управление тепловыми и плазмохимическими процессами при плазменно-стимулированном синтезе оксидов целесообразно осуществлять таким образом, чтобы добиться их оптимальной комбинации.

Одним из способов управления температурным профилем на поверхности обрабатываемого изделия и пространственным распределением интенсивности падающего на нее корпускулярного потока является варьирование давления плазмообразующего газа. На рис. 7.4.10 в качестве примера представлены установившиеся аксиальные распределения потоков синглетного кислорода $O_2(a)$, падающего на внутреннюю поверхность трубы в процессе пучково-плазменной обработки, при различных давлениях плазмообразующего газа. Из приведенных графиков следует, что снижением давления кислорода удастся сделать поток активных частиц плазмы на стенку трубы практически однородным.

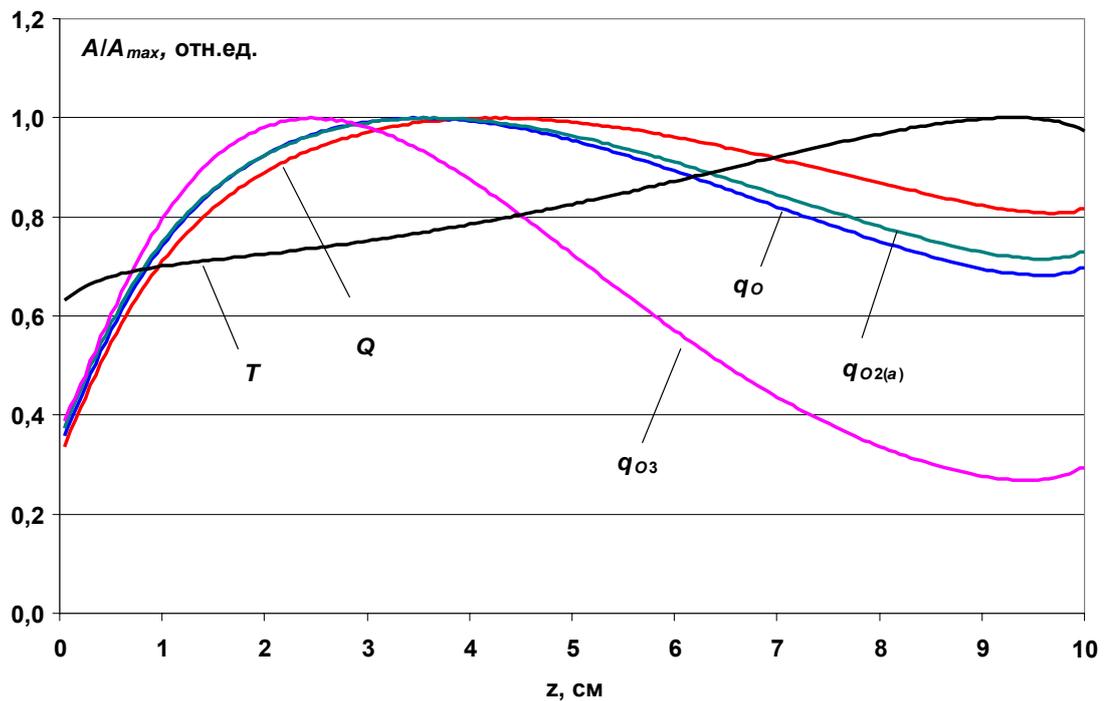


Рис. 7.4.9. Продольные профили скорости ионизации (Q_{ion}), температуры внутренней стенки образца (T_w), а также потоков атомарного (q_O) и синглетного ($q_{O_2(a)}$) кислорода и озона (q_{O_3}), падающих на внутреннюю поверхность образца.

Образец – труба $22 \times 1,5$ из сплава ВТ1-00; плазмообразующий газ – кислород; давление газа $P_m = 1$ Торр, ток пучка $I_b = 10$ мА, начальная энергия электронов $E_{b0} = 30$ кэВ.

A_{max} – максимальное значение соответствующей величины.

Другим способом управлять плотностью потока частиц и температурой поверхности образца является изменение режима сканирования ЭП, согласованного с регулировкой интегрального тока ЭП, I_b . По сути, это управление скоростями ионизации и возбуждения газа (см. формулу (7.1.3)) посредством регулировки мощности пучка N_b и плотности его тока j_b (см. формулу (7.1.4)).

Следует особо отметить, что в экспериментах по синтезу оксидных слоев на поверхности образцов простейшей геометрии были получены данные, которые позволили уточнить использовавшиеся расчетные модели и дополнить их целым рядом эффектов, которые изначально не учитывались. В частности, был выявлен эффект влияния начальной расходимости ЭП на выходе из ВУ на профили $T_w(r,z)$ и $q_f(r,z)$. Таким образом, на основе экспериментальных данных, накопленных в ходе выполнения диссертационной работы, была осуществлена верификация использованных моделей физико-химических процессов, протекающих в реакционной зоне пучково-плазменного реактора и приводящих к образованию продуктов, обладающих специфическими биологическими свойствами.

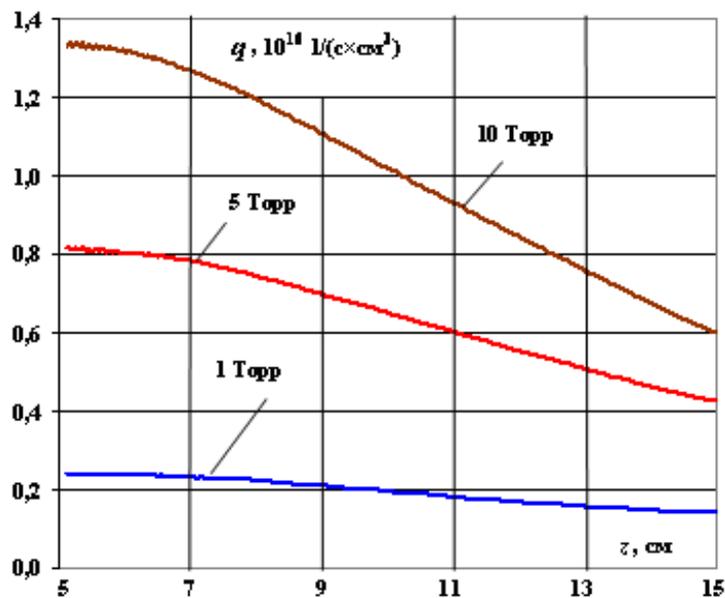


Рис. 7.4.10. Установившиеся аксиальные распределения потоков синглетного кислорода $O_2(a)$, падающего на внутреннюю поверхность трубы в процессе пучково-плазменной обработки, при различных давлениях плазмообразующего газа.

Условия обработки: $E_b = 30$ кэВ, $I_b = 10$ мА, $L = 100$ мм, $z_0 = 50$ мм

На основании проведенного анализа можно предложить следующий алгоритм оптимального управления процессом синтеза оксидов титана на внутренней поверхности труб в пучково-плазменных реакторах рассматриваемой схемы:

1. Исходя из геометрии обрабатываемого изделия и химического состава плазмообразующего газа, устанавливаются оптимальные значения ускоряющего напряжения электронной пушки и давления в рабочей камере, которые затем в процессе обработки поддерживаются неизменными.

2. Осуществляя непрерывный мониторинг продольного распределения температуры стенки трубы, выполняется подбор частоты перемещения зоны максимального энерговыделения пучка вдоль оси z , при которой достигается равномерный нагрев образца. Для этого надлежащим образом программируется контроллер электронного пучка БУЭП-2 (см. рис. 3.1.4). Во избежание возможных локальных перегревов образца процесс подгонки частоты продольного сканирования облака ЭПП целесообразно выполнять при температурах T_w , более низких, чем оптимальная температура синтеза. Будучи однократно выполненной, данная операция может быть пропущена, когда производится обработка партии однотипных изделий.

3. Повышая силу тока пучка при заданных значениях начальной энергии электронов и давления плазмообразующего газа и подобранном режиме сканирования плазменного облака, температура образца повышается до оптимальной.

4. Используя значительную тепловую инерцию образца и возможность практически безинерционно управлять профилями потоков активных частиц плазмы, осуществляется выравнивание осредненных по времени значений функций $q_0(z)$ и $q_{O_2(a)}(z)$. Для этого на электромагнитную линзу (поз. б на 3.1.4) подается переменное напряжение достаточно высокой (~ 1 кГц) частоты. При этом поддержание заданного теплового режима обработки обеспечивается постоянной корректировкой силы тока пучка по цепи обратной связи.

5. Если осуществляется многостадийная обработка в плазме различных газов (например, с целью управления компонентным составом оксидов титана), технологический процесс должен предусматривать процедуру смены плазмообразующего газа, во время которой должна осуществляться корректировка силы тока пучка, исключая локальный перегрев отдельных зон образца. Замена плазмообразующей среды обычно влечет за собой необходимость подбора новых значений давления P_m и ускоряющего напряжения U , поэтому процедуры 2-4 следует повторить для новых условий генерации плазмы.

Вычислительные эксперименты, аналогичные описанным выше, проводились не только для трубчатых, но и для плоских образцов.

Специальный цикл исследований проводился с целью верификации метода компьютерного моделирования ЭПП аэрозолей, основу которого составлял описанный

выше метод моделирования ЭПП чистых газов. При этом варьировались диаметр выводного окна, расстояние z между реакционной зоной и ВУ, толщина реакционной зоны d и плотность пыли n_p . Результаты, полученные при выполнении этого цикла исследований в сравнении с данными физических экспериментов по распространению электронных пучков в запыленных средах, нами обсуждались в разделе 4.2.

Следует отметить, что в ряде практически важных случаев компьютерное моделирование является единственным источником информации для анализа рабочих процессов в реакционном объеме пучково-плазменного реактора. Так, например, в физическом эксперименте чрезвычайно сложно измерить локальные значения плотности энерговыделения в различных точках реакционного объема в виде аэрозоля, хотя пространственное распределение $Q(r,z)$ во многом определяет все остальные процессы генерации плазмы и ее взаимодействия с обрабатываемым порошкообразным материалом. В качестве иллюстрации на рис. 7.4.11 в безразмерном виде представлены результаты вычисления долей мощности, вкладываемой электронным пучком в твердую и газообразную фазы аэрозоля. Данные приведены для приосевой зоны реакционного объема.

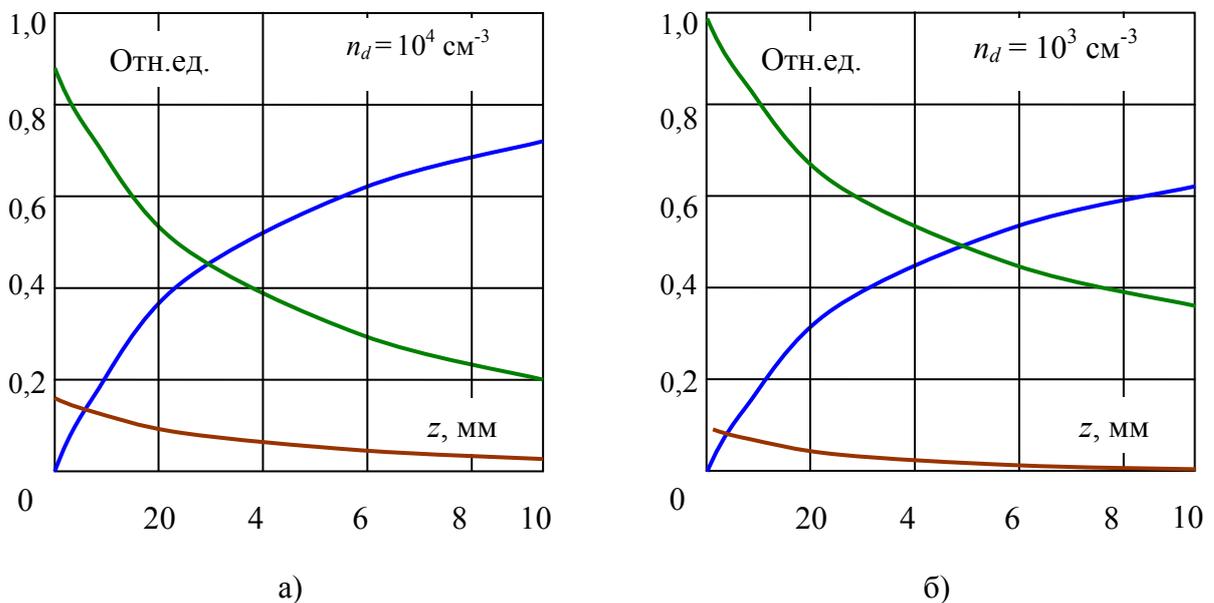


Рис. 7.4.11. Доли мощности ЭП, поглощаемые газовой (зеленая линия) и пылевой (синяя линия) компонентой аэрозоля, при различных концентрациях пыли:

а) – плазмообразующий газ – кислород ($P_m = 10$ Торр, $T_g = 300$ К), пыль – Al_2O_3 (сферы \varnothing 10 мкм); б) – плазмообразующий газ – азот ($P_m = 10$ Торр, $T_g = 300$ К), пыль – углерод (сферы \varnothing 10 мкм).

Коричневая линия – доля мощности ЭП, отражаемая реакционным объемом.

7.5. Механизмы и пусковые процессы ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров

В качестве возможных причин изменения структуры, физико-химических свойств и появления биологической активности у ЭПП-обработанных белков и полисахаридов можно указать следующие: 1) деструкция молекул, 2) замена концевых групп молекул, 3) изменение конформации молекул без изменения их химического состава.

Процессы, проходящие в электронно-пучковой плазме при обработке в ней биополимеров, имеют следующие характерные особенности:

- высокая поверхностная плотность энергии;
- высокая степень неравновесности (немаксвелловская функция распределения электронов по энергиям);
- сближение и перекрывание характеристических времен физических, физико-химических и химических процессов;
- ведущая роль в химических процессах электронов, возбужденных молекул, ионов, радикалов, т.е. высоко реакционноспособных частиц, образующихся в ЭПП. Тем не менее, нельзя не учитывать и воздействие других факторов, реализуемых в ЭПП:
 - нагрева обрабатываемого биоматериала вследствие прямого взаимодействия с быстрыми электронами ЭП и прямой передачи тепла от плазменного облака к образцу;
 - влияния на биоматериал УФ- и рентгеновского излучений;
 - взаимодействия с первичными электронами ЭП и вторичными электронами ЭПП, возникающими при ионизации плазмообразующего газа;
- многоканальность в реагирующей системе. В процессе ЭПП-стимулированной деструкции сложных молекул биополимеров участвует большое количество разнообразных частиц как химически активных частиц плазмы, так и промежуточных продуктов деградации биополимеров (активные продукты плазмолиза связанной воды, многочисленные виды макро- и пероксидных радикалов полимерных молекул и т.п.).

Среди исследованных веществ наиболее чувствительными к перечисленным факторам являются белки, поэтому при анализе механизмов и пусковых процессов ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров основное внимание нами было уделено именно этому классу соединений. Кроме того, белки выполняют как в про-, так и в

эукариотических клетках ряд жизненно-важных функций, поэтому исследование механизмов воздействия ЭПП на молекулы протеинов может быть полезно и при решении целого ряда прикладных задач плазменной медицины: плазменной стерилизации, плазменно-стимулированным клеточной регенерации и свертыванию крови.

7.5.1 Нагрев обрабатываемого материала

Нагрев обрабатываемого биоматериала вследствие прямого взаимодействия высокоэнергетических электронов ЭП, а также прямой передачи тепла от плазменного облака к образцу может привести к тепловой денатурации белков и тепловой деградации полисахаридов (известно, что тепловая денатурация БСА, лизоцима, фибрин-мономера и фибриллярного коллагена происходит уже при 50-65 °С).

В ходе проведенных экспериментов было показано, что даже кратковременное нагревание БСА (в течение 30 с) до 70 °С в процессе его пучково-плазменной обработки приводило к полной деградации белковых молекул (раздел 5.1.2). Таким образом, при ЭПП-обработке биоматериалов прежде всего необходимо исключить их разрушение вследствие нагрева.

Для предотвращения тепловой деструкции биополимеров в процессе ЭПП-обработки были специально разработаны

- система термостабилизации обрабатываемого образца, основанная на одновременном управлении по трем параметрам (сила тока пучка, давление плазмообразующего газа и угол начальной расходимости пучка);
- система управления энерговыделением в реакционном объеме для различных плазмообразующих сред (инертные газы, кислород, азот, аммиак, пары воды, твердые аэрозоли).

Предложенные технические решения и походы являются принципиально новыми и не имеют аналогов, поскольку условия соответствующих экспериментов практически не возможно реализовать с помощью установок других типов (например, газоразрядных реакторов).

7.5.2 УФ-облучение

Действие УФ-излучения может оказывать значительное влияние на структуру и, как следствие, биологическую активность биоорганических молекул в случае, если оно действует в узких полосах поглощения белка. Остальное УФ-излучение не поглощается биомолекулами, не изменяет их структуру и не вызывает их инактивацию.

В белках главными хромофорами, поглощающими УФ-излучение с λ более 280 нм являются триптофан, тирозин и цистин. Гистидин, цистеин и фенилаланин поглощают УФ в более короткой области ($\lambda \leq 240$ нм, ≤ 250 нм и ≤ 270 нм соответственно) [7.5.1, 7.5.2]. Поглощение остальных алифатических аминокислот лежит в диапазоне λ менее 230 нм. В условиях нашего эксперимента происходила генерация УФ-излучения в диапазоне $\lambda = 300-400$ нм. Таким образом, вероятно, что УФ-излучение, генерируемое в процессе ЭПП-обработки биополимеров, не оказывает существенного влияния на их структуру и свойства.

7.5.3 Рентгеновское излучение

В большинстве экспериментов не было отмечено значительных изменений в аминокислотном составе и молекулярной массе белков при рентгеновском облучении их лиофилизированных порошков в дозах до 50 кГр [7.5.3-7.5.5]. В более высоких дозах γ -излучение приводит к агрегации белков и образованию межмолекулярных ковалентных связей [7.5.6] и/или деградации протеинов [7.5.7-7.5.9].

В контрольных экспериментах (см. раздел 5.3.) также не были зарегистрированы существенные различия в молекулярной массе и содержании аминокислотных остатков между исходными фибрин-мономером и БСА и этими же белками, обработанными рентгеновским излучением. По-видимому, достаточно мягкое в условиях проводившихся экспериментов рентгеновское излучение не является главным фактором в ЭПП-стимулированной деструкции биополимеров, хотя и может вносить дополнительный вклад в изменение их структуры и свойств.

7.5.4 Действие первичных и вторичных электронов

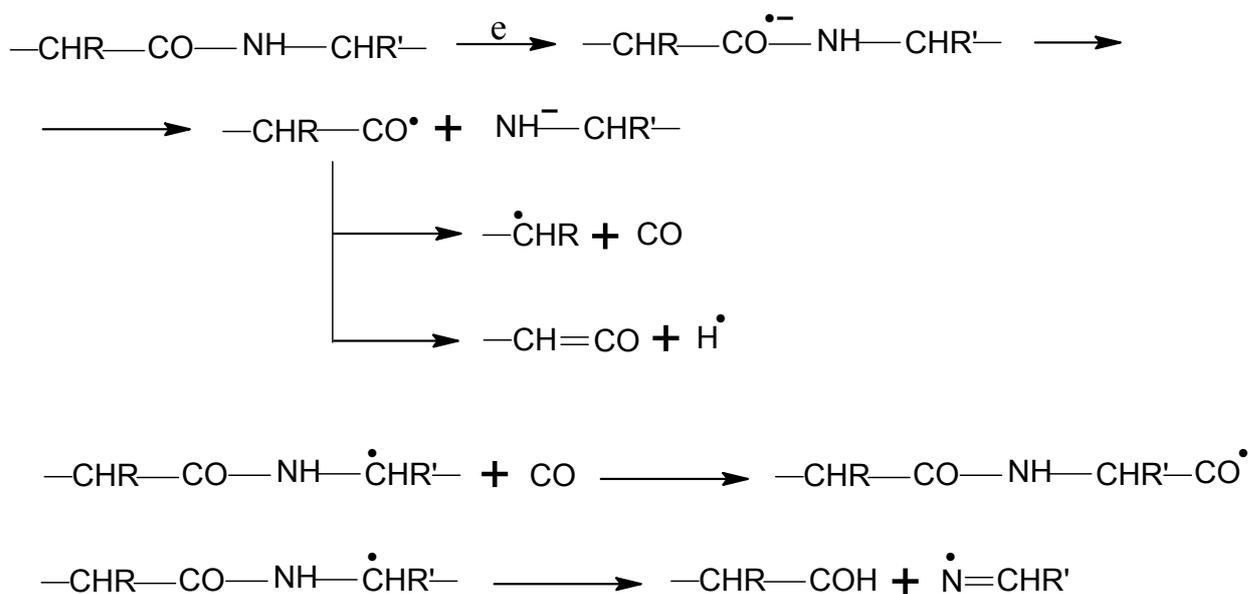
Эффекты, возникающие в результате взаимодействия электронов с белками, сведены в таблицу 7.5.1.

Облучение электронами способно вызывать изменения структуры биологических молекул, как за счет первичного повреждения, вызываемого прямым неупругим взаимодействием электронов и атомов полипептидной белковой цепи (ионизация, возбуждение), так и за счет вторичного, которое является результатом реакций белковых молекул и свободных радикалов, возникающих при первичном повреждении. Порог начала инактивации соответствует энергии электрона $\sim 10-12$ эВ, близкой к среднему потенциалу ионизации легких атомов белковой молекулы. Ионизация гораздо более эффективна в деградации белковой молекулы, чем акты возбуждения, сопровождаемые передачей энергии, меньшей потенциала ионизации [7.5.10].

Таблица 7.5.1. Эффекты, возникающие в результате взаимодействия электронов с белками

Повреждающий фактор	Результат воздействия на белковую молекулу
Нагрев	Тепловая денатурация, изменение конформации молекулы
Изменение массы	Уменьшение массы образца, перераспределение массы
Разрыв ковалентных связей	Изменение положения атомов в полипептидной цепочке, изменение конформации белковых молекул
Ионизация и изменения заряда	Изменение распределения заряда в белковой молекуле
Генерация свободных радикалов	Вторичное модифицирующее влияние

В разделе 5.3. описаны эксперименты, в которых был оценен вклад быстрых электронов ЭП в деградацию белковых молекул. Для этого порошок фибрин-мономера и тонкие пленки БСА подвергали воздействию потока быстрых электронов, отраженных от вольфрамовой пластины. При анализе молекулярных масс продуктов было показано наличие, как низкомолекулярных пептидов, так и продуктов полимеризации молекул белка, причем накопление последних нарастало с увеличением времени экспозиции. При исследовании полученных продуктов было отмечено уменьшение содержания аминокислотных остатков в образце, причем наибольшее изменения отмечались у глутаминовой и аспарагиновой кислот и серосодержащих аминокислот. Значительное снижение количества остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот свидетельствует об участии концевых карбоксильных групп в процессе:



Активными акцепторами электронов являются также дисульфидные S–S группы остатков серосодержащих кислот, SH-группы цистеина, концевые $^+\text{NH}_3$ группы полипептидных цепей и остатков лизина.

