

04

## Исследование электрофизических параметров холодной плазменной струи в гелии и аргоне

© Е.В. Милахина,<sup>1,2</sup> П.П. Гугин,<sup>1</sup> Д.Э. Закревский,<sup>1,2</sup> И.В. Швейгерт,<sup>3</sup> М.М. Бирюков,<sup>4</sup>  
Е.А. Патракова,<sup>4</sup> О.А. Коваль<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН,  
630090 Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский государственный технический университет,  
630073 Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Институт теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича СО РАН,  
630090 Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
630090 Новосибирск, Россия  
e-mail: lena.yelak@gmail.com

Поступило в Редакцию 12 января 2024 г.

В окончательной редакции 6 марта 2024 г.

Принято к публикации 10 марта 2024 г.

Проведены экспериментальные исследования параметров генерации холодной плазменной струи, инициируемой синусоидальным напряжением в гелии и аргоне в единой геометрии разрядного устройства, и ее взаимодействия с модельными мишенями — диэлектрической пластиной и культуральной средой с онкологическими клетками. Исследованы зависимости амплитуды и частоты импульсов тока, достигающего мишень, и ее температуры в различных условиях. Определены особенности и оптимальные параметры (амплитуда и частота инициирующего напряжения, геометрия зоны взаимодействия) и дозы облучения гелиевой и аргонной плазменной струей для подавления жизнеспособности онкологических клеток аденокарциномы легкого человека A549 и аденокарциномы молочной железы MCF7.

**Ключевые слова:** плазменная струя атмосферного давления, гелий, аргон.

DOI: 10.61011/JTF.2024.05.57811.4-24

### Введение

Низкотемпературная плазма является важным инструментом в научных и технологических процессах и в последнее время все больше используется в промышленных областях, таких как обработка поверхностей, синтез озона, очистка выхлопных газов и т.д. [1–5] и многие другие. Некоторые виды плазмы из-за своего неравновесного характера (температура газа значительно ниже температуры электронов) позволяют создавать активные компоненты без чрезмерного нагрева газа и воздействовать на мишени, в том числе на живые организмы, чувствительные к нагреву. Поэтому в последнее время все большее внимание привлекают исследования и применения воздействия плазменных образований на биологические объекты (см., например, обзоры [6–8] и цитированную в них литературу).

Методы генерации холодной плазмы атмосферного давления достаточно хорошо развиты, причем используются различные геометрии разрядного промежутка, составы газовой среды и методы энергетического воздействия на газ. Среди многочисленных разновидностей низкотемпературной плазмы атмосферного давления в биомедицинских приложениях используются тлеющие высокочастотные разряды, диэлектрические барьерные

разряды и особое внимание привлекают, так называемые холодные плазменные струи (ХПС). В этом случае разрядная зона представляет собою диэлектрический канал, в котором организовано протекание рабочего газа и осуществляется контактное (газовый разряд между электродами) или бесконтактное (СВЧ, ВЧ, барьерный разряд) возбуждение среды. Непосредственно плазменная струя — это разновидность газового разряда, которая в определенных условиях выходит за пределы разрядной зоны и представляет собою плазменное образование, распространяющееся в окружающей среде в потоке инертного газа, прокачиваемого через разрядное устройство (см., например, [9–15] и др.).

Результатом воздействия плазменного образования на биообъект является генерация в газовой и водной среде ионов, азото- и кислородосодержащих радикалов, активно взаимодействующих с клетками биологической ткани, повреждая их и вызывая клеточную гибель. Особый интерес вызывает тот факт, что активные компоненты, генерируемые плазмой, подавляют жизнедеятельность злокачественных новообразований, оказывая селективное воздействие на здоровые и опухолевые клетки. Достоверно продемонстрирован противоопухолевый эффект на более чем двадцати различных опухолевых моделях *in vitro* и *in vivo* [6,13] и др.