Поэтому для расчета потоков быстрых электронов, падающих на биообразец, было специально выполнено компьютерное моделирование прохождения быстрых электронов через газ и слой порошка (см. раздел 4.4.), а конструкция экспериментальной установки была оптимизирована таким образом, чтобы обеспечить контролируруемую и равномерную обработку материала. Возможность в течение длительного времени поддерживать заданный режим работы установки позволила накапливать значительные дозы облучения препаратов при мягких режимах (т.е. при малых мощностях дозы облучения). Подобный режим позволяет избежать деструкции биомолекул под действием быстрых электронов и тепла, выделяющегося при их взаимодействии с обрабатываемым биоматериалом.

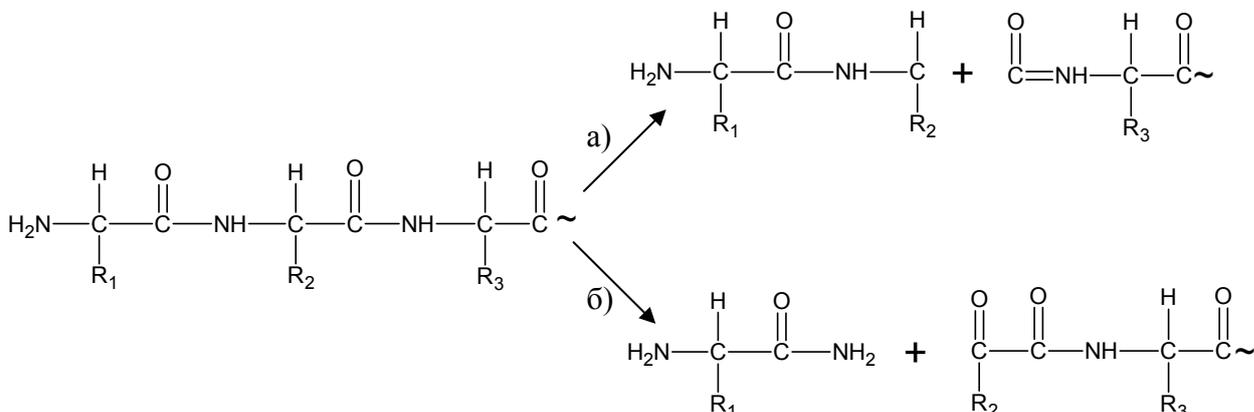
7.5.5 Действие химически активных частиц плазмы

При анализе продуктов ЭПП-обработки глобулярных и фибриллярных белков с помощью различных инструментальных методов было показано формирование многочисленных низкомолекулярных пептидов, являющееся следствием деструкции пептидных связей. При проведении хромато-масс-спектрометрии в продуктах ЭПП-обработки белков было обнаружено присутствие различных амидов и кетонов, а также продуктов окисления пролина (пирролидон, 2,5-пирролидиндион, 2-пиперидион), что дает основание предположить, по крайней мере, три механизма расщепления пептидной связи:

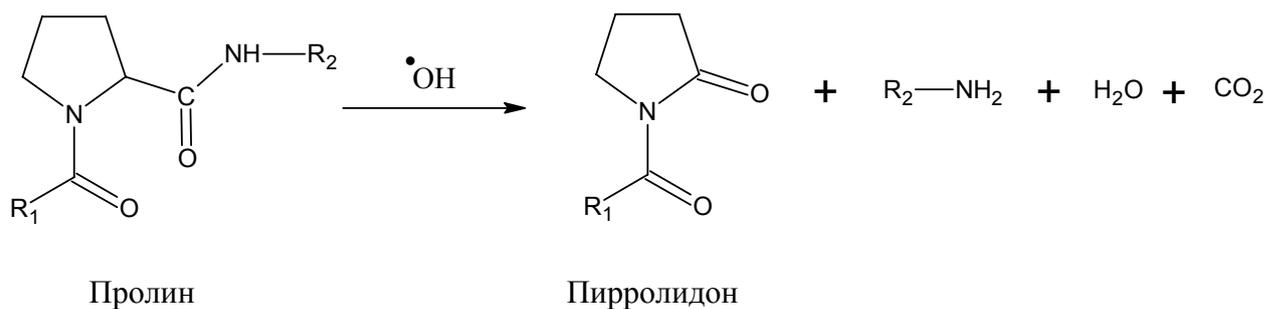
а) расщепление алкоксильных производных белков по α -амидному механизму (из N-конца исходного пептида образуется диамидное и азотноцианидное производные;

б) расщепление алкоксильных производных белков по диамидному механизму (образование из N-конца исходного пептида диамида и α -кетоацильного производного);

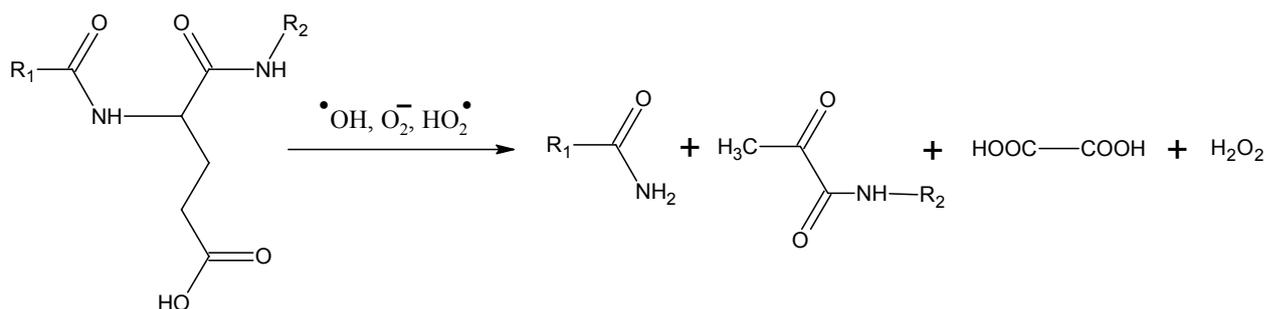
Ниже приведена схема, описывающая пути а) и б) [7.5.11]:



в) окисление боковых остатков пролина:



Уменьшение содержания глутаминовой и аспарагиновой кислот в продуктах ЭПП-обработки белков дает основание предположить еще один опосредованный окислением путь деструкции пептидной связи в исходных белковых молекулах. Данный путь инициируется, например, $\cdot\text{OH}$ -опосредованным отщеплением атома водорода от γ -углеродного атома боковой цепи, за которым следует расщепление пептидной связи. При этом фрагмент, образованный из N-концевой части исходного полипептида, представлен амидом, а из C-концевой – пирувильной частью [7.5.11]:

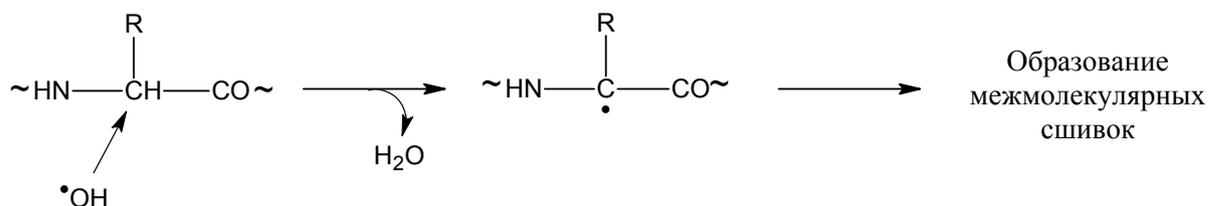


При обработке БСА в ЭПП аргона ($\tau = 5$ мин) наблюдалась максимальная степень деструкции (по сравнению с БСА, обработанным в ЭПП кислорода и водяного пара), что было показано при определении концентрации белка в образце, электрофорезе в полиакриламидном геле и определении содержания аминокислотных остатков. Значительная деструкция белковых молекул может следствием прямой деградации пептидных связей и боковых цепей аминокислотных остатков под влиянием тяжелых частиц ЭПП аргона. В ряде работ [7.5.12-7.5.16] показан разрыв полипептидной цепи и разрушение аминокислот при обработке белков тяжелыми ионами и атомами неона, аргона, криптона, ксенона, золота и тория.

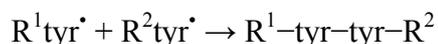
Процессы деструкции белков при их ЭПП-обработке сопровождались полимеризацией белковых молекул с образованием высокомолекулярных агрегатов, что было установлено при проведении гельпроникающей хроматографии. Хотя формирование высокомолекулярных продуктов отмечалось и при обработке образцов быстрыми

электронами пучка, радикальные процессы, инициируемые активными частицами плазмы (в основном активными формами кислорода (ROS) и продуктами плазмолиза воды), могут также стимулировать образование внутри- и межмолекулярных сшивок по следующим механизмам:

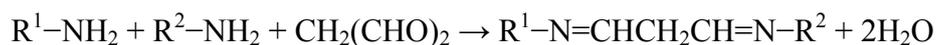
а) Взаимодействие двух алкильных радикалов, возникших при окислении пептидной связи или боковых цепей аминокислотных остатков [7.5.11]:



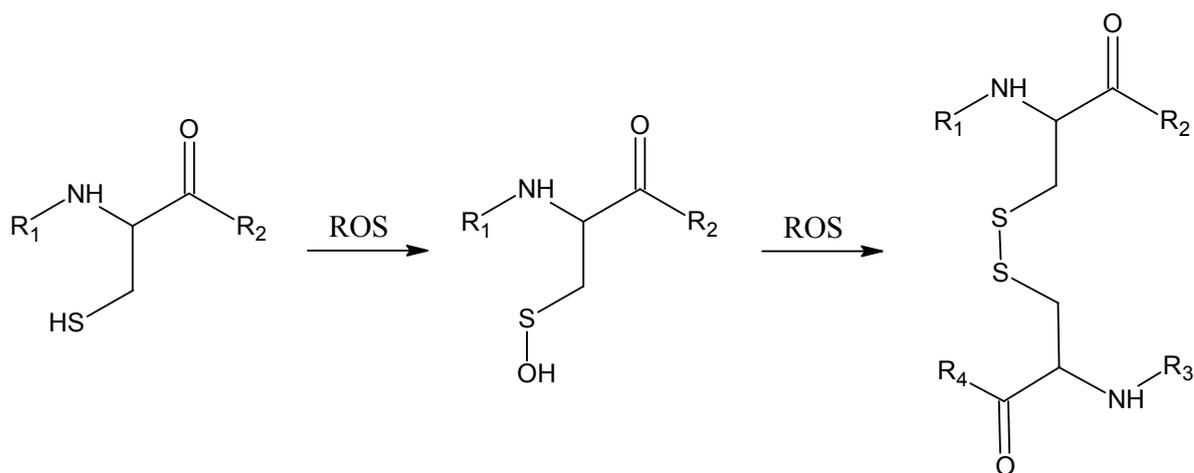
б) Взаимодействие двух радикалов тирозила, в результате которого образуется 2,2'-биторзин:



в) Взаимодействие между диальдегидами с аминогруппами лизина, принадлежащими разным белковым молекулам:



г) Окисление цистеина: при денатурирующем электрофорезе полиакриламидном геле ЭПП-обработанных белков не было обнаружено крупномолекулярных продуктов. Так как используемый при постановке данной методики β-меркаптоэтанол восстанавливает -S-S- связи, отсутствие крупномолекулярных продуктов при проведении PAGE может косвенно свидетельствовать об образовании между исходными белковыми молекулами ковалентных дисульфидных связей.



Соотношение выхода низко- и крупномолекулярных продуктов зависит от параметров ЭПП-обработки, структуры исходного белка и способа подготовки образца. ЭПП-обработка порошкообразных фибриллярных белков с большой молекулярной массой

приводит к формированию главным образом низкомолекулярных соединений, в то время как модификация глобулярных протеинов в основном сопровождается их частичной полимеризацией, что было показано при ЭПП-обработке БСА. Полученные данные полностью согласуются с результатами других исследователей: при воздействии на протеины ионизирующих излучений происходила деградация фибриллярных белков (за счет разрыва пептидных и дисульфидных связей) и агрегация глобулярных белковых молекул [7.5.3, 7.5.17, 7.5.18].

Помимо деструкции пептидных связей химически активные частицы ЭПП способны окислять боковые радикалы аминокислот, входящие в состав полипептидной цепи. Наиболее активными окислителями являются радикалы $\cdot\text{OH}$, чьи константы скоростей реакции с большинством аминокислот очень высоки (10^8 - 10^9 л×моль⁻¹×с⁻¹), а также синглетный кислород, основные мишени которого цистеин, метионин, триптофан, тирозин и гистидин (константы скорости реакций $8,9 \times 10^6$ - $3,2 \times 10^7$ л×моль⁻¹×с⁻¹) [7.5.1, 7.5.19]. Следует отметить, что синглетный кислород может взаимодействовать с аминокислотными остатками не только химически, но и вступая в реакции физического гашения [7.5.20], т.е. в передачу энергии от $^1\text{O}_2$ аминокислотному остатку и релаксации синглетного кислорода до триплетного состояния:



Особенно активны при этом аминокислотные остатки триптофана, метионина, гистидина ($k_q \approx 2-5 \times 10^7$ л×моль⁻¹×с⁻¹). Активность других остатков на 1-2 порядка ниже.

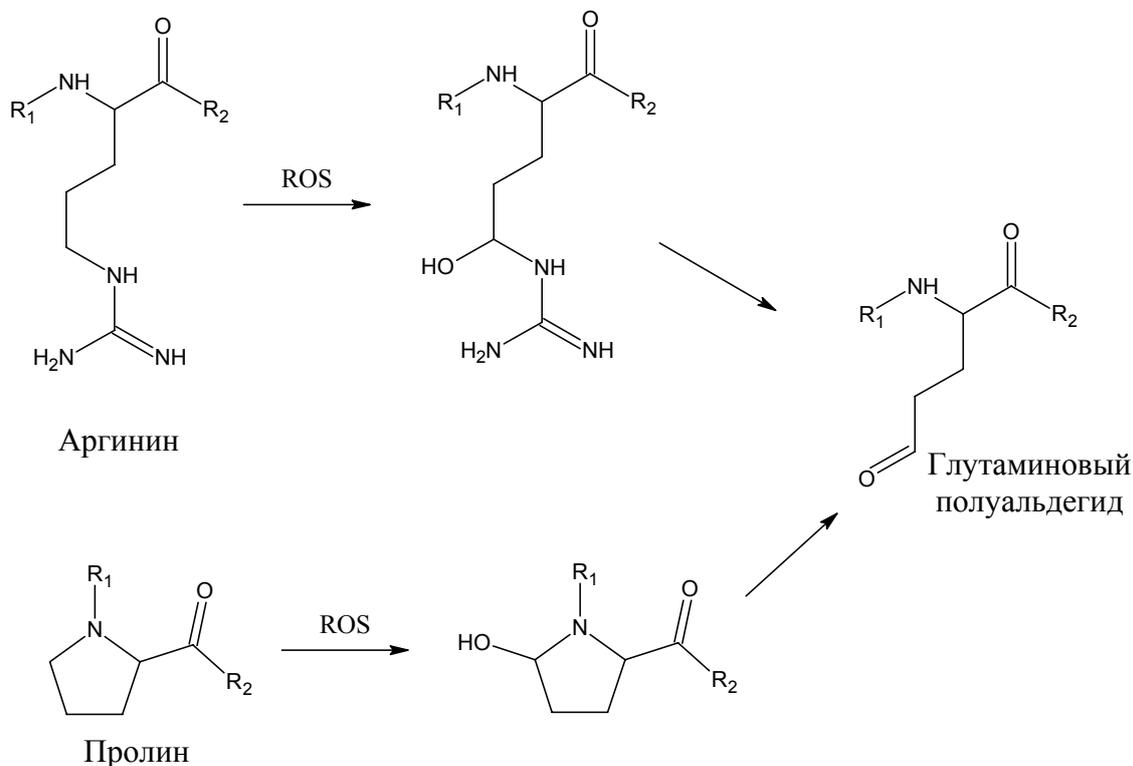
Таблица 7.5.2. Свойства некоторых активных форм кислорода [7.5.21]

Свойство	Синглетный кислород $^1\text{O}_2$	Супероксид анион радикал $\text{O}_2^{\cdot-}$	Перекись водорода H_2O_2	Гидроксильный радикал $\cdot\text{OH}$
Период полураспада в биологических системах	1 мкс	1 мкс	1 мс	1 нс
Пробег*	30 нм	30 нм	1 мкм	1 нм
Реакции с аминокислотными остатками белков	Trp, His, Tyr, Met, Cys	Fe-S-центры белковых молекул	Цистеины	Быстро с Cys, Met, Trp, Tyr, Phe
Реакции с полисахаридами	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Быстро

* - пробег за период полураспада при коэффициенте диффузии 10^{-9} м²/с

В образовании продуктов окисления белков участвуют и другие формы активного кислорода: озон и атомы О. К ним наиболее чувствительны остатки цистеина, метионина, триптофана, тирозина, гистидина, цистина, фенилаланина. Константы скоростей таких реакций составляют порядка $10^3 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$. Частицы $\text{HO}_2^{\cdot} / \text{O}_2^{\cdot -}$ крайне медленно реагируют с аминокислотами, входящими в состав белков (константы скоростей реакций $k = 10\text{-}10^2 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$), и практически не влияют на их структуру и свойства [7.5.23-7.5.25]. Краткая характеристика свойств активных форм кислорода приведена в таблице 7.5.2.

При проведении хромато-масс-спектрометрии продуктов, полученных при ЭПП-обработке белков, были обнаружены различные производные 2-фуранона, являющиеся продуктами радикального окисления некоторых аминокислот (например, треонина и лейцина) [7.5.21], а также глутаминовый полуальдегид, образующийся при окислении остатков пролина и аргинина [7.5.21].



В результате анализа молекулярных масс продуктов, полученных при ЭПП-обработке хитозанов, было показано формирование низкомолекулярных хитоолигосахаридов, что, вероятно, связано с действием активных частиц плазмы (особенно активных форм кислорода) на β -1,4 гликозидные связи природного биополимера. На рис. 7.5.1. приведен механизм деструкции хитозана под действием гидроксильного радикала, образующегося в ЭПП паров воды.

Во всех исследованных образцах было установлено наличие примеси высокомолекулярных соединений, нерастворимых в воде. При этом, чем выше была молекулярная масса исходного хитозана, тем интенсивнее происходила наработка нерастворимых соединений. Образование побочных нерастворимых продуктов может быть связано с процессами сшивания полисахаридных цепей или процессами внутримолекулярной циклизации, приводящей к появлению на концах полисахаридов ароматических структур (фурановых циклов), которые в условиях наших экспериментов способны полимеризоваться.

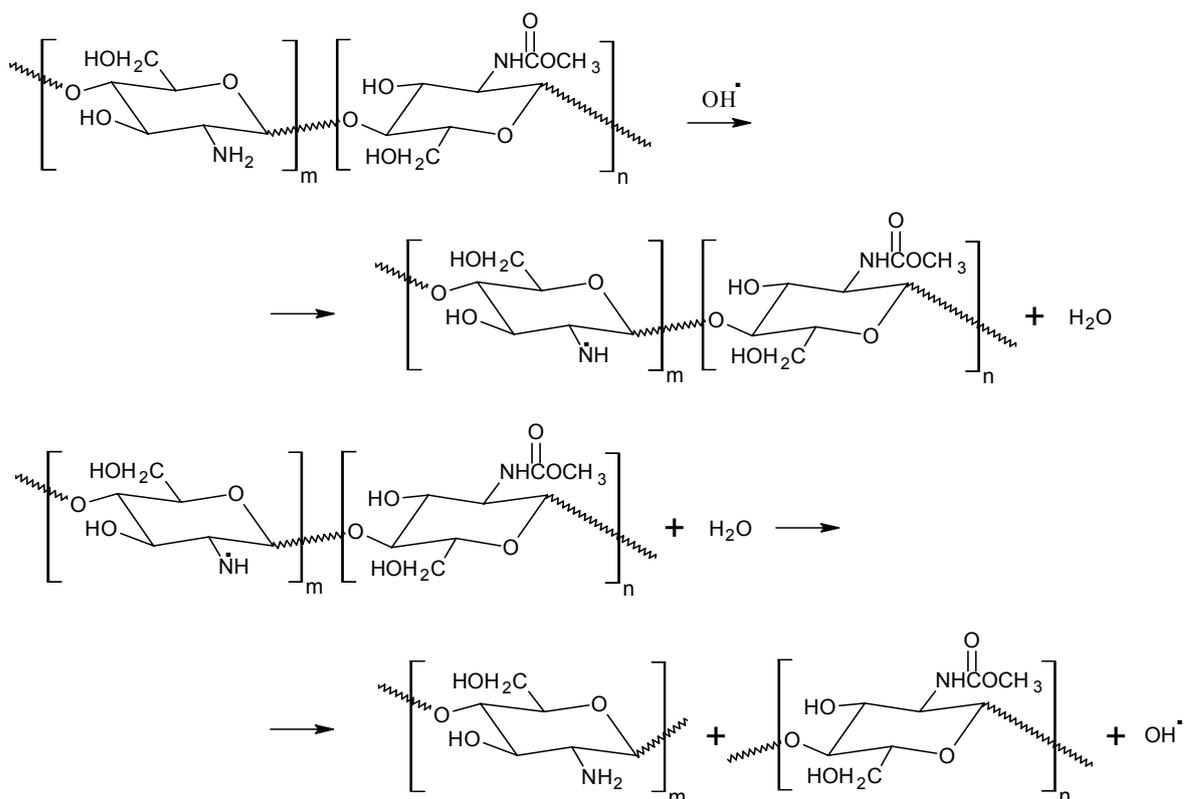


Рис. 7.5.1. Механизм деструкции хитозана под действием гидроксильного радикала в ЭПП паров воды

7.6. Сравнение пучково-плазменных методов получения биоактивных соединений и материалов с технологиями, традиционно применяемыми в индустрии

Сравнение пучково-плазменных методов получения биоактивных соединений и материалов с традиционно используемыми технологиями наиболее информативно и полно можно провести на примере низкомолекулярных форм хитина и хитозана, поскольку к настоящему моменту разработано множество различных подходов к гидролизу этих полисахаридов, а сами низкомолекулярные продукты являются перспективными и востребованными в медицине, фармакологии, биологии и сельском хозяйстве.

Как уже было отмечено в разделе 5.1.3, в промышленности такие низкомолекулярные хитоолигосахариды получают главным образом химическим или реже ферментативным гидролизом. Химические процессы сопровождаются образованием значительных количеств побочных продуктов, содержащих, щелочи, кислоты, соли и требуют весьма трудоемкого выделения целевых продуктов и обезвреживания отходов перед их сбросом в окружающую среду, и требуют больших временных затрат.