При позитивной динамике количества и качества проводимых исследований остается множество нерешенных вопросов, в большей степени касающиеся механизмов плазмохимического и плазмозофического воздействия на опухолевые и здоровые клетки. Процессы и механизмы, вызывающие гибель раковых клеток при взаимодействии с плазменными образованиями, сложны, и в настоящее время активно исследуются (см., например, [16]). Проблема заключается и в том числе в сложности сравнения и невоспроизводимости результатов исследований вследствие различающейся геометрии экспериментальных установок [17,18]; многообразия условий и дизайна физико-биологических экспериментов; отсутствия стандартизированных методик облучения; отличий параметров плазмы у поверхности мишеней и биологических объектов различной природы *in vivo* и *in vitro*; проявления физических особенностей при взаимодействии плазмы с мишенями, отсутствия контроля и сравнения электрических характеристик различных объектов, а также влияния внешней среды и других неконтролируемых факторов. При воздействии плазмы на биологические объекты для инициирования ХПС используются различные виды газового разряда в различных частотных диапазонах, со значительно различающимися иницирующими напряжениями и скоростями потока плазмообразующих газов (воздух, гелий, аргон, их смесей с кислородом, азотом). Многообразие методов генерации и условий плазменного воздействия приводит к сложности сравнения результатов исследований и поэтому трансляция разработанных методик на модельные и, особенно, живые объекты с дальнейшим переходом к клиническим испытаниям может вызвать затруднения.

Отметим, что кинетика ХПС и динамика ее взаимодействия с различными объектами значительно зависят от свойств облучаемой мишени (см., например, [19–23]).

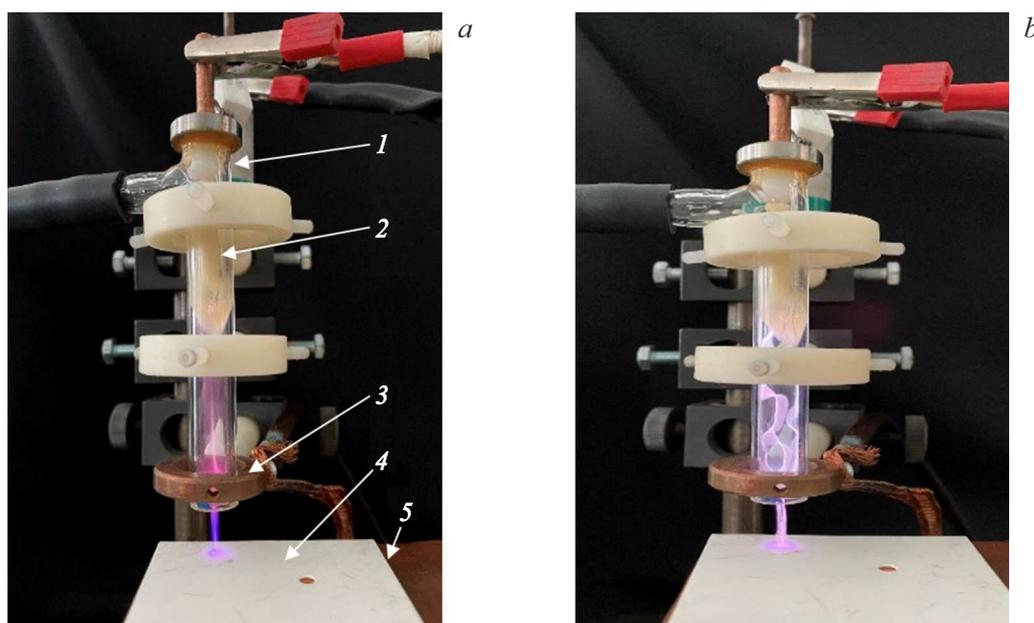
Проводя исследования физических параметров ХПС, генерируемых в гелии и аргоне, и эффектов их воздействия на биологические объекты [24–30], систематизируя и обобщая результаты, видно, что параметры плазменных струй (амплитуда и частота иницирующего напряжения; ток, достигающий мишень; скорость потока и сорт плазмообразующего газа; доза облучения), при которых наблюдается селективность воздействия и максимальный цитотоксический эффект (эффект подавления жизнедеятельности онкологических клеток) существенно различаются. Поэтому представляется актуальным „сравнительное“ исследование параметров плазменных струй и лимитирующих факторов плазменного воздействия на биологические объекты при инициировании ХПС синусоидальным напряжением в гелии и аргоне в одной геометрии разрядного устройства применительно к биофизическим исследованиям. Это и являлось целью настоящей работы.

## 1. Экспериментальная установка

Источник плазменной струи представлял собою разрядную ячейку в виде коаксиального диэлектрического канала длиной  $L = 100$  mm с внутренним диаметром 10 mm. В центре канала расположен медный электрод в виде стержня длиной  $l$  с диаметром  $d$ . В конце канала размещено сопло — диэлектрический капилляр с диаметром отверстия  $d_0$  и длиной  $l_0$ . Разрядная зона была образована внутренним потенциальным электродом и кольцевым заземленным электродом, расположенным снаружи диэлектрического канала у сопла (рис. 1).