Важно отметить, что гидролиз хитина вследствие его нерастворимости возможен только в гетерогенных условиях, в результате чего получаются либо дезацетилированные производные (химический гидролиз), либо ацетилированный моногликозамин с низким выходом (ферментативный гидролиз) [7.6.1]. Таким образом, олигомеры N-ацетилгликозамина в настоящее время получают путем гидролиза хитозана с последующим реацетилированием.

Известны способы повышения эффективности дезацетилирования хитина с помощью γ -облучения в дозах 2–50 кГр [7.6.2], эффективность дезацетилирования повышается при этом в среднем лишь на 10%, и остается необходимой дальнейшая обработка исходного сырья в горячем растворе щелочи. В ряде работ описано модифицирование структуры и уменьшение молекулярного веса хитозана посредством γ -облучения [7.6.3–7.6.7] и высокоэнергетических ионных пучков [7.6.3, 7.6.8–7.6.10]. При использовании данных методов величина среднего молекулярного веса исходного биополимера уменьшается только в 2–3 раза и может сопровождаться увеличением полидисперсности, как это было показано в случае протонных пучков [7.6.11, 7.6.12]. Высокоэнергетические электронные пучки (получаемые, например, на ускорителе электронов Cockcroft-Walton, 2 МэВ) применяют, в основном, для создания композитных гидрогелей на основе хитозана [7.6.12–7.6.14], для чего необходимо иметь высоконцентрированные растворы хитозана или его производных [7.6.12–7.6.15], которые получают предварительным химическим синтезом.

Преимущества пучково-плазменных методов гидролиза биополимеров перед традиционно применяемыми технологиями суммированы в Таблице 7.6.1. Как было показано в настоящей работе, ЭПП-стимулированная деструкция биополимеров является одностадийным процессом, не требующим продолжительного времени (так, для полисахаридов процесс занимает ~10 мин). Пучково-плазменные методы характеризуются высоким (до 90–95%) выходом низкомолекулярных продуктов, процесс их получения не сопровождается образованием опасных и или токсичных побочных продуктов, а также, в отличие от традиционной «мокрой» химии, выбросами и сливами, загрязняющими

окружающую среду. При этом ЭПП-стимулированной деструкцией легко управлять, варьируя параметры как электронного пучка, так и плазмообразующей среды.

Таблица 7.6.1. Преимущества обработки биополимеров в ЭПП по сравнению со стандартными методами переработки природного органического сырья (на примере гидролиза полисахаридов)

Критерий	Метод гидролиза			
	Химический	Ферментативный	Радиационное воздействие	ЭПП-стимулированный гидролиз
Время	Несколько часов/дней	Несколько часов	Обычно несколько часов	Несколько минут ($\tau \sim 10$ мин)
Эффективность	Образуются деацетилированные производные хитина Требуется реацетилирование	Низкий выход продуктов Образуются продукты с высоким индексом полидисперсности	Молекулярная масса биополимеров снижается только в 2-3 раза Образуются продукты с высоким индексом полидисперсности	Образуются продукты от димеров до пентамеров Химической модификации олигомеров хитина не происходит
Число стадий	Многостадийный процесс	Многостадийный процесс	Многостадийный процесс: требуется дополнительная обработка в щелочных растворах	Одностадийный процесс Легко управляется В реакционном объеме могут быть достигнуты весьма высокие концентрации химически активных частиц и скорости реакций
Экологическая безопасность	Использование концентрированных растворов щелочей и кислот Высокая температура Необходимость нейтрализации и очистки отходов	Экологически безопасен, требуется дополнительная очистка от использованных в процессе реагентов	Использование концентрированных растворов щелочей и кислот Необходимость нейтрализации и очистки отходов	Экологически безопасен: токсические соединения и побочные продукты не образуются «Сухой» процесс

Помимо деструкции в ЭПП и гибридной плазме возможно проводить активацию поверхности материалов органического и неорганического происхождения, модификацию

ее гидрофильно-гидрофобных свойств, функционализацию и внедрение активных химических групп и биомолекул, плазменно-стимулированный синтез (био)органических/неорганических гибридных материалов, нанесение тонких пленок и покрытий, допирование материалов биогенными элементами. При этом перечисленные процессы возможно комбинировать и сочетать между собой, что делает пучково-плазменные методы мощным инструментом для решения широкого спектра актуальных биомедицинских задач (Рис. 7.6.1).

Экспериментально установленные закономерности, связывающие параметры молекулярного строения и структуры продуктов, получаемых в плазмохимических реакциях, стимулированных электронно-пучковой плазмой, с параметрами пучково-плазменного воздействия, позволяют оптимизировать процесс обработки и функционализации, и таким образом исключить непроизводительные энергозатраты. Кроме того, методы, основанные на пучково-плазменном воздействии на вещество, легко масштабируются, что позволяет получать биоактивные продукты и материалы в количествах, достаточных для дальнейшего практического использования, а также делает пучково-плазменные технологии перспективными для внедрения в реальное производство.



Рис. 7.6.1. Актуальные медико-биологические проблемы, для решения которых могут быть использованы пучково-плазменные методы

7.7. Сравнение пучково-плазменных реакторов с плазмохимическими реакторами других типов

Задачей данного анализа являлось выявление области применения созданных пучково-плазменных реакторов, в которых они либо не имеют конкурентов, либо обладают существенными преимуществами. Для этого было проведено сравнение характеристик электронно-пучковой плазмы, возбуждаемой в типичных режимах работы таких реакторов, с параметрами плазмы различных газовых разрядов, которые обычно используются для решения биомедицинских задач.

Анализ данных, приведенных в таблице 7.7.1, показывает, что пучково-плазменные технологии могут быть с успехом применены для решения многих медико-биологических задач, относящихся к плазменной медицине (см. также Рис. 7.6.1), таких как:

- а) стерилизация медицинского оборудования и инструментария;
- б) синтез биосовместимых покрытий на поверхности имплантатов, изготовленных из металлических и полимерных органических материалов, в том числе на поверхностях сложной формы;
- в) плазменно-стимулированная функционализация органических и биоорганических полимеров, а также управление их гидрофильно/фобными свойствами, что является одним из ключевых моментов для получения новых материалов, обладающих высокой биосовместимостью с тканями живого организма и эукариотическими культуральными клетками;
- г) плазменно-стимулированный синтез гибридных и композиционных материалов для разработки ортопедических, дентальных, офтальмологических и др. имплантатов, сердечнососудистых стентов нового поколения, систем адресной доставки лекарственных препаратов, а также эффективных сорбентов для сточных вод и вредных выбросов предприятий и энтеросорбентов, сенсоров для анализа и детекции различных агентов, в том числе биоиммунных и ферментных сенсоров для выявления заболеваний на ранних стадиях;
- д) активных агентов для терапии и профилактики заболеваний, биостимуляторов роста растений и фитопротекторов.

Созданный в ходе выполнения диссертационной работы пучково-плазменный реактор выгодно отличается от других рассмотренных устройств генерации плазмы:

- а) высокой воспроизводимостью условий обработки материалов;
- б) возможностью эффективного управления плазменно-стимулированными процессами, протекающими в ЭПП, за счет независимого варьирования характеристик как электронного пучка (энергия электронов E_b , ток пучка I_b , плотность тока пучка j_b , режим

сканирования), так и плазмообразующей среды (давление P_m , температура T_m , химический состав).

Следует особо отметить, что подобная регулировка параметров ЭПП-воздействия в созданном реакторе полностью автоматизирована, является безинерционной и позволяет контролируемо управлять режимами обработки в широких пределах, а также обеспечить однородность реакционного объема и глубоко регулировать в нем плотность энерговыведения. Однородность реакционного объема в ЭПП сохраняется:

- а) в широком диапазоне давлений (10^{-2} - 10^2 Торр);
- б) при внесении в него массивных изделий сложной геометрии и диспергированных порошков различных веществ, т.е. в условиях, когда обеспечить однородность реакционного объема плазмы газовых разрядов технически крайне сложно.

В пучково-плазменных реакторах удается получать большие объемы химически активной плазмы, не загрязненной посторонними примесями, например – продуктами эрозии электродов. Значительные размеры реакционного объема, позволяют получать продукты плазмохимической модификации биоматериалов в количествах, достаточных для их коммерческого использования. При этом удается добиться высокой равномерности обработки и, как следствие – гомогенности получаемых продуктов. Быстрые электроны первичного пучка, присутствующие в ЭПП, могут в ряде случаев запускать такие физико-химические процессы в обрабатываемом материале, которые не стимулируются плазмой, генерируемой другими способами.

Возможность длительно поддерживать заданный режим работы реактора обеспечивает накопление значительных доз облучения препаратов в мягких режимах (т.е. при малых мощностях дозы облучения). Это позволяет не только повысить однородность плазмохимической модификации, но и избежать деструкции биомолекул под действием быстрых электронов и тепла, выделяющегося при их взаимодействии с обрабатываемым биоматериалом. При этом эффективность передачи энергии обрабатываемому материалу достигает 90-95%, что значительно превышает эффективность плазмы газовых разрядов и позволяет существенно сократить время обработки материалов (с нескольких часов до нескольких минут).

Помимо высокой эффективности процесса обработки, однородности реакционного объема и легкости управления, разработанные пучково-плазменные реакторы, характеризуются возможностью осуществлять:

- а) инъекцию ЭП не только в неподвижный газ, но и в газовые потоки, имеющие скорость вплоть до звуковой, что позволяет дополнительно интенсифицировать процессы, протекающие в реакционном объеме;

б) инъекцию электронного пучка в плазму, возбуждаемую другим источником (например, ВЧ-разрядом), с целью генерации гибридной плазмы и формирования плазменно-пылевых структур. Устройства с управляемым электронным пучком реакционным объемом, содержащим плазменно-пылевые структуры, оказались перспективными для синтеза многокомпонентных покрытий и супрамолекулярных комплексов, содержащих фармакологически активные вещества.

Таким образом, пучково-плазменный реактор может быть позиционирован как многофункциональная плазмотехническая система, способная генерировать большие однородные объемы сильнонеравновесной, чистой, химически активной плазмы в гетерофазной плазмообразующей среде. Перечисленные выше особенности в сочетании с высокой эффективностью передачи энергии в реакционный объем и хорошей управляемостью при реализации технологических процессов в широких диапазонах изменения параметров, характеризующих эти процессы, определяют уникальность пучково-плазменных реакторов по сравнению с известными плазмохимическими реакторами и их конкурентоспособность на рынке плазменных медико-биологических технологий.

Таблица 7.7.1. Сравнение характеристик плазмохимических реакторов на основе генераторов плазмы различных типов

Параметр	Способ генерации низкотемпературной плазмы							
	Барьерный разряд (DBD)	Тлеющий разряд постоянного тока	Коронный разряд	ВЧ-разряд (плазменная игла)	СВЧ-разряд (плазменный факел)	Дуговой разряд	Высокотемпературный ВЧИ-плазмотрон	ЭПП, получаемая в типичных режимах работы разработанного ЭППР
Напряжение, В	$5 \times 10^3 - 2 \times 10^4$	$10^2 - 10^3$	$10^4 - 10^5$	$10^2 - 5 \times 10^2$	$10^2 - 5 \times 10^2$	$10^2 - 5 \times 10^2$		$(20-60) \times 10^3$
Ток, А	$10^{-3} - 10$	$10^{-4} - 5 \times 10^{-1}$	$10^{-6} - 10^{-1}$	$10^{-3} - 10^3$	$10^{-3} - 10^3$	10-100	1-100 А	0-0,2
Частота тока, Гц	$10 - 10^5$	DC	DC	$10^3 - 10^5$	$3 \times 10^5 - 10^6$	DC	440 кГц - 30 МГц	DC
Давление газа, Па	$10^1 - 10^5$	1- 10^3	$10^{-1} - 10^5$	1- 10^2	$10^3 - 10^4$	$10^4 - 10^6$	$\sim 10^5$	$10^1 \div 10^4$
Расход газа, ст.м ³ /ч	$10^{-2} - 1$	10- 10^2	1- 10^2	$10^{-2} - 10$	$10^{-2} - 1$	$10^{-1} - 10$	120 до 350 л/час	$0 \div 10$
Плотность плазмы (n_{ep})	Высокая	Низкая	Локально высокая	Высокая	Высокая	Высокая	Средняя	Очень высокая (до 10^{13} см ⁻³)
Температура электронов	$T_i \ll T_e \leq 10^4 - 10^5$ К					$T_e < 4 \times 10^3 - 10^4$ К		$10^3 - 10^8$ К (0,1 эВ \div E_b)
Температура газа	$T_i \approx T_g \approx 300 - 400$ К	$T_i \approx T_g \leq 4 \times 10^3$ К	$T_i \approx T_g \approx 300 - 400$ К	$T_i \approx T_g \leq 4 \times 10^3$ К При использовании специальных конструкций: $T_i \approx T_g \approx 300 - 400$ К		$T_i \approx T_g \approx T_e$ 700-11000 К		$300 \div 1000$ К
Плазмообразующий газ	Воздух, инертные газы, специальные газовые смеси	Воздух, инертные газы, специальные газовые смеси	Воздух, специальные газовые смеси	Инертные газы	Инертные газы, смесь инертный газ/кислород(воздух)	Воздух, инертные газы, специальные газовые смеси		Газы, пары и парогазовые смеси <u>любого</u> химического состава
Эффективность передачи энергии, %	30-40	Менее 10%	90-95	50-70	30-60	70-90	70-90	90-95
Размер реакционного	$\sim 10^{-3}$	$\sim 10^0$	$\sim 10^{-4}$	$\sim 10^{-4}$	$\sim 10^{-3}$	$\sim 10^0$	$\sim 10^0$	$\sim 10^{-2}$

объема, м ³								
Однородность	Высокая при низких давлениях. Низкая при давлениях, превышающих единицы Торр. Существует вероятность контракции и филаментации разряда		Низкая	Низкая. Существует вероятность перегрева и термического повреждения обрабатываемого биоматериала		Высокая при интенсивной продувке газа	Низкая.	Высокая, Плазменный объем не контрагирует при высоких давлениях, условия обработки полностью воспроизводимы
Управляемость	Средняя	Средняя	Низкая	Низкая	Низкая	Средняя	Средняя	Высокая
Наличие электродов	Есть	Есть	Есть	Нет	Нет	Есть	Нет	Нет
Известные медико-биологические приложения	1) Стерилизация медицинского оборудования 2) Обработка хронических ран и хронических язв (стерилизация, лечение воспалительных заболеваний и хронических язв, ускорение клеточной регенерации) 3) Тканевой инжиниринг 4) Обработка органических полимеров, создание биосовместимых покрытий и материалов	1) Стерилизация медицинского оборудования 2) Обработка и функционализации полимеров, создание биосовместимых покрытий и материалов. 3) Плазменно-стимулированный синтез комбинационных материалов на основе органических полимеров	1) Стерилизация медицинского оборудования, сточных вод и т.п. 2) Улучшение гидрофильности органических материалов (например, шерсти и хлопка)	1) Стерилизация зубных каналов и полостей 2) Тканевой инжиниринг Не возможна обработка объектов, имеющих большую площадь	1) Стерилизация медицинского оборудования 2) Обработка хронических ран и хронических язв, лечение воспалительных заболеваний и хронических язв, ускорение клеточной регенерации) 3) Косметология 4) Тканевой инжиниринг	1) Рассечение тканей при хирургических операциях 2) Напыление покрытий на поверхность имплантатов 3) Синтез углеродных наночастиц, нанотрубок, нанопорошков, нанопленок 4) Сжигание биологических отходов	Сжигание биологических отходов	1) Стерилизация медицинского оборудования 2) Плазменно-стимулированный синтез биосовместимых покрытий на поверхности металлических изделий, в том числе на поверхностях сложной формы 3) Плазменно-стимулированная функционализация органических и биоорганических полимеров, получение биосовместимых материалов 4) Управляемая деструкция биополимеров, получение биоактивных низкомолекулярных соединений –

								потенциальных лекарственных веществ 5) Плазменно-стимулированный синтез многокомпонентных покрытий и супрамолекулярных комплексов, в том числе и на распределенной в реакционном объеме матрице
--	--	--	--	--	--	--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ВЫВОДЫ

1) Созданы и отлажены лабораторные образцы пучково-плазменных реакторов различных модификаций, в которых были реализованы следующие плазменно-стимулированные процессы получения биоактивных соединений и материалов:

- целенаправленная управляемая деструкция сложных биоорганических полимеров – белков и полисахаридов;
- управляемая модификация и функционализация поверхности неорганических и биополимерных материалов, сопровождающаяся изменением их гидрофильно-гидрофобных свойств и приобретением биологической активности;
- синтез неорганических биоактивных покрытий на поверхности металлических изделий - компактных твердых тел сложной геометрии и частиц дисперсных порошков;
- осаждение однослойных и многослойных покрытий неорганической и органической природы в различных комбинациях на порошки биополимеров и материалы, изготовленные из таких порошков;
- допирование углерода в аллотропных модификациях графена и нанотрубок атомами неметаллов.

Принцип действия реакторов основан на генерации сильнонеравновесной химически активной плазмы инъекцией концентрированных непрерывных или импульсно-периодических электронных пучков в газы, пары и аэрозоли различного химического и фазового состава при давлениях 0,1-100 Торр, а также на использовании гибридной плазмы, генерируемой инъекцией электронных пучков в область ВЧ-разряда.

2) Сформулированы физико-химические основы технологических процессов получения биоактивных соединений и материалов в пучково-плазменных реакторах, а также принципы конструирования таких реакторов. Показано, что специфические биологические свойства получаемых продуктов достигаются благодаря уникальной совокупности физических и плазмохимических процессов, реализующихся в реакторах данного типа, а именно:

- высокой химической активности плазмы, возбуждаемой электронным пучком в неравновесных условиях; при этом наиболее существенный вклад вносят плазмохимические реакции с участием нейтральных частиц плазмы, особенно атомарного и синглетного кислорода и гидроксильных радикалов.
- воздействием на вещество высокоэнергетичных электронов и излучений различной

физической природы (оптического и рентгеновского), а также возможным тепловым воздействием плазмы.

3) В разработанных реакторах получены: активные агенты для фармакологии, сельского хозяйства, пищевой промышленности, эффективные гемостатические материалы на основе полисахаридов, оксидные покрытия с улучшенной биосовместимостью, комплексы «биополимер-низкомолекулярное органическое соединение», углеродные материалы, легированные атомами азота и серы. Анализ специфических биологических свойств продуктов, полученных в результате пучково-плазменного воздействия показал, что:

- Низкомолекулярные пептиды, полученные при деструкции фибрин-мономера в электронно-пучковой плазме гелия и паров воды, ингибируют агрегацию тромбоцитов человека в конечных концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл.
- Хитоолигосахариды, полученные при гидролизе хитозана в электронно-пучковой плазме кислорода, в концентрации 500 мкг/мл практически полностью ингибируют рост микромицетов и обладают антимикробным эффектом в отношении покоящихся и размножающихся штаммов кишечной палочки и золотистого стафилококка в концентрации 1000 мкг/мл.
- Гемостатическая активность тонких пленок хитозана и модифицированных и губок на основе альгината натрия, модифицированных электронно-пучковой и гибридной плазме кислорода и аммиака, возрастает более чем на 50% по сравнению с традиционно используемыми в медицине перевязочными материалами. При этом удается реализовать прочное ковалентное связывание полисахаридной основы губки и белка естественного активатора свертывания крови (тромбина).
- Оксидные покрытия, синтезированные на поверхности изделий из титановых сплавов, обладают повышенной гидрофильностью по сравнению с поверхностью необработанного материала и способностью эффективно преципитировать гидроксипатит. Синтез TiO_2 -покрытия сопровождается развитием поверхности и сглаживанием ее микрорельефа.

4) Для перечисленных процессов установлено, что индуцированная пучково-плазменным воздействием на вещество биологическая активность продуктов определяется синтетическим параметром $G = q_i \tau$, который является произведением плотности потоков химически активных частиц ЭП q_i , падающих на поверхность обрабатываемого

материала, и времени контакта поверхности с плазмой τ , а также температурой поверхности T_s . При этом:

- Величины q_i и T_s могут быть вычислены с использованием верифицированных в настоящей работе методов компьютерного моделирования ЭПП, основанных на самосогласованном решении электронно-кинетических, молекулярно-кинетических, тепловых и электрофизических задач с учетом плазмохимических превращений, происходящих в газе и твердом теле в неравновесных условиях.
- Параметры, характеризующие биологическую активность продуктов и их выход, зависят от параметра G пороговым образом: по мере увеличения G выход биоактивных продуктов сначала слабо возрастает; при достижении некоторого порогового значения G эффект резко усиливается, после чего выход биоактивных продуктов перестает расти.
- Когда параметр G значительно превышает пороговое значение (например, при длительной обработке), может наблюдаться снижение биологической активности целевых продуктов и появление нежелательных побочных продуктов.

5) Предложены способы управления процессами, протекающими в реакционном объеме (т.е. величинами q_i и T_s), и обеспечения его устойчивости, посредством совместного варьирования параметров инжектируемого электронного пучка, давления плазмообразующего газа и его химического состава. При этом установлено, что:

- Наивысшая степень деструкции молекул биополимеров (белков и полисахаридов) достигалась при обработке порошков и пленок этих соединений в ЭПП кислорода и паров воды. Сопровождающее деструкцию изменение содержания аминокислотных остатков в белках и выхода водорастворимых продуктов из хитозана зависит от времени обработки образца пороговым образом. В условиях проводившихся экспериментов ($T_s \leq 70^\circ\text{C}$) оптимальное время обработки составляло 5 мин для большинства исследованных белков и 2 мин для хитозанов с исходной молекулярной массой 13-500 кДа.
- В результате обработки в электронно-пучковой плазме кислорода и водяного пара при достаточно низких температурах ($T_s \approx 400-500^\circ\text{C}$) на поверхности плоских и трубчатых изделий, изготовленных из сплавов титана, формируется слой TiO_2 в форме рутила. Скорость синтеза, стимулированного пучковой плазмой, на 2-3 порядка выше, чем скорость формирования оксидного слоя при обычной химико-термической обработке в равновесных условиях.