Для генерации плазменной струи использовался источник синусоидального напряжения с регулируемой частотой  $f_U = 10–52$  kHz и напряжением с амплитудой  $U$  до 7 kV. Напряжение (ток, достигающий объект облучения) по величине специально ограничивалось для обеспечения безопасных условий воздействия ХПС в будущих экспериментах с моделями животных. Эксперименты проводились с гелием He (объемная доля гелия 99.995%) и аргоном Ar (объемная доля аргона 99.99%). Для измерения напряжения  $U$  использовался омический высокоомный делитель. Измерения тока проводились датчиком, расположенным на расстоянии от сопла  $z$  перпендикулярно оси распространения ХПС и представлявшим собою коллектор — плоский металлический электрод (медная пластина). Заземление коллектора через малоиндуктивное сопротивление позволяло регистрировать частоту и амплитуду импульса тока  $I$ , достигающего коллектора.

В качестве объекта воздействия ХПС использовалась мишень — керамическая пластина из  $Al_2O_3$  толщиной 1 mm, размещенная на коллекторе. Во всех экспериментах заземленный металлический коллектор играл роль дополнительного электрода для создания в промежутке плазменный стример—заземленный электрод конфигурации электрического поля с повышенной напряженностью. Это приводило к интенсификации генерации активных радикалов в зоне контакта ХПС с мишенью [23,26]. Расстояние от сопла до мишени  $z$  устанавливалось таким образом, чтобы плазменная струя касалась мишени и было оптимизировано по максимальному подавлению жизнедеятельности онкологических клеток в биофизических экспериментах [23–30]. Спектральные измерения проводились спектрометром „Колибри-2“ [31], настроенный на диапазон длин волн  $\lambda = 190–360$  nm с оптическим разрешением 0.17 nm. Регистрация оптического излучения области контакта плазменной струи с мишенью осуществлялась на расстоянии 3 mm под углом  $30^\circ$  от вертикали. Затем излучение передавалось на спектрометр через многомодовый кварцевый световод. Все эксперименты сопровождались измерением температуры области взаимодействия плазменной струи с объектом с помощью тепловизора Testo 872 [32].



**Рис. 1.** Конструкция устройства генерации и фотографии ХПС в гелии (*a*) и в аргоне (*b*): 1 — диэлектрический канал, 2 — внутренний потенциальный электрод, 3 — внешний заземленный электрод, 4 — керамическая пластина, 5 — дополнительный заземленный электрод.

## 2. Экспериментальные результаты и обсуждение

При подаче рабочего газа гелия со скоростью потока  $v \geq 1-2 \text{ L/min}$  и при приложении к электродам синусоидального напряжения с частотой  $f_U \geq 12 \text{ kHz}$  с амплитудным значением  $U \geq 1 \text{ kV}$  внутри диэлектрического канала в разрядной зоне потенциальный электрод—земляной электрод загорается разряд. В гелии развитие ХПС сводится к хорошо разделяемым по напряжению этапам: появление на потенциальном электроде светящихся пятен ( $U \approx 1.1 \text{ kV}$ ); формирование разряда ( $U > 1.4 \text{ kV}$ ) с последующим его распространением внутри канала при увеличении напряжения; появление плазменной струи вне разрядного канала, распространяющейся в свободном пространстве ( $U > 2 \text{ kV}$ ). В аргоне разряд загорается при  $v \geq 1 \text{ L/min}$ , при  $U \geq 2.8 \text{ kV}$  и при частоте  $f_U \geq 20 \text{ kHz}$ . В этом случае пробой разрядного промежутка и формирование плазменной струи с выходом за пределы сопла происходит практически одновременно.