- В гибридной плазме удается создать условия для эффективного синтеза композиционных гемостатических материалов и комплексов «биополимер-низкомолекулярное лекарственное органическое соединение».
 - На примере графена показано, что в гибридной плазме аммиака и паров серы происходит эффективное допирование углеродных материалов атомами азота и серы; при этом содержание внесенных примесей может достигать 3%, что сопоставимо с лучшими результатами, полученными другими исследователями.
- 6) Для пучково-плазменных реакторов с реакционной зоной, содержащей дисперсные порошки различной природы, найдены условия генерации плазмы, при которых реакционный объем сохраняет устойчивость в диапазоне температур 300-1000 К. Предложены способы организации реакционной зоны, обеспечивающие однородную обработку порошкообразных материалов в количествах, достаточных для практического применения.
- 7) Применительно к решению биомедицинских задач проведено сравнение характеристик устройств, использующих электронно-пучковую плазму, и плазму газовых разрядов, которое позволило выявить области применения созданных пучково-плазменных реакторов, где они либо не имеют конкурентов, либо демонстрируют существенные преимущества. Показано, что разработанные способы и устройства могут рассматриваться как основа технологий получения многослойных биоактивных композитов и гибридных гемостатических материалов, а также низкомолекулярных пептидов и олигосахаридов, которые могут служить активными агентами для фармакологии, сельского хозяйства, пищевой промышленности, косметологии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**1. Статьи**

1. T.M. Vasilieva The Properties of Peptides Modified by the Electron-Beam Plasma Nanotechnologies // Peptide Science 2006: H. Ishida and H. Mihara (Eds.) The Japanese Peptide Society (2006) – P. 386-387.
2. M. Vasiliev, T. Vasilieva Electron-beam plasma in the production of bioactive agents and drugs // J. Phys.: Conf. Ser. – 2006. – V.44. Issue 1. – P. 140-145.
3. T. Vasilieva, S. Lysenko Factors responsible for biomaterials modification in the electron-beam plasma // J. Phys.: Conf. Ser. – 2007. – V.63. Issue 1. – P. 012033.
4. T.M. Vasilieva The modification of proteins by non-equilibrium plasma – the novel technique for the production of platelet aggregation inhibitors // J. Thromb. Haemost. – 2007. – V.5. Supplement 2. - P-W-701.
5. T.M. Vasilieva The controllable production of peptides inhibiting the platelet aggregation by the electron-beam plasma technologies // Peptide Science 2007: S. Aimoto and S. Ono (Eds.) The Japanese Peptide Society (2008) – P. 35-38.
6. Т.М. Васильева, Д.Г. Чухчин Исследование влияния пучково-плазменной модификации фибрин-мономера на его биологические свойства // Химия высоких энергий – 2008. – Т.45, N5. – С. 451-455.
7. T. M. Vasilieva, A. H. Mahir, M. N. Vasiliev The Electron Beam Plasma treatment — the novel approach to the controllable modification of the proteins and polysaccharides bioactivity // Sensor Lett. – 2008. - V. 6, N 4. – P. 496–501.
8. T. Vasilieva, A. Mahir The application of the dusty electron-beam plasma for the production of novel effective platelet aggregation inhibitors // VDI Berichte – 2008. – Iss. 2027. – P. 237-240.
9. Т.М.Васильева, Д.В. Баяндина Экспериментальный комплекс для исследования рабочих процессов в пучково-плазменных реакторах биомедицинского назначения // Приборы и техника эксперимента – 2010 - Т.53, N2, С.142-150.
10. T.M. Vasilieva A beam-plasma source for protein modification technology // IEEE Transactions on Plasma Science – 2010. - V.38, Iss. 8. – P. 1903-1907.
11. Т.М. Васильева, Д.Г. Чухчин Сравнительный анализ структуры продуктов плазмохимической модификации глобулярных и фибриллярных белков // Химия высоких энергий – 2010. – Т.44, N5. – С. 468-475.
12. Т.М. Васильева, С.Л. Лысенко, В.А. Кукареко Плазменно-стимулированный синтез оксидов на внутренней поверхности титановых труб // Физика и химия обработки материалов – 2010. – N5. – С. 29-36.

13. Т.М. Васильева Экспериментальное исследование синтеза супрамолекулярных комплексов в гибридной пылевой плазме // Химия высоких энергий – 2011. – Т.45, N1. – С. 69-75.
14. T. Vaislieva, S. Lysenko, D. Bayandina, M. Vasiliev Electron beam transport in dusty plasma // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A – 2011. - V.645. – P. 90-95.
15. Т.М. Vasilieva The supramolecular complexes production in dust-plasma structures controlled by the electron beam plasma // IEEE Transactions on Plasma Science – 2011. - V.39, Iss. 11. – P. 2742 - 2743
16. Т.М. Васильева, С.Л. Лысенко, В.А. Кукареко, И.Л. Поболь, М.Н. Васильев Управление процессом синтеза оксидов титана в электронно-пучковой плазме // Физика и химия обработки материалов – 2011. – N6. – С. 23-34.
17. Т.М. Vasilieva Application of electron beam plasma for biopolymers modification // J. Phys.: Conf. Ser. – 2012. – V.370. – P. 012012.
18. Т.М. Васильева, К.В. Балакин Управляемая деградация биополимеров для биомедицинских задач в электронно-пучковой плазме кислорода и паров воды // Известия ВУЗов. Химия и химическая технология – 2013. – Т.56, N8. – С. 50-58.
19. Т.М. Vasilieva Self-organisation of regular dusty structures in plasma trap // Int. J. Nanotechnol. – 2014. – V.11, N5/6/7/8. – P. 669-675.
20. Т.М. Vasilieva, I. Sokolov, A. Sigarev, Aung Tun Win Synthesis of bioactive titanium oxide coatings stimulated by electron-beam plasma // Open Chem. (Central European Journal of Chemistry) – 2015. – V.13. – P. 204-211.
21. Т.М. Васильева Плазмохимические технологии в биологии медицины: современное состояние проблемы // Тонкие химические технологии. – 2015. – Т. 10, N5. – С. 5-19.
22. Т.М. Vasilieva, I.V. Sokolov Electron-beam plasma applications for synthesis of bioactive titanium oxide coatings // J. Phys.: Conf. Ser. – 2015. – V.591. – P. 012045.
23. M. Rybin, A. Pereyaslvtsev, T.Vasilieva, V. Myasnikov, I. Sokolov, A. Pavlova, E. Obraztsova, A. Khomich, V. Ralchenko, E. Obraztsova Efficient nitrogen doping of graphene by plasma treatment // Carbon – 2016. - V.96, N1. – P. 196-202.
24. A. Pereyaslvtsev, M. Rybin, T.Vasilieva, V. Myasnikov, I. Sokolov Experimental study of nitrogen-doped graphene by spectroscopic and probe methods of surface analysis // J. Nanophoton. – 2016. – V.10, N1 – P. 012521.
25. Т.М. Васильева, С.Л. Лысенко Экспериментальное исследование и компьютерное моделирование формирования устойчивого реакционного объема в электронно-

пучковых плазмохимических реакторах // Теоретические основы химической технологии – 2016. – Т.50, N1. – С. 100-108.

26. Т.М. Васильева, С.А. Лопатин, В.А. Варламов Получение низкомолекулярных форм хитина и хитозана в электронно-пучковой плазме // Химия высоких энергий – 2016. – Т.50, N2. – С. 155-159.

2. Тезисы докладов

27. T. Vasilieva, S. Lysenko Mechanisms of the electron-beam plasma action on biomaterials // 2-nd Int. Workshop & Summer School on Plasma Physics. July 3-9, 2006, Kiten, Bulgaria. – P. 21.
28. T. Vasilieva The Electron Beam Plasma application for the controlled protein modification // European Bioperspectives. 30 May-1 June 2007. Cologne, Germany. – P.487.
29. T. Vasilieva, A. Mahir The controllable production of peptides inhibiting the platelet aggregation by the electron-beam plasma technologies // 44th Japanese peptide symposium. 7-9 November 2007. Toyama, Japan. – P. 10.
30. Т.М. Васильева, Д.Г. Чухчин Плазмохимическая модификация белковых молекул в электронно-пучковой плазме паров воды // V Международный симпозиум по теоретической и прикладной плазмохимии. – 3-8 сентября 2008, Иваново, Россия, Т. 2. С. 364-367.
31. T. Vasilieva, A. Mahir The protein modification in the electron beam plasmachemical reactor with the aerosol reaction bulk // 35th IEEE International Conference on Plasma Science. – 15-19 June 2008, Karlsruhe, Germany, P. 424.
32. T. Vasilieva, D.G. Chuhchin The application of the Electron-Beam Plasma for the production of novel effective platelet aggregation inhibitors // 24th Summer School and International Symposium on the Physics of Ionized Gases. – 25-29 August 2008, Novi Sad, Serbia, P. 427-430.
33. Т.М. Васильева The beam-plasma source for technologies of the proteins modification // 19th International Symposium on Plasma Chemistry. - 26 – 31 July 2009, Bochum, Germany, P. 8.
34. T. Vasilieva Hybrid plasmachemical reactor for biomaterials processing // International Conference on Materials for Advanced Technologies 2009 – 28 June-3 July 2009. Singapore, P. 16.
35. Т.М. Васильева Моделирование синтеза супрамолекулярных комплексов на поверхности частиц, левитирующих в плазменной ловушке // IV Всероссийская конференция (с международным участием) "Химия поверхности и

- нанотехнология" 28 сентября - 04 октября 2009 Санкт-Петербург-Хилово, Россия. С. 28-30.
36. T. Vasilieva Bio-medical applications of The electron-beam plasma // 20th European Conference on the Atomic and Molecular Physics of Ionized Gases (ESCAMPIG XX) – 13-17 July 2010, Novi Sad, Serbia, WPM_P3.59.
37. T.M. Vasilieva The formation of the complex “Protein-pharmacological agent” in the plasma trap // 3rd International Conference on Plasma Medicine (ICPM-3) - 19-24 September 2010, Greifswald, Germany, P.72.
38. T. Vasilieva, S. Lysenko, D. Bayandina Electron-beam transport in dusty plasma // 8th International conference on charged particles (CPO-8) – 12-16 July 2010, Suntec City Convention Center, Singapore, P. 146-147.
39. Т.М. Васильева Исследование формирования плазменно-пылевых структур из биоорганических соединений // XXXVIII Международная (Звенигородская) конференция по физике плазмы и управляемому термоядерному синтезу – 14-18 февраля 2011, г. Звенигород, Россия, Т20.
40. Т.М. Васильева, Д.Г. Чухчин Плазмохимический метод получения низкомолекулярных соединений из хитозана // VI Международный симпозиум по теоретической и прикладной плазмохимии. – 5-9 сентября 2011, г. Иваново, Россия, С. 220-222.
41. T. Vasilieva, D. Chuhchin Applications of electron beam plasma for biopolymers modification // 14th Latin American Workshop on plasma physics (LAWPP 2011) – November 20-25, 2011 – Mar del Plata, Argentina, P. 94.
42. Т.М. Васильева, С.А. Лопатин Электронно-пучковый плазмохимический реактор для получения низкомолекулярных форм хитозана // 11-я Международная конференция «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» - 25-30 июня 2012 – Мурманск, Россия, С. 29-33.
43. T.M. Vasilieva Application of electron-beam plasma for polysaccharide modification // VII International Conference “Plasma Physics and Plasma Technology” (PPPT-7) – September 17-21, 2012 – Minsk, Belarus, V II. P. 663-666.
44. T. Vasilieva The hydrophilic/hydrophobic properties of bioactive coating formed in Electron Beam Plasma// 6th Advanced Materials and Nanotechnology Conference (AMN6) – February 11-15, 2013 – Auckland, New Zealand. T26 (на CD).
45. T.M. Vasilieva, A.T. Win Synthesis of bioactive titanium oxide coatings stimulated by electron-beam plasma // 5th Central European Symposium on Plasma Chemistry (CESPC5) – August 25-29, 2013 – Balatonalmadi, Hungary. P.46.

46. Т.М. Васильева, К.В. Балакин, Аунг Тун Вин Получение биоактивных низкомолекулярных форм хитозана в электронно-пучковой плазме // 1-ая Российская конференция по медицинской химии (MedChem Russia-2013) с международным участием – 8-12 сентября, 2013 – Москва, Россия, С. 34.
47. T.M. Vasilieva, I.V. Sokolov, Aung Tun Win Electron-beam plasma applications for synthesis of bioactive titanium oxide coatings // 15th Latin American Workshop on Plasma Physics (LAWPP 2014) – January 27-31, 2014 – San Jose, Costa Rica, P. 70.
48. T. Vasilieva, S. Lysenko, A. Sigarev, I. Sokolov Electron-beam plasma technologies for bioactive titanium oxides production // VIII International Conference “Plasma Physics and Plasma Technology” (PPPT-8) – September 14-18, 2015 – Minsk, Belarus, V.II. P. 430-433.
49. T. Vasilieva, S. Lopatin, V. Varlamov, Aung Tun Win Controllable degradation of polysaccharides stimulated by electron-beam plasma // 22nd International Symposium on Plasma Chemistry. - 5-10 July 2015 - Antwerp, Belgium. - P-II-11-11.
50. T. Vasilieva, S. Lopatin, V. Varlamov Hydrolysis of chitin and chitosan in low temperature electron-beam plasma // 12th International Conference of the European Chitin Society and the 13th International Conference on Chitin and Chitosan. – 30 August – 2 September 2015 – Munster, Germany. – P. 119.

3. Главы в монографиях

51. T. Vasilieva Bio-Medical Applications of the Electron-Beam Plasma // In: Practical Applications in Biomedical Engineering. Eds. A.O. Andrade, A.A. Pereira, E.L M. Naves, A.B. Soares, InTech, 2012, P. 285-310.

ЛИТЕРАТУРА

Литература к главе I

- 1.1.0. Лебедев Ю.А. Введение в плазмохимию // Тезисы докл. электронной Школы по плазмохимии для молодых ученых России и стран СНГ. Иваново, 15 апреля-30 октября 1999. – main.isuct.ru/files/konf/plasma/LECTIONS/Lebedev_lection.html
- 1.1.1. Ehlbeck J., Schnabel U., Polak M., et al. Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2011. – V. 44., N 1. – P. 013002.
- 1.1.2. Райзер Ю.П. Физика газового разряда. М.: Наука, 1987. 592 с.
- 1.1.3. Bussiahn R., Branderburg R., Gerling T., et al. The hairline plasma: an intermittent negative dc-corona discharge at atmospheric pressure for plasma medical applications // Appl. Phys. Lett. – 2010. – V. 96., N 14. – P. 143701.
- 1.1.4. Laroussi M., Alexeff I., Klang W.L. Biological decontamination by nonthermal plasmas // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2000. - V. 28., N 1. – P. 184-188.
- 1.1.5. Gaunt L.F., Beggs C.B., Georghiou G.E. Bactericidal action of the reactive species produced by gas-discharge nonthermal plasma at atmospheric pressure: a review // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2006. - V. 34., N 4. – P. 1257-1269.
- 1.1.6. Montie T.C., Kelly-Wintenberg K., Roth J.R. An overview of research using one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2000. - V. 28., N 1. – P. 41-50.
- 1.1.7. Becker K., Koutsospyros A., Yin S.M., et al. Environmental and biological applications of microplasmas // Plasma Phys. Control. Fusion. – 2005. - V. 47., N 12B. – P. B513-B523P.
- 1.1.8. Cheng C., Liye Z., Zhan R.J. Surface modification of polymer fiber by new atmospheric pressure cold plasma jet // Surf. Coat. Technol. – 2006. - V. 200., N 24. – P. 6659-6665.
- 1.1.9. Laroussi M. Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric-pressure plasmas: review, analysis, and prospects // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2002. - V. 30., N 4. – P. 1409-1415.
- 1.1.10. Laroussi M., Alexeff I. The resistive barrier discharge // In: Proc. IEEE Int. Conf. Plasma Science, Las Vegas, NV, 2001, P.169.
- 1.1.11. Polak M., Winter J., Stieber M., et al. Innovative setup for generating an atmospheric pressure DBD in long thermolabile flexible tubes // In: Proceedings of XVIII International Conference on gas discharges and their applications, Greifswald, Germany, 5-10 September 2010, P. 67-68.

- 1.1.12. Herrmann H.W., Henins I., Park J., Selwyn G.S. Decontamination of chemical and biological warfare (CBW) agents using an atmospheric pressure plasma jet // *Phys. Plasmas*. – 1999. - V. 6., N 5. – P. 2284-2289.
- 1.1.13. Weltmann K.-D., Branderburg R., von Woedtke T., et al. Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric plasma jets (APPJs) // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2008. – V. 41., N 19. – P. 194008.
- 1.1.14. Uhm H.S., Lim J.P., Li S.Z. Sterilization of bacterial endospores by an atmospheric-pressure argon plasma jet // *Appl. Phys. Lett.* – 2007. – V. 90., N 26. – P. 261501.
- 1.1.15. Lim J.P., Uhm H.S., Li S.Z. Influence of oxygen in atmospheric-pressure argon plasma jet on sterilization of *Bacillus atrophaeus* spores // *Phys. Plasmas*. – 1999. - V. 14., N 9. – P. 093504.
- 1.1.16. Daeschlein G., von Woedtke T., Kindel E., et al. Antibacterial activity of an atmospheric plasma jet against relevant wound pathogens in vitro on a simulated wound environment // *Plasma Process. Polym.* – 2010. - V. 7., N 3-4. – P. 224-230.
- 1.1.17. Акишев Ю.С., Грушин М.Е., Трушкин Н.И. Применение неравновесной низкотемпературной плазменной струи для стерилизации термически нестойких материалов // а/с N 2398598, 10.09.2010.
- 1.1.18. Stoffels E., Flikweert A.J., Stoffels W.W., Kroesen G.M.W. Plasma needle: a non-destructive atmospheric plasma source for fine surface treatment of (bio)materials // *Plasma Sources Sci. Technol.* – 2002. - V. 11., N 4. – P. 383-388.
- 1.1.19. Kieft I.E., Laan E.P., Stoffels E. Electrical and optical characterization of plasma needle // *New J. Phys.* – 2004. - V. 6. – P. 149.
- 1.1.20. Sladek R.E.J., Stoffels E. Deactivation of *Escherichia coli* by the plasma needle // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – V. 38., N 11. – P. 1716-1721.
- 1.1.21. Goree J., Liu B., Drake D. Gas flow dependence for plasma-needle disinfection of *S. mutans* bacteria // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2006. – V. 39., N 16. – P. 3479-3486.
- 1.1.22. Goree J., Liu B., Drake D., Stoffels E. Killing of *S. mutans* bacteria using a plasma needle at atmospheric pressure // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2006. – V. 34., N 4. – P. 1317-1324.
- 1.1.23. Sladek R.E.J., Baede T.A., Stoffels E. Plasma-needle treatment of substrates with respect to wettability and growth of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2006. – V. 34., N 4. – P. 1325-1330.
- 1.1.24. van den Bedem L.J.M., Sladek R.E.J., Steinbuch M., Stoffels E. Adamowicz A. Plasma treatment of *S. mutans* biofilms cultured in a simulated dental cavity model // In: Proceedings of XXVII International Conference on phenomena in ionized gases, Eindhoven, the Netherlands, 18-22 July 2005, P. 452.

- 1.1.25. Bae Y.S., Lee W.C., Ko K.B., et al. Characteristics of microwave plasma torch with a coaxial field-structure at atmospheric pressure // J. Korean Phys. Soc. – 2006. – V. 48., N 1. – P. 67-74.
- 1.1.26. Jasinski M., Mizeraczyk J., Zakrzewski Z. et al. CFC-11 destruction by microwave torch generated atmospheric-pressure plasma // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2002. – V. 35., N 18. – P. 2274-2280.
- 1.1.27. Lai W., Lai H., Kuo S.P. et al. Decontamination of biological warfare agents by a microwave plasma torch // Phys. Plasmas. – 2005. - V. 12., N 2. – P. 023501.
- 1.1.28. Sato T., Miyahara T., Doi A. et al. Sterilization mechanism for *Escherichia coli* by plasma flow at atmospheric pressure // Appl. Phys. Lett. – 2006. - V. 89., N 7. – P. 073902.
- 1.1.29. Weltmann K.-D., von Woedtke Th. Basic requirements for plasma sources in medicine // Eur. Phys. J. Appl. Phys. – 2011. - V. 55., N 1. – P. 13807.
- 1.1.30. Shimizu T., Steffes B., Rompl R. et al. Characterization of microwave plasma torch for decontamination // Plasma Processes Polym. – 2008 - V. 5., N 6. – P. 577-582.
- 1.1.31. Morfill G.E., Shimizu T., Steffels B., Schmidt H.-U. Nosocomial infections - a new approach towards preventive medicine using plasmas // New J. Phys. – 2009. - V. 11., N 11. – P. 115019.
- 1.1.32. Li Y.-F., Schimizu T., Zimmermann J.L., Morfill G.E. Cold atmospheric plasma for surface disinfection // Plasma Processes Polym. – 2012. - V. 9., N 6. – P. 585-589.
- 1.1.33. Isbary G., Schimizu T., Li Y.-F., et al. Cold atmospheric plasma for medical issues // Expert. Rev. Med. Devices – 2013. - V. 10., N 3. – P. 367-377.
- 1.1.34. Ermolaeva S.A., Sysolyatina E.V., Kolkova N.I. et al. Non-thermal argon plasma is bactericidal for the intracellular bacterial pathogen *Chlamydia trachomatis* // J. Med. Microbiol. – 2012. - V. 61., N 6. – P. 739-799.
- 1.1.35. Ermolaeva S.A., Varfolomeev A.F., Chernukha M.Yu., et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in animal model of infected wounds // J. Med. Microbiol. – 2011. - V. 60., N 1. – P. 75-83.
- 1.1.36. Ермаков А.М., Ермакова О.Н., Маевский Е.И. и др. Влияние низкотемпературной аргоновой плазмы на скорость регенерации планарий // Биофизика – 2010. – Т. 11., N 1. – С. 160-167. www.medline.ru
- 1.1.37. Ермаков А.М., Ермакова О.Н., Скавуляк А.Н., Маевский Е.И. Исследование воздействия низкотемпературной аргоновой плазмы на пролиферацию стволовых клеток планарий // Биофизика – 2013. – Т. 14., N 1. – С. 802-812. www.medline.ru

- 1.1.38. Brandenburg R., Krohmann U., Stieber M., et al. Antimicrobial treatment of heat sensitive products by atmospheric pressure plasma sources // In: Plasma assisted decontamination of biological and chemical agents. Springer, 2008. P. 51-64.
- 1.1.39. Laroussi M., Tendero C., Lu X., et al. // Plasma Processes Polym. – 2006. - V. 3., N 6-7. – P. 470-473.
- 1.1.40. Moreau S., Moisan M., Tabrizian M., et al. Using the flowing afterglow of a plasma to inactivate *Bacillus subtilis* spores: influence of the operating conditions // J. Appl. Phys. – 2000. - V. 88., N 2. – P. 1166-1174.
- 1.1.41. Bankupalli S., Dhali S., Madigan M. Ambient plasma in decontamination of microorganisms // In: Proceedings of 17th International symposium of plasma chemistry, Toronto, Canada 7-12 August 2005, P. 1072.
- 1.1.42. Laroussi M., Leipold F. Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure // Int. J. Mass. Spectrom. – 2004. - V. 233., N 1-3. – P. 81-86.
- 1.1.43. Opretzka J., Benedikt J., Awakowicz P. et al. The role of chemical sputtering during plasma sterilization of *Bacillus atrophaeus* // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2007. – V. 40., N 9. – P. 2826-2830.
- 1.1.44. Youngblood T., Ong J.L. Effect of plasma-glow discharge as a sterilization of titanium surfaces // Implant. Dent. – 2003. – V. 12., N 1. – P. 54-60.
- 1.1.45. Siemens W. Uber die elektrostatische induction und die verzogerung des stroms in flaschendraten // Poggendorfs Ann. Phys. Chem. – 1857. – V. 12. – P. 66-122.
- 1.1.46. Abou-Ghazala A., Katsuki S., Schoenbach K.H., et al. Bacterial decontamination of water by means of pulsed corona discharges // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2002. – V. 30., N 4. – P. 1449-1453.
- 1.1.47. Laroussi M. Sterilization of contaminated matter with atmospheric pressure plasma // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2006. – V. 24., N 3. – P. 1188-1191.
- 1.1.48. Birmingham J.G., Hammerstrom D.J. Bacterial decontamination using ambient pressure nonthermal discharges // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2006. – V. 28., N 1. – P. 51-55.
- 1.1.49. Garate E., Evans K., Gornostaeva O., et al. Atmospheric plasma induced sterilization and chemical neutralization // In: Proceedings of IEEE International conference of plasma sciences 1998. 25th Anniversary, Raleigh, USA, 1-4 June 1998, P. 452.
- 1.1.50. Garate E., Gornostaeva O., Alexeff I. Sterilization and decontamination of surfaces using atmospheric pressure plasma discharges // In: Proceedings of 26th IEEE International conference of plasma sciences, Monterey, USA, 20-24 June 1999, P. 202.