В гелии и аргоне визуально наблюдается значительная разница между характером свечения разряда внутри диэлектрического канала и, соответственно, характером протекания тока внутри канала. В гелии разряд представляет собою устойчивый однонаправленный токовый шнур (рис. 1, *a*), в аргоне наблюдается неустойчивый (стохастический) характер разряда (рис. 1, *b*). Стоит отметить, что при уменьшении внутреннего диаметра диэлектрического канала (менее  $5 \text{ mm}$ ) разряд в аргоне стабилизируется и, как и в гелии, становится однона-

правленным. Фотографическая регистрация ХПС демонстрирует тот факт, что плазменная струя в промежутке сопло—мишень неоднородна. В гелии на выходе из сопла наблюдается однонаправленный токовый канал, который в области перед мишенью расслаивается — в каждом импульсе сформированный стример распространяется по разному пространственному пути. Данное явление можно объяснить накоплением заряда на диэлектрической мишени в точке касания стримером поверхности. За счет неоднородного распределения поверхностного заряда появляется радиальное электрическое поле, вызывающее отклонение головки следующего стримера при приближении к поверхности мишени. В аргоне этот эффект выражен значительно сильнее — расслоение ХПС наблюдается по всей длине струи.

Пространственная локализация плазменной струи вне источника определяется геометрией канала, размером капилляра, скоростью потока газа и напряжением. Предварительные исследования и оптимизация плазменной струи по линейным размерам, необходимым для манипуляций и проведения биологических экспериментов, а также по интенсивности свечения гидроксильного радикала ОН (регистрировалась  $\lambda \approx 309 \text{ nm}$ , переход  $A^2\Sigma-X^2\Pi$ ) позволили выбрать геометрию разрядного промежутка, сопла, параметры инициирующего напряжения и скорости потока рабочего газа. При длине потенциального электрода  $l = 50 \text{ mm}$ , его диаметре  $d = 2 \text{ mm}$ ; размерах сопла: диаметр отверстия  $d_0 = 2.3-2.6 \text{ mm}$  и длине  $l_0 = 5 \text{ mm}$ , в гелии при амплитуде напряжения  $U \approx 3-5 \text{ kV}$  и скорости потока  $v = 6-9 \text{ L/min}$  длина струи достигала  $\sim 70 \text{ mm}$ ; в

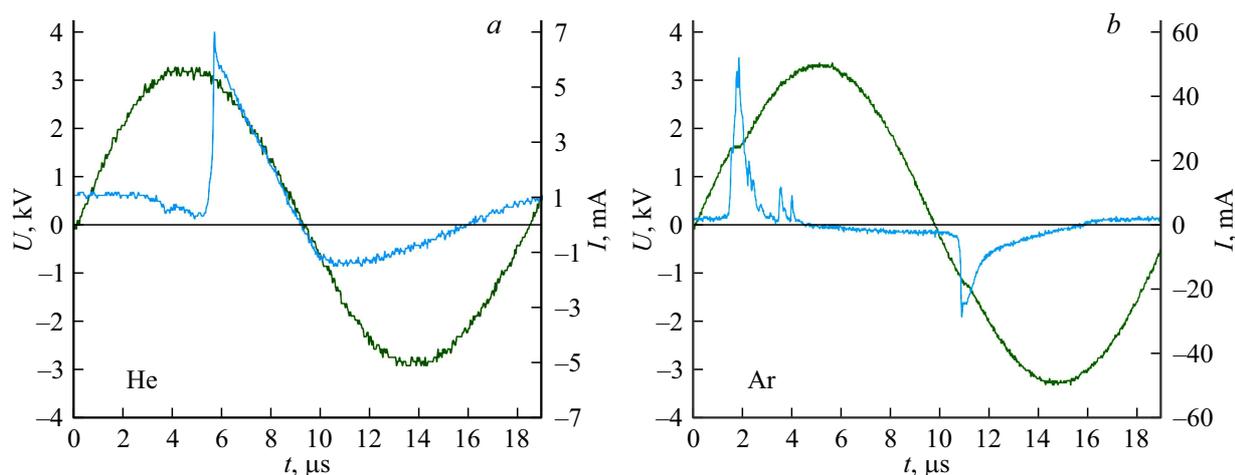


Рис. 2. Фрагменты осциллограмм ХПС в: *a* – гелии ( $\nu = 9 \text{ L/min}$ ,  $z = 20 \text{ mm}$ ); *b* – аргоне ( $\nu = 4 \text{ L/min}$ ,  $z = 15 \text{ mm}$ ).