- 1.1.51. Birmingham J.G. Mechanisms of bacterial spore deactivation using ambient pressure nonthermal discharges // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2004. – V. 32., N 4. – P. 1526-1531.
- 1.1.52. Rutala W.A., Gergen M.F., Weber D.J. Comparative evaluation of the sporicidal activity of new low-temperature sterilization technologies: ethylene oxide, 2 plasma sterilization systems, and liquid peracetic acid // Amer. J. Infect. Control. – 1998. - V. 26., N 4. – P. 393-398.
- 1.1.53. Vassal S., Favennec L., Ballet L.-J., Brasseur P. Hydrogen peroxide gas plasma sterilization is effective against *Cryptosporidium parvum* oocysts // Amer. J. Infect. Control. – 1998. - V. 26., N 2. – P. 136-138.
- 1.1.54. Deng X.T., Shi J.J., Shama G., Kong M.G. Effects of microbial loading and sporulation temperature on atmospheric plasma inactivation of *Bacillus subtilis* spores // Appl. Phys. Lett. – 2005. – V. 87., N 15. – P.153901.
- 1.1.55. Yu O.S., Huang C., Hsieh F.-H., et al. Sterilization effects of atmospheric cold plasma brush // Appl. Phys. Lett. – 2006. – V. 88., N 1. – P.013903.
- 1.1.56. Efremov N.M., Adamiak B.Yu., Blochin V.I., et al. Action of a self-sustained glow discharge in atmospheric pressure air on biological objects // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2000. – V. 28., N 1. – P. 238-241.
- 1.1.57. Laroussi M., Richardson J.P., Dobbs F.C. Effects of nonequilibrium atmospheric pressure plasmas on the heterotrophic pathways of bacteria and on their cell morphology // Appl. Phys. Lett. – 2002. – V. 81., N 4. – P. 772-774.
- 1.1.58. Laroussi M., Mendis D.A., Rosenberg M. Plasma interaction with microbes // New J. Phys. – 2003. - V. 5., N 4. – P. 41.1-41.10.
- 1.1.59. Akishev Yu.S., Grushin M.E., Karalnik V.B., et al. Generation of nonequilibrium plasma in heterophase atmospheric-pressure gas-liquid media and demonstration of its sterilization ability // Plasma Phys. Rep. – 2006. - V. 32., N 12. – P. 1052-1061.
- 1.1.60. Gallagher M.J., Vaze Jr.N., Gangoli S., et al. Rapid inactivation of airborne bacteria using atmospheric pressure dielectric barrier grating discharge // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2007. – V. 35., N 5. – P. 1501-1510.
- 1.1.61. Sun Y., Qiu Y., Nie A., Wang X. Experimental research on inactivation of bacteria using dielectric barrier discharge // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2007. – V. 35., N 5. – P. 1496-1500.
- 1.1.62. Pomi S., Shama G., Hobman J.L., et al. Probing bactericidal mechanisms induced by cold atmospheric plasmas with *Escherichia coli* mutants // Appl. Phys. Lett. – 2007. – V. 90., N 7. – P.073902.
- 1.1.63. Boudam M.K., Moisan M., Saoudi B., et al. Bacterial spore inactivation by atmospheric-pressure plasmas in the presence or absence of UV photons as obtained with the same gas mixture // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2006. – V. 39., N 16. – P. 3494-3507.

- 1.1.64. Kayes M.M., Golden D.A., Hubert G., et al. Killing of pathogenic food-borne bacteria exposed to a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) // In: Proceedings of 27th IEEE International conference of plasma sciences, New Orleans, USA, 04-07 June 2000, P. 251.
- 1.1.65. Bray B.J.J., Brelles-Marino J.C., Abramzon N. Destruction of bacterial communities using gas discharge plasma // In: Proceedings of 26th IEEE International conference of plasma sciences, Monterey, USA, 20-24 June 1999, P. 154.
- 1.1.66. Vleugels M., Shama G., Deng X.T., et. al. Atmospheric plasma inactivation of biofilm-forming bacteria for food safety control // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2005. – V. 33., N 2. – P. 824-828.
- 1.1.67. Kelly-Winterberg K., Montie T., Hodge A., et al. Mechanisms of killing microorganisms by one atmosphere uniform glow discharge plasma // In: Proceedings of 26th IEEE International conference of plasma sciences, Monterey, USA, 20-24 June 1999, P. 202.
- 1.1.68. Sorge K., Roth J.R. Broad spectrum killing of microorganisms with one atmosphere uniform glow discharge plasma // In: Proceedings of IEEE International conference of plasma sciences 1998. 25th Anniversary, Raleigh, USA, 1-4 June 1998, P. 288.
- 1.1.69. Kelly-Winterberg K., Montie T., Roth J.R., et al. Viral inactivation by a one atmosphere uniform glow discharge plasma // In: Proceedings of 27th IEEE International conference of plasma sciences, New Orleans, USA, 04-07 June 2000, P. 250.
- 1.1.70. Helfritch D.J., Roth J.R., Montie T.C., et al. Air filter enhancement and sterilization using a dc electric field and a one atmosphere uniform glow discharge plasma // In: Abstr. Electro Med'99, Norfolk, VA, 1999, p. 119.
- 1.1.71. Sherman D.M., Chen Z., Karakaya F., et al. Advanced in air filter sterilization using a one atmosphere uniform glow discharge plasma (the OAGDP Volfilter) // In: Proceedings of 27th IEEE International conference of plasma sciences, New Orleans, USA, 04-07 June 2000, P. 251.
- 1.1.72. McLean M.R., Roth J.R. J.R. Utilizing a one atmosphere uniform glow discharge plasma for chemical/biological warfare agent decontamination // In: Proceedings of 25th IEEE International conference of plasma sciences 1998. 25th Anniversary, Raleigh, USA, 1-4 June 1998, P. 278.
- 1.1.73. Jin Y., Ren C., Xiu Z., et al. Comparison of yeast inactivation treated in He, air, and N₂ DBD plasma // Plasma Sci. Tech. – 2006. - V. 8., N 6. – P. 720-723.
- 1.1.74. Fridman G., Friedman G., Gutsol A., et al. Applied plasma medicine // Plasma Process. Polym. – 2008. - V. 5., N 6. – P. 503-533.

- 1.1.75. Richardson J.P., Dyer F.F., Dobbs F.C., et al. On the use of the resistive barrier discharge to kill bacteria: recent results // In: Proceedings of 27th IEEE International conference of plasma sciences, New Orleans, USA, 04-07 June 2000, P. 109.
- 1.1.76. Richardson J.P., Dobbs F.C., Laroussi A.M. Effects of the resistive barrier discharge on bacterial viability, biochemical pathways, and morphology // In: Proceedings of 28th IEEE International conference of plasma sciences and 13th IEEE International pulsed power conference, Las Vegas, USA, 17-22 June 2001, P. 312.
- 1.1.77. Thiyagarajan M., Alexeff I., Parameswaran S., Beebe S. Atmospheric pressure resistive barrier cold plasma for biological decontamination // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2005. – V. 33., N 2. – P. 322-323.
- 1.1.78. Abramzon N., Joaquin J.C., Bray J., Brelles-Marino G. Biofilm destruction by RF high-pressure cold plasma jet // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2006. – V. 34., N 4. – P. 1304-1309.
- 1.1.79. Акишев Ю.С., Грушин М.Е., Каральник В.Б. и др. Электрофизические механизмы инактивации микроорганизмов заряженными частицами плазмы // Тезисы докл. Всероссийской (с международным участием) конференции «Физика низкотемпературной плазмы», Казань, 20-23 мая 2014, С. 43-45.
- 1.1.80. Мисюн Ф.А., Беседин Э.В., Гостев В.А., Образцова А.М. Влияние холодной плазмы на культуру патогенного стафилококка при экспериментальном язвенном кератите // http://www.medicine.onego.ru/prakt/opht/o02_a.shtml
- 1.1.81. Мисюн Ф.А., Беседин Э.В., Гостев В.А., Комкова О.П. Экспериментальное воздействие холодной плазмы на роговую оболочку // http://www.medicine.onego.ru/prakt/opht/o03_a.shtml
- 1.1.82. Мисюн Ф.А., Гостев В.А. Применение холодной плазмы для лечения флегмоны века // http://www.medicine.onego.ru/prakt/opht/o05_a.shtml
- 1.1.83. Hong Y.C., Uhm H.S. Microplasma jet at atmospheric pressure // Appl. Phys. Lett. – 2006. – V. 89., N 22. – P.221504.
- 1.1.84. Laroussi M., Lu X. Room-temperature plume for biomedical applications // Appl. Phys. Lett. – 2005. – V. 87., N 15. – P.113902.
- 1.1.85. Kuo S.P., Popovic S., Tarasenko O., et al. Fan-shaped microwave plasma for mail decontamination // Plasma Sources Sci. Technol. – 2007. – V. 16., N 3. – P.581-586.
- 1.1.86. Uhm H.S., Shin D.H., Hong Y.C. Plasma flame for mass purification of contaminated air with chemical and biological warfare agents // Appl. Phys. Lett. – 2006. – V. 89., N 12. – P.121504.
- 1.1.87. Kuo S.P., Tarasenko O., Nourkbash S. Plasma effects on bacterial spores in a wet environment // New J. Phys. – 2006. – V. 8., N 3. – P.4252.

- 1.1.88. Nojima H., Park R.-E., Kwon J.-H., et al. Novel atmospheric pressure plasma device releasing atomic hydrogen: reduction of microbial-contaminants and OH radicals in the air // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2007. – V. 40., N 2. – P. 501-509.
- 1.1.89. von Woedtke Th., Reuter S., Massur K., Weltmann K.-D. Plasmas for medicine // Physics Reports. – 2013. – V. 530., N 4. – P. 291-320.
- 1.1.90. Wertheimer M. R., Coulombe S. Plasma medicine // La Physique au Canada. – 2012. - V. 68., N 4. – P. 189-192.
- 1.1.91. Sosnin E.A., Stoffels E., Erofeev M.V., et al. The effects of UV irradiation and gas plasma treatment on living mammalian cells and bacteria: a comparative approach // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2004. – V. 32., N 4. – P. 1544-1550.
- 1.1.92. Kieft I.E., Broers J.L.V., Caubet-Hilloutou V., et al. Electric discharge plasmas influence attachment of cultured CHO K1 cells // Bioelectromagnetics – 2004. – V. 25., N 5. – P. 362-368.
- 1.1.93. Stoffels E. Tissue processing with atmospheric plasmas // Contr. Plasma. Phys. – 2007. - V. 47., N 1-2. – P. 40-48.
- 1.1.94. Yonson S., Coulombe S., Leveille V., Leask R.L. Cell treatment and surface fictionalization using a miniature atmospheric pressure glow discharge plasma torch // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2006. – V. 39., N 16. – P. 3508-3513.
- 1.1.95. Coulombe S., Leveille V., Yonson S., Leask R.L. Miniature atmospheric pressure glow discharge plasma torch (APGD-t) for local biomedical applications // Pure Appl. Chem. - 2006. – V. 78., N 6. – P. 1137-1146.
- 1.1.96. Leveille V., Coulombe S. Design and preliminary characterization of a miniature pulsed RF APGD torch with downstream injection of the source of reactive species // Plasma Sour. Sci. Technol. – 2005. – V. 14., N 3. – P. 467-476.
- 1.1.97. Fridman G., Shereshevsky A., Jost M.M., et al. Floating electrode dielectric barrier discharge in air promoting apoptotic behavior in melanoma skin cancer cell lines // Plasma Chem. Plasma Process. – 2007. – V. 27., N 2. – P. 163-176.
- 1.1.98. Kalghatgi S., Kelly C., Fridman G., et al. Penetration of direct non-thermal plasma treatment into living cells // In: Proceedings of 35th IEEE International conference of plasma science, Karlsruhe, Germany, 15-19 June 2008, P. 345.
- 1.1.99. Capaccio P., Peri A., Fociani P., et al. Flexible argon plasma coagulation treatment of obstructive tracheal metastatic melanoma // Am. J. Otolaryngol. – 2002. – V. 23., N 4. – P. 253-255.
- 1.1.100. Скобелкин О.К., Брехов Е.И., Литвин Г.Д. и др. Применение плазменных установок в хирургии паренхиматозных органов // Хирургия – 1987. – N 4. – С. 75-78.

- 1.1.101. Савельев В.С., Ступин М.А., Волкостов В.С. и др. Плазменный скальпель // Хирургия – 1987. – N 4. – С. 147-148.
- 1.1.102. Glover J.L., Bendick P.L., Link W.J., Plunkett R.J. The plasma scalpel: a new thermal knife // *Lasers Surg. Med.* – 1982. - V. 2., N 1. – P. 101-106.
- 1.1.103. Деренковский В.Я., Берсенев А.С. Плазмотрон для резки биотканей и коагуляции сосудов // а/с N 2234881 от 27. 08. 2004.
- 1.1.104. Шанавазов К.А. Аргоно-плазменная технология в хирургическом лечении облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей в стадии гнойно-некротических поражений // Дисс. на соискание уч. степени канд. мед. наук. М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014.
- 1.1.105. Якубов Ф.Р., Курьязов Б.Н., Бабаджанов Б.Р. Факел-01 в хирургии нагноившихся эхинококковых кист поджелудочной железы // Тезисы докл. Третьего международного конгресса ассоциации хирургов им. Н.И. Пирогова. Москва, 15-16 октября 2001. – С. 57.
- 1.1.106. Лобаков А.И., Румянцев В.Б., Захаров Ю.И. и др. Лапароскопические операции при кистозных образованиях печени и селезенки с применением лазерных и плазменных технологий // Тезисы докл. III Международной конференции «Актуальные вопросы эндоскопической хирургии». Санкт-Петербург, 15-16 мая 2008. С. 83-84.
- 1.1.107. Гринев А.В., Сердюцкий В.Е., Ефременков Д.С. Лечение гидроцеле с применением плазменного скальпеля // *Андрология и генитальная хирургия.* – 2005. - N 2. – С. 32-34.
- 1.1.108. Pringlinger S.G., Haritogolou C., Palanker D.V. et al. Pulsed electron avalanche knife for dissection of retinal tissues // *Arch. Ophthalmol.* – 2005. - V. 123., N 10. – P. 1412-1418.
- 1.1.109. Miller J.M., Palanker D.V., Vankov A. et al. Precision and safety of the pulsed electron avalanche knife in vitreoretinal surgery // *Arch. Ophthalmol.* – 2003. - V. 121., N 6. – P. 871-877.
- 1.1.110. Stalder K.R., McMillen D.F., Woloszko J. Electrosurgical plasmas // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – V. 38., N 11. – P. 1728-1738.
- 1.1.111. Borg D., Henley P., Husain A. et al. Development of a gas plasma catheter for gas plasma surgery // In: *Proceedings of XXVII International Conference on phenomena in ionized gases*, Eindhoven, the Netherlands, 18-22 July 2005, P. 10-14.
- 1.1.112. Kalghatgi S., Fridman G., Cooper M., et al. Mechanisms of blood coagulation by nonthermal atmospheric pressure dielectric barrier discharge // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2007. – V. 35., N 5. – P. 1559-1566.
- 1.1.113. Hu H., Liang H., Li J., et al. Study on production of inhaled nitric oxide for medical applications by pulsed discharge // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2007. – V. 35., N 3. – P. 619-622.

- 1.1.114. Namihira T., Tsukamoto S., Wang D., et al. Production of nitric monoxide using pulsed discharges for a medical applications // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2000. – V. 28., N 1. – P. 109-114.
- 1.1.115. Козлов Н.П., Маликов В.Н., Пекшев А.В., Шарапов Н.А. Разработка плазменных хирургических аппаратов // *Вестник Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана. Специальный выпуск «Биомедицинская техника и технология».* 1998. С. 127-141.
- 1.1.116. Плазменная техника и плазменные технологии: Сб. науч. трудов / МГТУ им.Н.Э. Баумана. М: НИЦ «Инженер». 2003.
- 1.1.117. Вагапов А.Б., Гераськин И.С., Козлов Н.П. и др. Воздушно-плазменные медицинские аппараты для хирургии и терапии // *Вестник Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана. Серия «Машиностроение». Специальный выпуск «Ионно-плазменные технологии».* 2011. С. 97-106.
- 1.1.118. Fridman A., Chirikov A., Gutsol A. Non-thermal atmospheric pressure discharges // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – V. 38., N 2. – R.1.
- 1.1.119. Namihira T., Katsuki S., Hackam R., et al. Production of nitric oxide using a pulsed arc discharge // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2002. – V. 30., N 5. – P. 1993-1998.
- 1.1.120. Moisan M., Barbeau J., Crevier M.C., et al. Plasma sterilization. Methods and mechanisms // *Pure. Appl. Chem.* – 2002. - V. 74., N 3. – P. 349-358.
- 1.1.121. Moisan M., Barbeau J., Moreau S., et al. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms // *Int. J. Pharm.* – 2001.- V. 226., N 1-2. – P. 1-21.
- 1.1.122. Rahul R., Stan O., Rahman A., et al. Optical and RF electrical characteristics of atmospheric pressure open-air hollow slot microplasmas and application to bacterial inactivation // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – V. 38., N 11. – P. 1750-1759.
- 1.1.123. Heise M., Neff W., Franken O., et al. Sterilization of polymer foils with dielectric barrier discharges at atmospheric pressure // *Plasmas Polym.* – 2004. – V. 9., N 1. – P. 23-33.
- 1.1.124. Холодков И.В. Физико-химические процессы в плазме воздуха // *Дисс. на соискание уч. степени канд. физ.-мат. наук. Иваново, ИГХТУ, 2003, 145 с.*
- 1.1.125. Stoffels E., Kieft I.E., Sladek R.E.J. Superficial treatment of mammalian cells using plasma needle // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2003. – V. 36., N 23. – P. 2908-2913.
- 1.1.126. Nagatsu M., Terashita F., Nonaka H., et al. Effects of oxygen radicals in low-pressure surface-wave plasma on sterilization // *Appl. Phys. Lett.* – 2005. - V. 86., N 21 – P. 211502.
- 1.1.127. Mendis D.A., Rosenberg M., Azam F. A note of possible electrostatic disruption of bacteria // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2000. – V. 28., N 4. – P. 1304-1306.

- 1.1.128. Challis L.J. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue // Bioelectromagnetic Supplement – 2005. - V. 26., N S7. – P. S98-S106.
- 1.2.1. Chu P.K. Plasma-treated biomaterials // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2007. – V. 35., N 2. – P. 181-187.
- 1.2.2. Dudek A., Mosialek M., Mordarski G., et al Ionic conductivity of the CeO₂-Gd₂O₃-SrO system // Arch. Metall. Mater. – 2011. – V. 56., N 4. – P. 1249-1255.
- 1.2.3. Lin F.H., Hsu Y.S., Lin S.H., Chen T.M. The growth of hydroxyapatite on alkaline treated Ti-6Al-4V soaking in higher temperature with concentrated Ca²⁺/HPO₄²⁻ simulated body fluid // Mater. Chem. Phys. – 2004. – V. 87., N 24. – P. 24-30.
- 1.2.4. Massaro C., Rotolo P., De Riccardis F., et al Comparative investigation of the surface properties of commercial titanium dental implants. Part 1: chemical composition // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2002. – V. 13., N 6.- P. 535-548.
- 1.2.5. Kim H.W., Kim H.E., Salih V., Knowles J.C. Hydroxyapatite and titania sol-gel composite coatings on titanium for hard tissue implants; mechanical and *in vitro* biological performance // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2004. – V. 72B. – P. 1-8.
- 1.2.6. Chu P.K., Chen J.Y., Wang L.P., Huang N. Plasma surface modification of biomaterials // Mater. Sci. Eng.: Rep. – 2002. – V. 36., N 5-6. – P. 143-206.
- 1.2.7. Goodman S.B., Yao Z., Keeney M., Yang F. The future of biologic coatings for orthopaedic implants // Biomaterials – 2013. – V. 34., N 13. – P. 3174-3183.
- 1.2.8. Fassina L., Saino E., Visai L., Magenes G. Physically enhanced coating of titanium plasma-spray surface with human SAOS-2 osteoblasts and extracellular matrix // In: Proceedings of the 29th Annual International conference of the IEEE EMBS, Lyon, France 23-26 August 2007, V. 1. - P. 3581-3585.
- 1.2.9. Vayssieres L., Chaneac C., Trone E., Joliver J.P. Size tailoring of magnetite particles formed by aqueous precipitation: an example of thermodynamic stability of nanometric oxide particles // J. Colloid. Interface Sci. – 1998. – V. 205., N 2. – P. 205-212.
- 1.2.10. Liu X., Poon R., Chu P.K., Ding C. Effects of plasma surface modification of titanium in bone replacements // In: Proceedings of 30th IEEE International conference on plasma science, Jeju, South Korea 2-5 June 2003. P. 278.
- 1.2.11. Wan G.J., Leng Y.X., Sun H., et al. Ti-O film deposited by DC metal vacuum arc deposition: characteristics and platelet adhesion behavior // In: Proceedings of 30th IEEE International conference on plasma science, Jeju, South Korea. 2-5 June 2003. P. 282.
- 1.2.12. Jin F., Liu X., Chu P.K., et al. Bioactivity and corrosion behavior of magnesium alloys treated by plasma electrolytic oxidation // In: Proceedings of 33rd IEEE International conference on plasma science, Traverse City, USA. 4-8 June 2006. P. 334.

- 1.2.13. Dolatabadi A., Mosatghimi J., Pershin V. A new design for coating thin film alumina on stainless steel for biomedical applications // *In* : Proceedings of the International conference on MEMS, NANO and Smart Systems. Banff, Canada, 20-23 July 2003, P. 94-95.
- 1.2.14. Tian X., Gong C., Yang S., et al. Oxygen plasma ion implantation of biomedical titanium alloy // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2006. – V. 34., N 4. – P. 1235-1240.
- 1.2.15. Krupa D., Baszkiewicz J., Kozubowski J., et al. Effect of dual ion implantation of calcium and phosphorus on the properties of titanium // *Biomaterials.* – 2005. – V. 26., N 16. – P. 2847-2856.
- 1.2.16. Krupa D., Baszkiewicz J., Kozubowski J., et al. Effect of phosphorus-ion implantation on the corrosion resistance and biocompatibility of titanium // *Biomaterials.* – 2002. – V. 23., N 16. – P. 3329-3340.
- 1.2.17. Maitz M.F., Poon R.W.Y., Liu X.Y., et al. Bioactivity of titanium following sodium plasma immersion ion implantation and deposition // *Biomaterials.* – 2005. – V. 26., N 27. – P. 5465-5473.
- 1.2.18. Huang N., Leng Y.X., Yang P., et al. Plasma surface modification of biomaterials applied for cardiovascular devices // *In*: Proceedings of 30th IEEE International conference on plasma science, Jeju, South Korea. 2-5 June 2003, P. 439.
- 1.2.19. Wang J., Yang P., Sun H., et al. Surface modification of medical polyurethane by acetylene plasma immersion ion implantation // *In*: Proceedings of 30th IEEE International conference on plasma science, Jeju, South Korea. 2-5 June 2003, P. 282.
- 1.2.20. Huang N., Leng Y.X., Yang P., et al. In vivo blood compatibility of titanium oxide film coated artificial heart valves prepared by plasma immersion ion implantation and deposition // *In*: Proceedings of 30th IEEE International conference on plasma science, Jeju, South Korea. 2-5 June 2003, P. 280.
- 1.2.21. Chen J.Y., Wan G.J., Leng Y.X., et al. Effect of characteristics on the behavior of cultured human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) onto titanium oxide film surface fabricated by plasma immersion ion implantation and deposition (PIIID) // *In*: Proceedings of 31st IEEE International conference on plasma science, Baltimore, USA. 28 June -1 July 2004, P. 355.
- 1.2.22. Wan G.J., Huang N., Kwok S.C.H., et al. Si-N-O film synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition (PIII&D) for blood-contacting biomedical applications // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2006. – V. 34., N 4. – P. 1160-1165.
- 1.2.23. Wang R.R., Welsch G.E., Monteiro O. Silicon nitride coating on titanium to enable titanium-ceramic bonding // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1996. - V. 46., N 2. – P. 262-270.

- 1.2.24. Hernandez P.R., Taboada C., Leija L., et al. Evaluation of biocompatibility of pH-ISFET materials during long-term subcutaneous implantation // *Sens. Actuators B, Chem.* – 1998. - V. 46., N 2. – P. 133-138.
- 1.2.25. Grayson A.C.R., Shawgo R.A.S., Johnson A.M., et al. A BioMEMS review: MEMS technology for physiologically integrated devices // *Proc. IEEE.* – 2004. - V. 92., N 1. – P. 6-21.
- 1.2.26. Chu P.K., Tang B.Y., Wang L.P., et al. Third-generation plasma immersion ion implanter for biomedical materials and research // *Rev. Sci. Instr.* – 2001. - V. 72., N 3. – P. 1660-1665.
- 1.2.27. Yang P., Huang N., Leng Y.X., et al. Comparative study of anti-thrombotic behavior between nitrogen-doped and nitrogen-free hydrogenated amorphous carbon films fabricated by PIII-D // *In: Proceedings of 30th IEEE International conference on plasma science, Jeju, South Korea. 2-5 June 2003, P. 283.*
- 1.2.28. Jing F.J., Fu R.K.Y., Xie Y.T., et al. Effects of surface micropatterning on endothelialization of amorphous hydrogenated carbon (a-C:H) films produced by plasma immersion ion implantation and deposition // *In: Proceedings of 32nd IEEE International conference on plasma science, Monterey, USA, 20-23 June 2005, P. 153.*
- 1.2.29. Wang J., Leng Y.X., Chen J.Y., et al. Enhanced mechanical properties of biomedical poly(ethylene terephthalate) surface modified by acetylene plasma immersion ion implantation-deposition // *In: Proceedings of 31st IEEE International conference on plasma science, Baltimore, USA. 28 June -1 July 2004, P. 299.*
- 1.2.30. Kleinen L., Bode U., Schlenk K., et al. Amorphous carbon coatings inhibit crystalline biofilm formation on urological implants // *Plasma Process. Polym.* – 2007. - V.4., N S1. – P. S386-S391.
- 1.2.31. Laube N., Kleinen L., Bradenahl J., Meißner A. Diamond-like carbon coatings on urethral stents a new strategy in reducing formation of crystalline bacterial films? // *J. Urol.* – 2007. - V. 178., N 5. – P. 1923-1927.
- 1.2.32. Biederman H. Plasma polymers and some biomedical applications // *European Cells and Materials* – 2003. – V. 6., Suppl. 1. – P. 28.
- 1.2.33. Zhang W., Chu P.K., Ji J.H., et al. Plasma surface modification of poly vinyl chloride for improvement of surface antibacterial properties // *Biomater.* – 2006. - V. 27., N 1. – P. 44-51.
- 1.2.34. Zhang W., Chu P.K., Ji J.H., et al. Antibacterial properties of plasma-modified and triclosan or bronopol coated polyethylene // *Polymer.* – 2006. - V. 47., N 3. – P. 931-936.
- 1.2.35. Weltmann K.-D., von Woedtke Th., Brandenburg R., Ehlbeck J. Biomedical applications of atmospheric pressure plasma // *Chem. Listy* – 2008. – V. 102. – P. S1450-1451.

- 1.2.36. Brown I.G., Bjornstad K.A., Blakely E.A., et al. Growth of large patterned arrays of neurons using plasma methods // *Plasma Phys. Control. Fusion* – 2003. - V. 47., N 3. – P. 547-554.
- 1.3.1. Rybkin V., Bessarab A., Kuvaldina E., et al. Self-consistent analysis of low-temperature oxygen plasma and processes of its interaction with some polymer materials // *Pure Appl. Chem.* - 1996. – V. 68., N 5. - P. 1041–1045.
- 1.3.2. Рыбкин В.В. Низкотемпературная плазма как инструмент модификации поверхности полимерных материалов // *Соросовский образовательный журнал* – 2000. – Т. 6., N 3. – С. 58-63.
- 1.3.3. Гильман А.Б. Плазмохимическая модификация поверхности полимерных материалов // Тезисы докл. электронной Школы по плазмохимии для молодых ученых России и стран СНГ. Иваново, 15 апреля-30 октября 1999. – main.isuct.ru/files/konf/plasma/LECTIONS/Gilman_lecture.html
- 1.3.4. Пономарев А.Н., Василец В.Н. Кинетика и механизм химического взаимодействия НТП с полимерами // Тезисы докл. электронной Школы по плазмохимии для молодых ученых России и стран СНГ. Иваново, 15 апреля-30 октября 1999. – main.isuct.ru/files/konf/plasma/LECTIONS/Ponomarev_Vasiletc.html
- 1.3.5. Vasilets V.N., Nakamura K., Uyama Y., et al. Improvement of the micro-wear resistance of silicone by vacuum ultraviolet radiation // *Polymer*. – 1998. - V. 39., N 13. - P. 2875-2881.
- 1.3.6. Vasilets V.N., Hirata I., Iwata H., Ikada Y. Photolysis of a fluorinated film by vacuum ultraviolet radiation // *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* – 1998. - V. 36., N 13. - P. 2215-2222.
- 1.3.7. Vasilets V.N., Tikchomirov L.A., Ponomarev A.N. Evaluation of the contribution of the UV-irradiation of a plasma to the accumulation of stable products during plasma treatment of polyethylene // *High Energy Chem.* - 1981. - V. 15., N 2. - P. 115-119.
- 1.3.8. Василец В.Н., Севастьянов В.И. Регулирование биологических свойств полимерных материалов медицинского назначения с использованием плазмы газового разряда и вакуумного ультрафиолетового излучения // Тезисы докл. V Международного симпозиума по теоретической и прикладной плазмохимии, Иваново, 3-8 сентября 2008 С. 20-23.
- 1.3.9. Sharma R., De S., Mazumder M.K. Surface modification of biomaterials using He glow-discharge plasma and NH₃ treatment for augmenting biocompatibility // In: *Proceedings of Industry applications conference 2005, Kowloon, Hong Kong, 02-06 October 2005, V. 2. P. 771-774.*

- 1.3.10. Chen M., Zamora P.O., Som P., et al. Cell attachment and biocompatibility of polytetrafluoroethylene (PTFE) treated with glow-discharge plasma of mixed ammonia and oxygen // *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* - 2003. - V. 14., N 9. - P. 917-935.
- 1.3.11. Pu F.R., Williams R.L., Markkula T.K., Hunt J.A. Expression of leukocyte-endothelial cell adhesion to human endothelial cells on plasma treated PET and PTFE in vitro // *Biomaterials* - 2002. - V. 23., N 24. - P. 4705-4718.
- 1.3.12. Yildirim E.D., Ayan H., Vasilets V., et al. Effect of plasma treatment on osteoblastic adhesion over poly (ϵ -caprolactone) scaffolds // *Plasma Process. Polym.* – 2008. - V. 5., N 5. – P. 58-66.
- 1.3.13. Yildirim E.D., Pappas D., Gucer S., Sun W. Enhanced cellular functions on polycaprolactone tissue scaffolds by O₂ plasma surface modification // *Plasma Process. Polym.* – 2011. - V. 8., N 3. – P. 256-267.
- 1.3.14. Бирюкова Е. И., Амосова С. В., Живетьева С. А. и др. Модификация полимерных материалов дивинилсульфидом под воздействием низкотемпературной плазмы // *Химия в интересах устойчивого развития* – 2006. – Т. 13., N 3. - С. 325-326.
- 1.3.15. Пискарев М.С., Батушвили М.Р., Гильман А.Б. и др. Модификация поверхности пленок сополимера винилиденфторида с гексафторпропиленом под действием разряда постоянного тока // *Химия высоких энергий* – 2010. - Т. 44., N 6. - С. 570-573.
- 1.3.16. Яблоков М.Ю., Гильман А.Б., Кечекьян А.С., Кузнецов А.А. Многослойный композиционный материал на основе модифицированных в плазме пленок ПТФЭ // *Химия высоких энергий* – 2012. - Т. 46., N 3. - С. 263-264.
- 1.3.17. Демина Т.С., Яблоков М.Ю., Гильман А.Б. и др. Влияние обработки в разряде постоянного тока на свойства поверхности композитных пленок хитозан/поли(L,L-лактид)/желатина // *Химия высоких энергий* – 2012. - Т. 46., N 1. - С. 64-69.
- 1.3.18. Провоторова Д.А., Каблов В.Ф., Озерин А.Н. и др. Модификация непредельных каучуков в низкотемпературной плазме как способ улучшения их адгезионных свойств // *Клеи, герметики, технологии* – 2013. - N 2. - С. 34-36.
- 1.3.19. Пискарев М.С., Гильман А.Б., Щеголихин А.Н. и др. Изменение свойств поверхности пленок сополимера тетрафторэтилена с винилиденфторидом под воздействием разряда постоянного тока // *Химия высоких энергий* – 2013. - Т. 47., N 5. - С. 381-388.
- 1.3.20. Cernakova L., Kovacik D., Zahoranova A., et al. Surface modification of polypropylene non-woven fabrics by atmospheric-pressure plasma activation followed by acrylic acid grafting // *Plasma Chem. Plasma Process.* – 2005. - V. 25., N 4. – P. 427-437.

- 1.3.21. Favia P., d'Agostion R. Plasma treatment and plasma deposition of polymers for biomedical applications // Surf. Coat. Technol. – 1998. - V. 98., N 1-3. – P. 1102-1106.
- 1.3.22. Yang J., Shi G.X., Wang S.G. et al. Fabrication and surface modification of macroporous poly(L-lactic acid) and poly(L-lactic-co-glycolic acid) (70/30) cell scaffolds for human skin fibroblast cell culture // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. - V. 62., N 3. – P. 438-446.
- 1.3.23. Bhoj A.N., Kushner M. Multi-scale simulation of fictionalization of rough polymer using atmospheric pressure plasmas // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2006. – V. 39., N 8. – P. 1594-1598.
- 1.3.24. Ho M.N., Hou L.T., Tu D.Y., et al. Morphology of elastic poly(L-lactide-co- ϵ -caprolactone) copolymers and *in vitro* and *in vivo* degradation behavior of their scaffolds // Macromol. Biosci. – 2006. - V. 6., N 1. – P. 90-98.
- 1.3.25. Hu Y.H., Winn S.R., Krajbich I., Hollinger J.O. Porous polymer scaffolds surface-modified with arginine-glycine-aspartic acid enhance bone cell attachment and differentiation *in vitro* // J. Biomed. Mater. Res. – 2003. - V. 64A., N 4. – P. 583-590.
- 1.3.26. Carlisle E.S., Mariappan M.R., Nelson K.D., et al. Enhancing hepatocyte adhesion by pulsed plasma deposition and polyethylene glycol coupling // Tissue Eng. – 2000. - V. 6., N 1. – P. 45-62.
- 1.3.27. Ertel S.I., Ratner B.D., Horbett T.A. Radiofrequency plasma deposition of oxygen-containing films of polystyrene and poly(ethyleneterephthalate) substrates improved endothelial cell growth // J. Biomedical Mater. Res. – 1990. - V. 24., N 12. – P. 1637-1659.
- 1.3.28. Vasilets V.N., Hermel G., Konig U., et al. Microwave CO₂ plasma-initiated vapour phase graft polymerization of acrylic acid onto polytetrafluoroethylene for immobilization of human thrombomodulin // Biomater. – 1997. - V. 18., N 17. – P. 1139-1145.
- 1.3.29. Malpass C.A., Millsap K.W., Sidhu H., Glower L.B. Immobilization of an oxalate-degrading enzyme on silicone elastomer // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. - V. 63., N 6. – P. 822-829.
- 1.3.30. Zhao J.-H., Wang J., Tu M., et al. Improving the cell affinity of poly(D,L-lactide) film modified by grafting collagen via a plasma technique // Biomed. Mater. – 2006. - V. 1., N 4. – P. 247-252.
- 1.3.31. Briem D., Strametz S., Schroder K., et al. Response of primary fibroblasts and osteoblasts to plasma treated polyetheretherketone (PEEK) surfaces // J. Mater. Sci. – Mater. Med. – 2005. - V. 16., N 7. – P. 671-677.
- 1.3.32. Василец В.Н. Регулирование физико-химических и биологических свойств полимерных материалов с использованием плазмы газового разряда и вакуумного ультрафиолетового излучения // Дисс. на соискание уч. степени д-ра хим. наук. Черноголовка, 2005.

- 1.3.33. Полухина О.С., Василец В.Н., Севастьянов В.И. Модифицирование физико-химических свойств поверхности полиэтиленов медицинского назначения методом прививочной полимеризации моноакрилата поли(этилен оксида), инициированной вакуумным ультрафиолетом // Перспективные материалы – 2003. – N 5. – P. 58-65.
- 1.3.34. Кузнецов А.В., Василец В.Н., Севастьянов В.И. Модифицирование физико-химических и биологических свойств медицинских полимеров вакуумным ультрафиолетовым излучением // Тезисы докл. V Международного симпозиума по теоретической и прикладной плазмохимии, Иваново, 3-8 сентября 2008 С. 387-390.
- 1.3.35. Girard-Lauriault P.-L., Mwale F., Iordanova M., et al. Atmospheric pressure deposition of micropatterned N-rich plasma-polymer film for tissue engineering // Plasma Process. Polym. – 2005. - V. 2., N 3. – P. 263-270.
- 1.4.1. Putheti R.R., Okigbo R.N., Advanapu M.S., Chavanpati S. Nanotechnology importance in the pharmaceutical industry // Af. J. Pure Appl. Chem. – 2008. - V. 2., N 3. – P. 27-31.
- 1.4.2. Lange H., Huczko A., Sioda M., et al. Influence of gadolinium on carbon arc plasma and formation of fullerenes and nanotubes // Plasma Chem. Plasma Process. – 2002. - V. 22., N 4. – P. 523-536.
- 1.4.3. Sakka Y., Okuyama H., Uchikoshi T., Ohno S. Synthesis and characterization of Fe and composite Fe-TiN nanoparticles by dc arc-plasma // J. Alloys Comp. – 2002. - V. 346., N 1-2. – P. 285-291.
- 1.4.4. Li X., Chiba A., Sato M., Takahashi S. Synthesis and characterization of nanoparticles of Alnico alloys // Acta Materialia – 2003. - V. 51., N 18. – P. 5593-5600.
- 1.4.5. Shao H., Liu T., Li X., Zhang L. Preparation of Mg₂Ni intermetallic compound from nanoparticles // Scripta Materialia – 2003. - V. 49., N 6. – P. 595-599.
- 1.4.6. Uhm H.S., Hong Y.C., Shin D.H. A microwave plasma torch and its applications // Plasma Sources Sci. Technol. – 2006. - V. 15., N 2. – P. S26.
- 1.4.7. Goktas H., Ayhan U.B., Gunduz G., et al. Synthesis of carbon nanotubes by a plasma based pulsed electron beam generator // Phys. Scr. – 2006. – N T123. – P. 145-147.
- 1.4.8. Choi J.H., Lee T.Y., Choi S.H., et al. Density control of carbon nanotubes using NH₃ plasma treatment of Ni catalyst layer // Thin Solid Films – 2003. - V. 435., N 1-2. – P. 318-323.
- 1.4.9. Bell M.S., Teo K.B., Milne W.I. Factors determining properties of multi-walled carbon nanotubes/fibres deposited by PECVD // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2007. – V.40., N 8. – P. 2285-2292.
- 1.4.10. Bell M.S., Lacerda R.G., Teo K.B.K., Milne W.I. Characterization of the growth mechanisms during PECVD of multiwalled carbon nanotubes // In: Carbon: The future material

for advanced technology application. Topics in applied physics. Springer Berlin, Heidelberg, Germany. P. 77-93.

1.4.11. Bell M.S., Teo K.B.K., Lacerda R.G. et al. Carbon nanotubes by plasma-enhanced chemical vapor deposition // Pure Appl. Chem. – 2006. - V. 78., N 6. – P. 1117-1125.

1.4.12. Barankin M.D., Creighton Y., Schmidt-Ott A. Synthesis of nanoparticles in atmospheric pressure glow discharge // J. Nanopart. Res. – 2006. - V. 8., N 3. – P. 511-517.

1.4.13. Tseng C.-H., Wang C.-C., Chen C.-Y. Functionalizing carbon nanotubes by plasma modification for the preparation of covalent-integrated epoxy composites // Chem. Mater. – 2007. - V. 19., N 2. – P. 308-315.

1.4.14. Tseng C.-H., Chen C.-Y. Growth of Ag nanoparticles using plasma-modified multi-wall carbon nanotubes // Nanotechnology – 2008. - V. 19., N 3. – P. 035606.

1.4.15. Chen Q., Dai L., Gao M., et al. Plasma activation of carbon nanotubes for chemical modification // J. Phys. Chem. – 2001. - V. 105., N 3. – P. 618-622.

1.4.16. Fridman G., Li M., Lelkes P.I., et al. Nonthermal plasma bio-active liquid micro and nano-xerography // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2005. – V. 33., N 3. – P. 1061-1065.

1.4.17. Ichiki T., Sugiyama Y., Taura R., et al. Plasma application for biochip technology // Thin Solid Films – 2003. - - V. 435., N 1-2. – P. 62-68.

1.4.18. Taura R., Koidesawa T., Ichiki T., et al Localized and ultralight-rate etching of silicon wafers using atmospheric-pressure plasma jet // In: Proceedings of 25th International conference on phenomena on ionized gases, Nagoya, Japan, 17-22 July 2001. P. 255.

1.4.19. Hong S.M., Kim S.H., Kim J.H., Hwang H.I. Hydrophilic surface modification of PDMS using atmospheric RF discharge // J. Phys.: Conf. Ser. – 2006. – V. 34. - P. 656-661.

1.4.20. Francesch L., Garreta E., Balcells M. et al. Fabrication of bioactive surfaces by plasma polymerization techniques using a novel acrylate-derived monomer // Plasma Process. Polym. – 2005. - V. 2., N 8. – P. 605-611.

1.4.21. Muguruma H., Matsui Y., Shibayama Y. Carbon nanotube-plasma polymer-based amperometric biosensors: enzyme-friendly platform for ultrasensitive glucose detection // Jpn. J. Appl. Phys. – 2007. – V. 47., N 9A. – P. 6078-6082.

1.4.22. Lin Y.-C., Lin C.-Y., Chiu P.-W. Controllable graphene N-doping with ammonia plasma // Appl. Phys. Lett. – 2010. – V. 96., N 13. – P. 133110.

1.4.23. Diankov G., Neumann M., Goldhaber-Gordon D. Extreme monolayer-selectivity of hydrogen-plasma reactions with graphene // ACSNano - V. 7., N 2. – P. 1324-1332.

1.4.24. Felten A., Flavel B.S., Eckmann A., et al. Single- and double-sided chemical functionalization of bilayer graphene // Small – 2013. – V. 4., N 4. – P. 631-639.

- 1.4.25. Felten A., Eckmann A., Pireaux J-J., et al. Controlled modification of mono- and bilayer graphene in O₂, H₂ and CF₄ plasmas // *Nanotechnology* – 2013. – V. 24., N 35. – P. 355705.
- 1.4.26. Felten A., Eckmann A., Casiraghi C., Pireaux J-J. Controlled modification of mono- and bilayer graphene // In: *Proceeding of 15th Latin American symposium workshop on plasma physics*, San Jose, Costa Rica, 27-31 January 2014. P. 77.
- 1.5.1. Крипберг И.А. Кинетика электронов в ионосфере и плазмосфере Земли. М.: Наука, 1978. 214 с.
- 1.5.2. Гершман Б.Н. Динамика ионосферной плазмы. М.: Мир, 1972. 413 с.
- 1.5.3. Херлбут Ф. Методика измерений визуализации течения // В кн. *Газодинамика разреженных газов*. М.: Изд. Иностран. лит., 1963. С. 100 - 123.
- 1.5.4. Косинов В.А., Кузнецов Л.И., Шарафутдинов Р.Г. Техника электронно-пучковой диагностики // В кн. *Экспериментальные методы в динамике разреженных газов*. Новосибирск, 1974. Изд. ИТФ СО АН СССР. С. 174 -199.
- 1.5.5. Рыкалин Н.Н. и др. Лазерная и электронно-лучевая обработка материалов. Справочник. М.: Машиностроение, 1985.
- 1.5.6. Рыкалин Н.Н., Зуев И.В., Углов А.А. Основы электронно-лучевой обработки материалов. М.: Машиностроение, 1978. 239 с.
- 1.5.7. Зуев И.В., Родякина Р.В., Пиголкин Г.М. Новые расчетные модели теплового источника при сварке электронным лучом // *Прикладная физика*. - 1996. – N 4. - С. 8 - 12.
- 1.5.8. Зуев И.В. Синергетика как фундамент для создания самоорганизующихся технологий обработки и сварки материалов концентрированными потоками энергии // *Прикладная физика*. - 1994. - Вып. 1. - С. 26 - 32.
- 1.5.9. Модифицирование поверхности лазерными, электронными и ионными пучками // Под ред. Поута и др. М.: 1987. 320 с.
- 1.5.10. Колесник В.Ф. Экспериментальное исследование особенностей нестационарного разрушения материалов электронным пучком / Дисс. на соискание уч. степени канд. физ.-мат. наук. М.: МФТИ, 1987.
- 1.5.11. Lovtsov A.S., Abashkin V.V., Gorshkov O.A., et al. Electron-beam systems for realization of plasma technologies // In: *Proceedings of 3rd Asian particle accelerator conference*, Gyeongju, Korea. 22-26 March 2004, P. 681-683.
- 1.5.12. Singh J., Schriempf J.T., Wolfe D.E. Electron beam physical vapor deposition technology: present and future applications // ARL Penn State's EB-PVD Technology web site arl.psu.edu/core/ebpvd/ebpvd.html
- 1.5.13. Kawamura K., Aoki S., Kavakami W. Treatment of exhaust gases by irradiation // *Radiat. for Clean Environment / Proc. Symp. Viena*. 1975. P. 621 - 631.

- 1.5.14. Kawamura K., Shui V.H. Radiation treatment for removing SO₂ and NO_x from exhaust gases // In: Proceedings of Ind . Appl. Radiat. and Radiat. Technol. Proc. Int. Conf., Grenoble, 28 September - 2 October 1981, P. 197 - 215.
- 1.5.15. Jordan S. On the state of the art of flue gas cleaning by irradiation with fast electrons // Radiat. Phys. Chem. - 1990. - V. 35., N 1 - 3. - P. 409 - 415.
- 1.5.16. Frank N.W. Electron-Beam FGT-Process // Ibid. P. 416 - 426.
- 1.5.17. Willibald U., Platzer K.-H., Wittig S. optimization of removable efficiency and energy consumption at the ITS-facility // Ibid. P. 422 - 426.
- 1.5.18. Platzer K.-H., Willibald U., Gottstein J., et al. Recent activities at the RDK-7 pilot plant, Karlsruhe // Ibid. P. 427 - 431.
- 1.5.19. Житомирский Б.А., Ермаков А.Н., Поскребышев Г.А., Созураков Д.М. Электронно-лучевые процессы очистки выбросных газов от оксидов азота // Применение электронных пучков и импульсных разрядов для очистки дымовых газов. Материалы семинара. М.: ИВТАН, 1992. С. 5 - 9.
- 1.5.20. Герасимова Т.С., Зароченцев Г.Г., Кудрявцев С.В. и др. Разработка концепции конструирования промышленных установок электронно-лучевой очистки газов ТЭС // Применение электронных пучков и импульсных разрядов для очистки дымовых газов. Материалы семинара. М.: ИВТАН, 1992. С. 19 - 21.
- 1.5.22. Колтун Р.М., Кащенко А.П., Лазарев В.Н. и др. Радиационно-химический метод очистки газообразных отходов металлургического производства от окислов серы и азота с применением концентрированного выпуска пучка высокоэнергетичных электронов // Применение электронных пучков и импульсных разрядов для очистки дымовых газов. Материалы семинара. М.: ИВТАН, 1992. С. 10 - 18.
- 1.5.23. Белогривцев В.М., Коротеев А.С., Ризаханов Р.Н. и др. Использование электронно-лучевой технологии в системах очистки дымовых газов угольных ТЭС // Изв. АН СССР. Энергетика и транспорт. - 1991. - N 3. - С. 26 - 34.
- 1.5.24. Карлов Н.В., Васильев М.Н., Фадеев С.А., Ризаханов Р.Н. Экспериментальная установка электронно-лучевой очистки газов от токсичных примесей // В сб.: Программа "Университеты России". Физика. М.: Изд. Московского университета, 1994. С.159 - 163.
- 1.5.25. Третьякова Н.В. Опытная электронно-лучевая установка для очистки дымовых газов ТЭС // Прикладная физика. - 1994. - N 1. - С. 45 - 49.
- 1.5.26. Денисов С.И., Денисов С.С., Сивогринов Ю.Г. и др. Очистка отходящих газов от 3,4-бенз(А)пирена // Применение электронных пучков и импульсных разрядов для очистки дымовых газов. Материалы семинара. М.: ИВТАН, 1992.С. 22 - 34.

- 1.5.27. Calhoun L.R., Allen J.T., Shaffer H.L., et al. Electron-beam systems for medical device sterilization // *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*. The online information source for the medical device industry. – 1997. <http://www.devicelink.com/mpb/archive/97/07/002.html>
- 1.5.28. Allen J.T., Calhoun R., Helm J., et al. A fully integrated 10 MeV electron beam sterilization system // *Radiat. Phys. Chem.* – 1995. V. 46., N 4-6, Part 1. – P. 457-460.
- 1.5.29. Urano S., Wakamoto I., Yamakawa T. Electron beam sterilization system // *Technical Rev.* – 2003. – V. 40., N 5. – P. 1-5.
- 1.5.30. Descamps Th. The practical experience of a total conversion to high energy electron beam processing // *Radiat. Phys. Chem.* – 1995. V. 46., N 4-6, Part 1. – P. 439-442.
- 1.5.31. Vorogushin M.F., Gavrish Yu.N., Demskii M.I., et al. An electron-beam sterilization system based on a 3-MeV linear accelerator // *Atomic Energy.* – 2003. – V. 95., N 1. – P. 486-488.
- 1.5.32. Auslender V.L., Bezuglov V.V., Bryazgin A.A., et al. Electron beam treatment line with ILU-6 machine for medicinal raw decontamination // In: *Proceedings of 21st Russian particle accelerator conference, Zvenigorod, Russia, 28 September – 3 October 2008*. P. 333-335.
- 1.5.33. Auslender V.L., Bryazgin A.A., Gonchar A.M., et al. Experience of electron beam treatment for sterilization of disposal medical goods and in other medical and biological applications // *Вестник «Радтех-Евразия»*. – 1999. – N 2. – С. 143-151.
- 1.5.34. Yamaoki R., Kimura S., Ohtsu N. et al. Effectiveness of electron beam microbial decontamination and change of essential oil components in fennel // *Radioisotopes.* - 2008. – V. 57., N 6. – P. 367-373.
- 1.5.35. Helfinstine S.L., Vargas-Aburto C., Uribe R.M., Woolverton C.J. Inactivation of *Bacillus* endospores in envelopes by electron beam irradiation // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 71., N 11. – P. 7029-7032.
- 1.5.36. Chalise P.R., Rahman M.S., Ghomi H., et al. Bacterial inactivation using low-energy pulsed-electron beam // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2004. – V. 32., N 4. – P. 1532-1539.
- 1.5.37. Curry R.D., Unklesbay K., Unklesbay N., et al. The effect of high-dose-rate X-rays on *E. coli* O157:H7 in ground beef // *IEEE Trans. Plasma Sci.* – 2000. – V. 28., N 1. – P. 122-127.
- 1.5.38. Woo L., Purohit K.S. Advancements and opportunities in sterilization // *Med. Device Technol.* – 2002. – V. 13., N 2. – P. 12-17.
- 1.5.39. Шишонок М.В., Литвяк В.В., Мурашко Е.А. и др. Структура и свойства картофельного крахмала, облученного ускоренными электронами // *Химия высоких энергий.* – 2007. – Т. 41., N 6. – С. 483-487.
- 1.5.40. Brenner P., Buth L., Schultheiss Chr., Bluhm H. Development of a medical implant coating with bioactive glass for temperature sensitive materials using a pulsed electron beam

- device // In: Proceedings of 31st IEEE International conference of plasma science, Baltimore, USA, 28 June -1 July 2004, P. 202.
- 1.5.41. Leonhardt D., Muratore C., Walton S.G. Processing with LAPPS // In: Proceedings of 31st IEEE International conference of plasma science, Baltimore, USA, 28 June -1 July 2004, P. 170.
- 1.5.42. Lee S.-H., Kim H.-W., Lee E.-J., et al. Hydroxyapatite-TiO₂ hybrid coatings on Ti implants // J. Biomater. Appl. – 2006. – V. 20., N 3. – P. 195-208.
- 1.5.43. Schilling D., Schuler S., Dransfeld K. Electron-beam poling of very thin PVDF and VDF-TrFE copolymer films // In: Proceedings of 6th IEEE International symposium on Electrets, Oxford, England, 1-3 September 1988, P. 80-86.
- 1.5.44. Harnett C.K., Satyalakshmi K.M., Craighead H.G. Low-energy electron-beam patterning of amine-functionalized self-assembled monolayers // Appl. Phys. Lett. – 2000. – V. 76., N 17. – P. 2466-2468.
- 1.5.45. Nicolau D.V., Taguchi T., Dusa M., Yoshikawa S. Bio-nano-structures built on e-beam-assisted functionalized polymer surfaces // Proceedings of SPIE. Smart Materials, Structures, and Integrated Systems. – 1997. – V. 3241. – P. 222-227.
- 1.5.46. Aguliar A.D., Forzani E.S., Li X., et al. Chemical sensors using peptide-functionalized conducting polymer nanojunction arrays // Appl. Phys. Lett. – 2005. – V. 87., N 19. – P. 193108.
- 1.5.47. Alexander T.A., Wickenden A.E. Electron beam lithography (EBL) engineered nanostructures for biosensing // Proceedings of SPIE. Smart Medical and Biomedical Sensor Technology II. – 2004. – V. 5588. – P. 78-86.
- 1.5.48. McBane R.D., Karnincki K., Tahirkheli N. et al. Platelet characteristics associated with coronary disease // J. Thromb. Haemost. – 2003. – V. 1., N 6. – P. 1296-1303.
- 1.5.49. Soraljja D., Gami A.S., Somers V.K. et al. Independent association between obstructive sleep apnea and subclinical coronary artery disease // Chest. – 2008. – V. 133., N 4. – P. 927-933.
- 1.5.50. Schulz E., Arfai K., Liu X., et al. Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – V. 89., N 9. – P. 4246-4253.
- 1.5.51. Farhat G.N., Cauley J.A., Matthews K.A. et al. Volumetric BMD and vascular calcification in middle-age women: the study of women's health across the nation // J. Bone Mineral Res. – 2006. – V. 21., N 12. – P. 1839-1846.
- 1.5.52. Рыбас К.П. Электронные пушки и термоэмиссионные катоды, используемые в ускорителях электронов. Препринт НИИЭФА. № К-0387. Л.: 1977.

- 1.5.53. Картавый С.К., Смирнов В.В. Современный уровень зарубежного оборудования для лучевых методов обработки материалов // Сварочное производство. -1986. - N 6. - С. 41-44.
- 1.5.54. Локшин В.Е. и др. Электронно-лучевая сварочная аппаратура ЭЛА-15 // Автоматическая сварка. - 1986. – N 3. - С. 67-70.
- 1.5.55. Аппаратура электронно-лучевая ЭЛА 60/60. Информационный бюллетень ЦНИИТЭИ Приборостроения. М.: 1984.
- 1.5.56. Каплан А.А. и др. Сварочная электронно-лучевая пушка ТЭП 60/60 // Сварочное производство. - 1984. – N 12. - С. 32-33.
- 1.5.57. Локшин В.Е., Галушка В.В. Электронно-лучевая сварочная аппаратура мощностью 15 и 60 кВт // Тезисы докл. Международной конференции по электронно-лучевым технологиям, Варна, Болгария, 26 мая - 2 июня 1985. С. 305-306.
- 1.5.58. Переводчиков В.И. и др. Электронные пушки для электронно-лучевой металлургии и физические процессы, определяющие стабильность их работы // Тезисы докл. Международной конференции по электронно-лучевым технологиям, Варна, Болгария, 26 мая - 2 июня 1985. С. 140-143.
- 1.5.59. Зубченко Ю.В. Разработка эмиссионных систем для мощных сварочных электронно-лучевых пушек // Тезисы докл. Международной конференции по электронно-лучевым технологиям, Варна, Болгария, 26 мая - 2 июня 1985. С. 97-102.
- 1.5.60. Завьялов М.А. и др. Электронные пушки для технологии // Электротехника. - 1983. - N 7. - С. 66-68.
- 1.5.61. Завьялов М.А. и др. Электронная пушка мощностью 500 кВт // ПТЭ. - 1980. - N 2. - С. 223-224.
- 1.5.62. Крейнделъ Ю.Е. Плазменные источники электронов. М.: Энергоатомиздат, 1977. 143 с.
- 1.5.63. Источники электронов с плазменным эмитером. Сб. статей под ред. Ю.Е. Крейнделя. Новосибирск, 1983.
- 1.5.64. Абрамян Е.А. Промышленные ускорители электронов. М.: Энергоатомиздат, 1986. 248 с.
- 1.5.65. Свиныин М.П. Расчет и проектирование высоковольтных ускорителей электронов для радиационной технологии. М.: Энергоатомиздат, 1989. 143 с.
- 1.5.66. Абрамян Е.А., Альтеркоп Б.А., Кулешов Г.Д. Интенсивные электронные пучки. М.: Энергоатомиздат, 1984. 232 с.
- 1.5.67. Бугаев С.П., Крейнделъ Ю.Е., Щанин П.М. Электронные пучки большого сечения. М.: Энергоатомиздат, 1984. 113 с.

- 1.5.68. Окно для электронного пучка. Патент США № 4494036, МКИ³ H01 33/04, НКИ 313/420. Оpubл. 15.01.85.
- 1.5.69. Окно и поддерживающая структура для электронных процессоров большой мощности. Патент США № 4591756, МКИ³ H01 33/04, НКИ 313/420. Оpubл. 27.05.86.
- 1.5.70. Pauli W.E. Uber line neue entladungsrohre die den austritt alter in der rohe entstehenden strahlen in die atmospharische luft gesttater // Zeit. Phys. - 1920. - V. 21., N 1. P. 11 - 14.
- 1.5.71. Синицын С.Т. Выпуск корпускулярных лучей из трубки через открытое отверстие // ЖТФ. - 1933. - Т. 3., N 4. - С. 277 - 282.
- 1.5.72. Schumacher B.W., Lowry J.F., Smith R.S. High Power Electron Beams in Atmosphere // In: Proceedings of 4th International Electron Beam Processing Symposium. 1976.
- 1.5.73. Ускорители Института ядерной физики СО АН СССР для промышленных радиационно-технологических процессов. Препринт ИЯФ СО АН СССР № 79-29. Новосибирск, 1979.
- 1.5.74. Иевлев В.М., Коротеев А.С. Вывод в атмосферу и исследование мощных стационарных электронных пучков // Изв. АН СССР. Сер. Энергетика и транспорт. - 1981. - N 3. - С. 3 - 13.
- 1.5.75. Горбунов В.А., Куксанов Н.К., Салимов Р.А. Выпуск в атмосферу концентрированного пучка электронов мощностью до 60 кВт ускорителя ЭЛВ-4 // Тезисы докладов III Всесоюзного совещания по применению ускорителей заряженных частиц в народном хозяйстве. Ленинград. 26 - 28 июня 1979. Ч. 1. С. 122 - 125.
- 1.5.76. Трохан А.Н. О выводе электронных пучков из вакуума в газ через газодинамическое окно // ПМТФ.- 1965. – N 5. - С. 108 - 111.
- 1.5.77. Бычков В.Л., Васильев М.Н., Коротеев А.С. Электронно-пучковая плазма. Генерация, свойства, применение. М.: МГОУ, 1993. 167 с.
- 1.5.78. Васильев М.Н. Применение электронно-пучковой плазмы в плазмохимии // Энциклопедия низкотемпературной плазмы. Под ред. В.Е. Фортова. Т. XI. М.: Наука, 2001. С. 436-445.
- 1.5.79. Singh J., Quli F., Wolfe D.E., et al. An Overview: Electron Beam-Physical Vapor Deposition Technology - Present and Future Applications // State University, USA, 1999. <http://www.infohouse.p2ric.org>
- 1.5.80. Соколов О.М., Васильев М.Н., Чухчин Д.Г. Исследование изменения состава древесины при обработке низкоэнтальпийной электронно-пучковой плазмой // Изв. высш. учеб. заведений Лесной журнал. – 1999. - № 2-3. - С. 167-175.
- 1.5.81. Чухчин Д.Г., Казаков Я.В. Исследование возможности применения в производстве бумаги компонентов древесины, обработанных электронно-пучковой плазмой // Охрана

окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов: сборник научных трудов. Архангельск. – 1997. - Вып. 3. - С.82-84.

1.5.82. Ельцова Ю.В., Соколов О.М., Чухчин Д.Г. Плазмохимическая обработка верхового малоразложившегося торфа с получением субстрата для производства кормовых дрожжей // Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов: сб. науч. тр./ АГТУ. – 1999. – Вып. 6. – С. 34-38.

1.5.83. Чуркина Ю.В., Соколов О.М., Чухчин Д.Г. Экологически безопасная плазмохимическая переработка торфа // Поморье в Баренц регионе на рубеже веков: экология, экономика, культура – 2000: Междунар. техн. конф.- Архангельск: Институт эколог. проблем Севера УрО РАН. – 2000. – С. 259-260.

1.5.84. Zengoi Y., Zongnan L., et al. A review of microelectronic film deposition using direct and remote electron-beam-generated plasma // IEEE Trans. on Plasma Sci. - 1990. - V. 18., N 5. - P. 753-765.

1.5.85. Suhr H. Applications and trends of nonequilibrium plasma chemistry with organic and organometallic compounds // Plasma Chem. Plasma Process. - 1989. - V. 9., N 1. - P. 7S-28S.

1.5.86. Wirz P. Modern Techniques: Sputtering, Evaporation // Vakuuum-Technik. - 1989. - N 7. - P. 208-214.

1.5.87. Сухинин Г.И. Электронно-пучковая диагностика, активация и кинетика в свободных струях газа низкой плотности. Дисс. на соиск. уч. степени доктора физико-математических наук. Новосибирск, 1997. 342 с.

1.5.88. Vasenkov A.V., Belikov A.E., Sharafutdinov R.G., Kuznetsov O.V. Flow-field properties under deposition of films from low density jets // J. Appl. Phys. - 1995. - V. 77., N 9. - P. 4757-4764.

1.5.89 Belikov A.E., Kusnetsov O.V., Sharafutdinov R.G. Electron-beam diagnostics of gas mixtures involved in SiO₂ film deposition // Plasma Chem. Plasma Process. - 1995. - V.15., N 3. - P. 481-486.

1.5.90. Васенков А.В., Беликов А.Е., Шарафутдинов Р.Г., Кузнецов О.В. Взаимодействие свободной струи газа низкой плотности с подложкой при осаждении пленок // Микроэлектроника. - 1995. - Т. 24., N 3. - С. 163-171.

1.5.91. Шарафутдинов Р.Г., Бакланов М.Р., Аюпов Б.М. и др. Особенности процессов осаждения и свойств слоев морфного кремния, полученных плазмохимическим методом с электронно-лучевой активацией газов // ЖТФ. - 1995. - Т. 64., N 1. - С. 181-185.

1.5.92. Sharafutdinov R.G., Skrynnikov A.V., Parakhnevich A.V., et al. High-rate deposition of a-Si:H films using flow plasma-chemical method with electron beam activation // J. Appl. Phys. - 1996. - V. 79., N 6. - P. 1-7.

- 1.5.93. Sharafutdinov R.G., Biryukov S.A., Efimov V.M. Deposition of SiO₂ layers from gas jets using electron beam activation of reactants // Tech. Phys. - 1996. - V. 41., N 6. - P. 613-619.
- 1.5.94. Sharafutdinov R.G., Khmela S.Ya., Shchukin V.G., et al. Gas-jet electron beam plasma chemical vapor deposition method for solar cell application // Sol. Energy Mater. Sol. Cells – 2005. – V. 89., N 2-3. - P. 99-111.
- 1.5.95. Шарафутдинов Р.Г., Зарвин А.Е., Мадирбаев В.В. и др. Получение водорода из метана в электронно-пучковой плазме // Письма в ЖТФ – 2005. – Т. 31., N 15. - С. 23-28.
- 1.5.96. Shustin E.G., Isaev N.V., Klykov I.L., Peskov V.V. Plasma processing reactor on a base of beam plasma discharge for producing and processing nanomaterials // Proc. J. Int. Conf Nanomaterials: Applications and Properties – 2012 - V.1., N 4. – P. 04PITSE08.
- 1.5.97. Lokk E.H., North S.H., Walton S.G., Taitt C.R. Electron beam-generated plasmas for biomaterial processing // Материалы семинара Drexel Plasma Institute. 2011. www.plasmainstitute.org/2011/02/22

Литература к главе II

- 2.3.1. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193., N 1. – P. 265-275.
- 2.3.2. Досон Р., Элиот Д., Элиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. С. 465.
- 2.3.3. Laurell C.-B. Antigen-antibody crossed electrophoresis // Anal. Biochem. – 1965. – V. 10., N 2. – P. 358-361.
- 2.3.4. Руководство по количественному иммуноэлектрофорезу. Методы и применение. Под ред. Н. Аксельсен, Й. Крелль, Б. Веке. М.: Мир. 1977, 216 с.
- 2.3.5. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. - 1970. - V. 227., N 5259. - P. 680-685.
- 2.4.1. Born J.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // Nature – 1962. – V.194., N5. – P.927-929.
- 2.4.2 Born J.V.R. Quantitative investigation into the aggregation of blood platelets // J. Physiol. – 1962. – V.162., N4. – P.487-511.
- 2.4.3. Walkowiak B., Michalak E., Koziolkiewicz W., Cierniewski C.S. Rapid photometric method for estimation of platelet count in blood plasma or platelet suspension // Thromb. Res. – 1989. – V. 56., N 6. – P. 763-766.
- 2.4.4. Quick J. The prothrombin in hemophilia and obstructive jaundice // J. Biol. Chem. – 1935. – V.109., N 1. – P. 73-74.

- 2.4.5. Quick J., Stanley-Brown M., Bancroft F.W. A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice // *Am. J. Med. Sci.* – 1935. – V. 109., N 4. – P. 501-511.
- 2.4.6. Clauss A. Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen // *Acta Haematol.* – 1957. - V.17., N 4. – P. 237-246.
- 2.4.7. Государственная Фармакопея, XI издание, 1999.
- 2.4.8. Макаров В.А., Спасов А.А., Плотников, М.Б. и др. Методические рекомендации по изучению лекарственных средств, влияющих на гемостаз // *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н. и др. Часть первая.* – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. (Глава 27, С. 453-479).
- 2.4.9. Rensink W.A., Buell C.R. Arabidopsis to rice. Applying knowledge from a weed to enhance our understanding of a crop species // *Plant Physiol.* – 2004. - V.135., N 2. – P. 622-629.
- 2.4.10. Coelho S.M., Peters A.F., Charrier B., et al. Complex life cycles of multicellular eukaryotes: new approaches based on the use of model organisms // *Gene.* – 2007. - V.406., N 1-2. – P. 152-170.
- 2.4.11. Forde B.G., Culter S.R., Zaman N., Krysan P.J. Glutamate signaling via a MEKK1 kinase-dependent pathway induces changes in Arabidopsis root architecture // *Plant J.* - 2013. - V. 75., N 1. – P. 1-10.
- 2.4.12. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- 2.5.1. Greenler R.G. Reflection method for obtaining the infrared spectrum of a thin layer on metal surface // *J. Chem. Phys.* – 1969. - V 50., N 5. - P. 1963-1968.
- 2.5.2. Trasferetti B.C., Davanzo C.U., Zoppi R.A., et al. Berreman effect applied to phase characterization of thin films supported on metallic substrates: the case of TiO₂ // *Phys. Rev. B.* – 2001.- V. 64., N 12. – P. 125404.
- 2.5.3. Zhang J.Y., Boyd I.W., O'Sullivan B.J., et al. Nanocrystalline TiO₂ films studied by optical, XRD and FTIR spectroscopy // *J. Non-Cryst. Solids* – 2002. – V. 303., N 1. - P. 134-138.
- 2.5.4. Bellamy L.J. The infrared spectra of complex molecules. Methuen & Co., London. 1954
- 2.5.5. Balamurugan A., Michel J., Faure J., et. al. Synthesis and structural analysis of sol gel derived stoichiometric monophasic hydroxyapatite // *Ceramics – Silikaty* – 2006. – V. 50., N 1. - P. 27-31.
- 2.5.6. van der Houwen J.A.M., Cressey G., et al. The effect of organic ligands on the crystallinity of calcium phosphate // *J. Cryst. Growth* – 2003. – V. 249., N 3-4. - P. 572-583.

2.5.7. Rapacz-Kmita A., Slosarczyk A., Paszkiewicz Z.C., Paluszkiwicz C. Phase stability of hydroxyapatite-zirconia (HAp-ZrO₂) composites for bone replacement // J. Mol. Struct. – 2004. – V. 704., N 1-3. - P. 333-340.

2.5.8. Berzina-Cimdina L., Borodajenko N. Research of calcium phosphates using Fourier transform infrared spectroscopy. In: “Infrared spectroscopy – Materials science, engineering and technology, 2012. P. 123-148,

2.5.9. Powder diffraction file. Data cards. Inorganic section. Swarthmore. Pennsylvania. USA. 1948–2004.

2.6.1. Sato K., Kumagai Y., Tanaka J. Apatite formation on organic monolayers in simulated body environment // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2000. - V. 50., N 1. – P. 16-20.

2.6.2. Kokubo T., Ito S., Huang Z.T., et al. Ca, P-rich layer formed on high-strength bioactive glass-ceramic A-W // J. Biomed. Mater. Res. A. – 1990. – V. 24., N 3. – P. 331-343.

Литература к главе III

3.2.1. Vasiliev M.N., Mahir A.H., Vasilieva T.M. Pulse operation modes of hybrid plasma generators // In: Proceedings of 35th IEEE International Conference on Plasma Science, Karlsruhe, Germany, 15-19 June 2008, P. 451.

3.6.1. Константинов В.О., Хмель С.Я. Исследование потоков газов, активированных в электронно-пучковой плазме // Прикладная механика и техническая физика – 2007. – Т. 48, N 1. – С. 3-10.

Литература к главе IV

4.4.1. Васильев М.Н., Ворона Н.А., Гавриков А.В., Петров О.Ф., Сидоров В.С., Фортон В.Е. Аномально высокая зарядка дисперсных частиц электронным пучком энергией 25 кэВ // Письма в ЖТФ. - 2010. - Т. 36., N 24. - С. 54-60.

Литература к главе V

5.1.1. Вертелов Г.К. Природные α-аминокислоты, содержащие пирозолидиновый цикл // Дисс. на соискание уч. степени канд. хим. наук. М.: МГУ, 2004.

5.1.2. Хитин и хитозан: природа, получение и применение. Под ред. Варламова В.П., Немцева С.В., Тихонова В.Е. Изд-во Российского Хитинового Общества, 2010. 292 с.

5.1.3. Савицкая И.М., Фурманов Ю.А. Механизм гемостатического действия альгинатных материалов // Клиническая хирургия. – 1989. – N 1. – С. 17 – 19.

5.1.4. Curnier A., Choudhary S. Triple approach to rhinophyma // Ann. Plast. Surg. – 2002. – V. 49, N 2. – P. 211–214.

5.1.5. Henderson N.J., Crawford P.J., Reeves B.C. A randomised trial of calcium alginate swabs to control blood loss in 3-5-year-old children // Br. Dent. J. – 1998. – №4. – P. 187–190.

- 5.1.6. Кондратьев В.Д. Проблемы обеспечения безопасности дорожного движения // 5-я Всероссийская научно-практическая конференция "Скорая помощь". – 2004. – Москва – С. 21–26.
- 5.1.7. Муравьева В.Н., Францева В.О., Кануков И.Х. и др. О межведомственных подходах к профилактике дорожного травматизма в городе Ставрополе. Медицинские аспекты обеспечения безопасности дорожного движения // 5-я Всероссийская научно-практическая конференция "Скорая помощь". – 2004. – Москва – С. 34–36.
- 5.1.8. Мыльникова Л.А. Вопросы межведомственного взаимодействия при ликвидации последствий ДТП // 5-я Всероссийская научно-практическая конференция "Скорая помощь". – 2004. – Москва – С. 37–38.
- 5.1.9. Ройтман Е.В. Инновации и экономика в современной клинической гемостазиологии (часть 1) // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2011. – Т. 47., N 3. - С. 66-73.
- 5.1.10. Ройтман Е.В. Инновации и экономика в современной клинической гемостазиологии (часть 2) // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2011. – Т. 47., N 3. - С. 74-80.
- 5.2.1. Solum N.O., Rigollot C., Budzynski A.Z., Marder V.J. A quantitative evaluation of the inhibition of platelet aggregation by low molecular weight degradation products of fibrinogen // Brit. J. Haematol. – 1973. – V. 24., N 4. – P. 419-434.
- 5.2.2. Larrieu M.J. Action of fibrinogen degradation products and fibrin monomer soluble complexes on platelet aggregation // Scand. J. Haematol. Suppl. – 1971. – V. 13. – P. 273-279.
- 5.2.3. de Gaetano G., Donati M.B., Vermeylen J. Human platelet clumping by bovine fibrinogen during its degradation // Scand. J. Haematol. Suppl. – 1971. – V. 13. – P. 281-284.
- 5.2.4. Васильева Т.М., Макаров В.А., Петрухина Г.Н. и др. Исследование действия RGD-содержащих пептидов на агрегационную способность тромбоцитов // Экспер. клин. фармакол. – 2006. – Т.69., N 4. – С. 39-42.
- 5.2.5. Васильева Т.М., Макаров В.А., Петрухина Г.Н. и др. Антиагрегационное действие RGD-содержащих пептидов *ARGDS-NH₂*, *RGD-DFK* и *VPNLRGDLQVLA* // Проблемы гематологии и переливания крови. – 2005. – N 4. – С. 4-6.
- 5.2.6. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: ФЭК, 2000, 364 с.
- 5.2.7. Sharp R.G. A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields // Agronomy. – 2013. – V. 3., N 4. – P. 757-793.
- 5.2.8. Katiyar D., Hemantaranjan A., Singh B., Bhanu A.N. A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides // Adv. Plants Agric. Res. – 2014. - V. 1., N 1. – P. 00006.

5.2.9. Katiyar D., Hemantaranjan A., Singh B. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review // *Ind. J. Plant Physiol.* – 2014. - V. 20., N 1. – P. 1-9.

5.3.1. Cho S.O., Jun H.Y. Surface hardening of poly(methyl methacrylate) by electron irradiation // *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B.* – 2005. - V. 237., N 3. – P. 525-532.

Литература к главе VI

6.4.1. Логинов Л.П. Лечение травматических дефектов кожи и мягких тканей // *Русский медицинский журнал.* - 2001. Т. 9., N 20. - С. 860-862.

6.6.2. Садова С.Ф. Использование низкотемпературной плазмы в отделке шерстяных материалов // *Химия высоких энергий* – 2006. – Т. 40., N 2. - С. 83-95.

6.6.3. Улесова А.В., Гречко А.А., Садова С.Ф. Непрерывное крашение модифицированной плазмой тлеющего разряда шерстяной ткани, содержащей полиамидное волокно // *Химические волокна* – 2008. - N 2. - С. 44-47.

6.6.4. Садова С.Ф., Журавлева С.М., Телегина Т.А. Воздействие плазмы тлеющего разряда на клеточно-мембранный комплекс волокна // *Тезисы докл. III Международного симпозиума по теоретической и прикладной плазмохимии, Плес, Россия, 16-21 сентября 2002.* Т. 1. С. 363-364.

6.6.5. Садова С.Ф., Абубакирова К.Д., Горбаткина Ю.А., Кечежян А.С. Изучение адгезионного взаимодействия полиуретанов с шерстью // *Изв. ВУЗов. Технология текстильной промышленности* – 1988. - N 5. - С. 67-70.

6.6.1. *Plasma Proteins.* Eds. Blomback B., Hanson L.A. N.Y.: John Wiley and Sons, Ltd., 1979, 401 p.

6.7.1. Lima M.D., Li N., de Andrade M.J., et al. Electrically, chemically, and photonically powered torsional and tensile actuation of hybrid carbon nanotube yarn muscles // *Science* – 2012. – V. 338., N 6109. – P. 928-932.

Литература к главе VII

7.1.1. Аброян И.А., Андронов А.Н., Титов А.И. Физические основы электронной и ионной технологии. М.: Высшая школа, 1984, 320 с.

7.1.2. Бармин А.А., Ризаханов Р.Н. Феноменологическая модель описания распространения электронного пучка в плотной газовой среде // *Прикладная физика.* – 2007. - N 6. - С. 115-118.

7.1.3. Коновалов В.П., Сон Э.Е. Деградационные спектры электронов в газах // *Химия плазмы.* Под ред. Б.М. Смирнова. М.: Энергоатомиздат, 1987. Вып. 14. С. 194-227.

- 7.2.1. Aleksandrov N.L., Vasil'ev M.N., Lysenko S.L., Makhir A.Kh. Experimental and theoretical study of a quasi-steady electron-beam plasma in hot argon // *Plasma Phys. Rep.* – 2005. - V. 31., N 5. - P. 425-435.
- 7.2.2. Бычков В.Л., Юровский В.А. Моделирование пучковой плазмы паров воды // *ТВТ* - 1993. - Т. 31., N 1. - С. 8-17.
- 7.2.3. Смирнов Б.М. Ионы и возбужденные атомы в плазме. М.: Атомиздат, 1974. 457 с.
- 7.2.4. Смирнов Б.М. Комплексные ионы. М.: Наука, 1983. 152 с.
- 7.2.5. Neeser S., Kunz T., Langhoff H. A kinetic model for the formation of Ar₂ excimers // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 1997. - V. 30, N 10. - P. 1489-1506.
- 7.2.6. Aleksandrov N.L., Bazelyan E.M., Gorunov A.Yu., Kochetov I.V. Non-thermal mechanism of spark breakdown in air // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 1999. - V. 32., N 20. - P. 2636-2644.
- 7.2.7. Kossyi I.A., Kostinsky A.Yu., Matveyev A.A., Silakov V.P. Kinetic scheme of the non-equilibrium discharge in nitrogen-oxygen mixtures // *Plasma Sources Sci. Technol.* – 2006. - N 1. – P. 207-220.
- 7.2.8. Мак-Ивен М., Филлипс Л. Химия атмосферы. М.: Мир, 1978, 375 с.
- 7.2.9. Ionin A.A., Kochetov I.V., Napartovich A.P., Yuryshv N.N. Physics and engineering of singlet delta oxygen production in low-temperature plasma // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2007. - V. 40, N 2. - R.25-27.
- 7.2.10. Florescu-Mitchell A.I., Mitchell J.B.A. Dissociative recombination // *Phys. Rep.* – 2006. - V. 430, N 5-6. - P. 277-374.
- 7.2.11. Александров Н.Л. Трехчастичное прилипание электрона к молекуле // *УФН* – 1988. – Т. 154. - N 2. – С. 177-207.
- 7.2.12. Belostotsky S.G., Economou D.J., Lopaev D.V., Rakhimova T.V. Negative ion destruction by O(3P) atoms and O₂(a1Δg) molecules in an oxygen plasma // *Plasma Sources Sci. Technol.* – 2005. - N 14. – P. 532-542.
- 7.3.1. Пикаев А.К. Современная радиационная химия. Твердое тело и полимеры. Прикладные аспекты. М.: Наука, 1987. 448 с.
- 7.3.2. Иванов А.А., Лейман В.Г. Электронные пучки в плазмохимии. Химия плазмы. М.: Атомиздат, 1978. Вып. 5. С. 176 – 221.
- 7.3.3. Persin Z., Zaplotnik R., Kleinschek K.S. Ammonia plasma treatment as a method promoting simultaneous hydrophilicity and antimicrobial activity of viscose wound dressings // *Textile Res. J.* – 2014. – V. 84., N 7. – P. 751-763.

- 7.3.4. Vasiliev M.N., Alsayed M.A. Ali Experimental study of dusty plasma of electronic beams // In: Proceedings of 13th Symposium on Application of Plasma Processes, Tale, Low Tatras, Slovakia, 15-21 January 2001, Symposium Proceedings II, P. 147-148.
- 7.3.5. Fortov V.E., Gavrikov A.V., Petrov O.F., et al. Superhigh dust charging by high-voltage electron beam // *Europhysics Letters* – 2011. - V. 94., N 5. – P. 55001.
- 7.3.6. Huxley L.G.H., Crompton R.W. The diffusion and drift of electrons in gases. N.Y.: Wiley, 1974, 669 p.
- 7.3.7. Shustin E.G., Isaev N.V., Temiryazeva M.P., Fedorov Yu.V. Beam plasma discharge at low magnetic field as plasma source for plasma processing reactor // *Vacuum* – 2009. - V. 83., N 11. - P. 1350-1354.
- 7.4.1. Физические величины. Справочник. Под ред. И.С. Григорьева, Е.З. Мейлихова. М.: Энергоатомиздат. 1991, 1232 с.
- 7.5.1. Davies M.J., Truscott R.J. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2001. – V. 63., N 1-3. – P. 114-125.
- 7.5.2. Pattison D., Davies M.J. Actions of ultraviolet light on cellular structures // *EXS.* - 2006. – N. 96. – P. 131-157.
- 7.5.3. Diehl J.E. Chemical effects of ionizing radiation // In: Safety of irradiated foods, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 1995. P. 43-44.
- 7.5.4. Moneim A.E., Afify M.R., Shousha M.A. Effect of low-dose irradiation on soybean solubility, trypsin inhibitor activity, and protein patterns separated by polyacrylamide gel electrophoresis // *J. Agric. Food Chem.* – 1988. – V. 36., N 4. – P. 810-813.
- 7.5.5. Clarke R., Richards F.F. Effect of gamma-irradiation on beef myoglobin // *J. Agric. Food Chem.* – 1988. – V. 19., N 1. – P. 170-174.
- 7.5.6. Hajos G., Delincee H. Structural investigation of radiation-induced aggregates of ribonuclease // *Int. J. Radiat. Biol.* – 1983. – V. 44., N 4. – P. 333–339.
- 7.5.7. Ma C.Y., Sahasrabudhe M.R., Poste L.M. Gamma irradiation of shell eggs. Internal and sensory quality, physicochemical characteristics, and functional properties // *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* – 1990. - V. 23., N 4-5. – P. 226-232.
- 7.5.8. Ma C.Y., Harwalker V.R., Poste L.M., Sahasrabudhe M.R. Effect of gamma-irradiation on the physicochemical and functional properties of frozen liquid egg products // *Food Res. Int.* – 1993. – V. 26., N 4. - P. 247–254.
- 7.5.9. Gaber M.H. Effect of γ -irradiation on the molecular properties of bovine serum albumin // *J. Biosci. Bioeng.* – 2005. – V. 100., N 2. – P. 203-206.
- 7.5.10. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных. Учеб. для биол. спец. вузов. М.: Высш. шк. 1988. 424 с.

- 7.5.11. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // Биохимия – 2007. – Т. 72., N 8. – С. 995-1017.
- 7.5.12. Ruehlicke C., Schneider D., Schneider M., et al. Protein fragmentation due to slow highly charged ion impact // Nanotechnology – 1998. – V. 9., N 3. – P. 251-256.
- 7.5.13. Ruehlicke C., Briere M.A., Schneider D. AFM studies of a new type of radiation defect on mica surface caused by highly charged ion impact // Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B – 1995. – V. 99., N 1-4. – P. 528-531.
- 7.5.14. McFarlane R.D., Torgerson D.F. Californium-252 plasma desorption mass spectrometry // Science. – 1976. – V. 191., N 4. – P. 920-925.
- 7.5.15. Bouchonnet S., Denhez J.P., Hoppilliard Y., et al. Is plasma desorption mass spectrometry useful for small-molecular analysis? Fragmentation of the natural alpha-amino acids // Anal. Chem. – 1992. – V. 64., N 7. – P. 743-754.
- 7.5.16. Berkout V.D. Fragmentation of singly protonated peptides via interaction with metastable rare gas atoms // Anal. Chem. – 2009. – V. 81., N 2. – P. 725-731.
- 7.5.17. Davies K.J.A., Delsingnore M.E. Protein damage and degradation by oxygen radicals // J. Biol. Chem. – 1987. – V. 262., N 20. – P. 9895-9913.
- 7.5.18. Grune T., Klotz L.-O., Gieche J., et al. Protein oxidation and proteolysis by the nonradical oxidants singlet oxygen or peroxyxynitrite // Free Radical Biol. Med. – 2001. – V. 30., N 11. – P. 1243-1253.
- 7.5.19. Dean R.T., Fu S., Stocker R., Davies M.J. Biochemistry and pathology of radical mediated protein oxidation // Biochem. J. – 1997. – V. 324., Pt. 1. – P. 1-18.
- 7.5.20. Foote C.F. Mechanisms of photosensitized oxidation // Science – V. 162., N 3857. – P. 963-970.
- 7.5.21. Moller M.N., Li Q., Vitturi D.A., et al. Membrane "lens" effect: focusing the formation of reactive nitrogen oxides from *NO/O₂ reaction // Chem. Res. Toxicol. – 2007. – V. 20., N 4. – P. 709-714.
- 7.5.22. Watson C., Janik I., Zhuang T., et al. Pulsed electron beam water radical radiolysis for submicrosecond hydroxyl radical protein footprinting // Anal. Chem. – 2009. – V.81., N 1. – P. 2496-2505.
- 7.5.23. Kiselar J.G., Maleknia S.D., Sullivan S.D., et al Hydroxyl radical probe of protein surfaces using synchrotron on X-ray radiolysis and mass spectrometry // Int. J. Radiat. Biol. – 2002. – V. 78., N 2.- P. 101-114.
- 7.5.24. Cabelli D.E. The reactions of HO₂/O₂-radicals in aqueous solution // In: Peroxyl Radicals. Ed.: Z.B. Alfassi. John Wiley and Sons Ltd.: New York, 1997, P. 407-437.

- 7.5.25. Bielski B.H.J., Shiue G.G. Reaction rate of superoxide radicals with essential amino acids // In: Oxygen free radicals and tissue damage. *Experta Medica*: Amsterdam, the Netherlands, 1979. P. 43-56.
- 7.6.1. Ильина А.В., Зуева О.Ю., Лопатин С.А., Варламов В.П. Ферментативный гидролиз α -хитина // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2004. – Т. 40., N 1. – С. 43-45.
- 7.6.2. Zargar V., Asghari M., Dashti A. A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications // *ChemBioEng. Rev.* – 2015. - V. 2., N 3. - P. 204-226.
- 7.6.3. Rashid T.U., Rahman M.M., Kabir S., Shamsuddin S.M., Khan M.A. A new approach for the preparation of chitosan from γ -irradiation of prawn shell: effects of radiation on the characteristics of chitosan // *Polym. Int.* – 2012. – V. 61. N 8. – P. 1302-1308.
- 7.6.4. Gryczka U., Dondi D., Chmielewski A.G., Migdal W., Buttafava A., Faucitano A. The mechanisms of chitosan degradation by gamma and e-beam irradiation // *Radiat. Phys. Chem.* – 2009. – V. 78., N 7–8. – P. 543-548.
- 7.6.5. Tahtat D., Mahlous M., Benamer S., Khodja A.N., Youcef S.L. Effect of molecular weight on radiation chemical degradation yield of chain scission of γ -irradiated chitosan in solid state and in aqueous solution // *Radiat. Phys. Chem.* – 2012. – V. 81., N 6. – P. 659-665.
- 7.6.6. Pasanphan W., Rimdusit P., Choofong S., Piroonpan T., Nilsuwankosit S. Systematic fabrication of chitosan nanoparticle by gamma irradiation // *Radiat. Phys. Chem.* – 2010. – V. 79., N 10. – P. 1095-1102.
- 7.6.7 Chmielewski A.G. Chitosan and radiation chemistry // *Radiat. Phys. Chem.* – 2010. – V. 79. N 3. – P. 272-275.
- 7.6.8. Saranwong N., Inthanon K., Wongkham W., Wanichapichart P., Suwannakachorn D., Yu L.D. Surface and protein analyses of normal human cell attachment on PIII-modified chitosan membranes // *Nucl. Instrum. Meth. B.* – 2012. – V. 272. – P. 386-390.
- 7.6.9. Wanichapichart P., Taweepreeda W., Choomgan P., Yu L.D. // *Radiat. Phys. Chem.* 2010. V. 79. № 3. P. 214.
- 7.6.10. Inthanon K., Saranwong N., Wongkham W., Wanichapichart P., Prakrajang K., Suwannakachorn D., Yu L.D. PIII-induced enhancement and inhibition of human cell attachment on chitosan membranes // *Surf. Coat. Tech.* – 2013. – V. 229. – P. 112-119.
- 7.6.11. Kim M.S., Choi Y.J., Park H.S., Noh I. Analysis of chitosan irradiated with high-energy cyclotron ion beams // *J. Phys. Chem. Solids.* – 2008. – V. 69., N 5–6. – P. 1569-1572.
- 7.6.12. Kim M.S., Choi Y.J., Noh I. // *J. Phys. Chem. Solids.* – 2008. – V. 69., N 5–6. P. 1577-1580.

- 7.6.13. Zhao L., Mitomo H. Hydrogels of dihydroxypropyl chitosan crosslinked with irradiation at paste-like conditions // *Carbohydr. Polym.* – 2009. – V. 76., N 2. – P. 314-319.
- 7.6.14. Yoshii F., Zhao L., Wach R.A., Nagasawa N., Mitomo H., Kume T. Hydrogels of polysaccharide derivatives crosslinked with irradiation at paste-like conditions // *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. B.* – 2003. – V. 208. – P. 320-324.
- 7.6.15. Zhao L., Mitomo H. Radiation effects on dihydroxypropyl-chitosan // *Polym. Degrad. Stab.* – 2008. – V. 93., N 8. – P. 1607-1610.