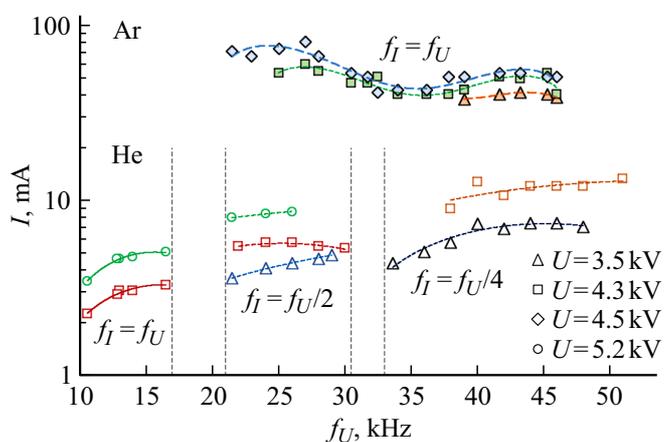


Рис. 3. Зависимости  $I(f_U)$ ,  $z = 15 \text{ mm}$ : He ( $U = 3.5, 4.3$  и  $5.2 \text{ kV}$  ( $\nu = 9 \text{ L/min}$ )), Ar ( $U = 3.5, 4.3$  и  $4.5 \text{ kV}$ ,  $\nu = 4 \text{ L/min}$ ).

аргоне при  $U \approx 4\text{--}5 \text{ kV}$  и  $\nu = 4 \text{ L/min}$  длина струи  $\sim 25\text{--}30 \text{ mm}$ . Отметим, что отношение интенсивности свечения радикала ОН ( $\lambda \approx 309 \text{ nm}$ ) при контакте с керамической мишенью/культуральной жидкостью при наличии и отсутствии заземленного коллектора, достигало  $\sim 10$  и  $\sim 3$  раз в гелии и аргоне соответственно.

На рис. 2 представлены осциллограммы одного периода напряжения и тока плазменной струи, достигающей мишень, расположенной на заземленном коллекторе на расстоянии  $z = 20$  и  $15 \text{ mm}$  в гелии и аргоне соответственно. В гелии на положительной полуволне наблюдается положительный импульс тока, (что является типичным при используемой схеме регистрации тока). В аргоне импульсы тока наблюдаются на положительной и отрицательной полуволнах напряжения, при этом различаются по амплитуде. Отметим, что в экспериментах в гелии при малых расстояниях  $z < 5 \text{ mm}$  также наблюдаются импульсы тока на положительной и отрицательной полуволнах инициирующего напряжения.

В [33] было показано, что взаимодействие плазменной струи, генерируемой при синусоидальном возбуждении в потоке гелия ( $U = 2\text{--}5 \text{ kV}$ ,  $f_U = 25\text{--}50 \text{ kHz}$ ), с мишенью, расположенной на заземленном металлическом коллекторе, приводит к эффекту самостабилизации частоты тока. Частота касания мишени плазменной струей  $f_I$  отличается от частоты прикладываемого инициирующего напряжения  $f_U$  и может быть стабильно кратной ей —  $f_I = f_U/2$ ,  $f_U/3$ ,  $f_U/4$ . Эффект зависит от частоты, амплитуды прикладываемого напряжения, а также от типа мишени, расстояния до нее, и определяется соотношением плотности плазмы, образующейся в головке стримера, к остаточной плотности плазмы над поверхностью мишени. Стример формируется и распространяется внутри диэлектрического канала в каждом цикле напряжения, но после выхода из сопла стример может достигнуть мишень или погаснуть при взаимодействии с облаком квазинейтральной плазмы, наработанной предыдущими стримерами [26]. Это приводит к тому, что зависимости амплитуды тока, достигающего мишень, от частоты инициирующего напряжения  $I(f_U)$  имеют нерегулярный характер, а зависимости амплитуды тока от амплитуды напряжения  $I(U)$  в широком интервале  $U$  для различных  $f_U$  оказываются неоднозначными. Так как электромагнитные, химические, тепловые процессы на поверхности мишени зависят от частоты контактов плазмы с мишенью, то неоднозначность параметров ХПС и соответственно параметров облучения биологических объектов может приводить и к неопределенности результатов биофизических экспериментов.

На рис. 3 приведены частотные характеристики — зависимости  $I(f_U)$  при  $z = 15 \text{ mm}$  в гелии для  $U = 3.5, 4.3$  и  $5.2 \text{ kV}$  ( $\nu = 9 \text{ L/min}$ ) и в аргоне для  $U = 3.5, 4.2$  и  $4.5 \text{ kV}$  ( $\nu = 4 \text{ L/min}$ ). В гелии общей тенденцией является увеличение амплитуды тока, достигающего мишень, с ростом частоты прикладываемого напряжения для одинаковых напряжений и с увеличением напряже-

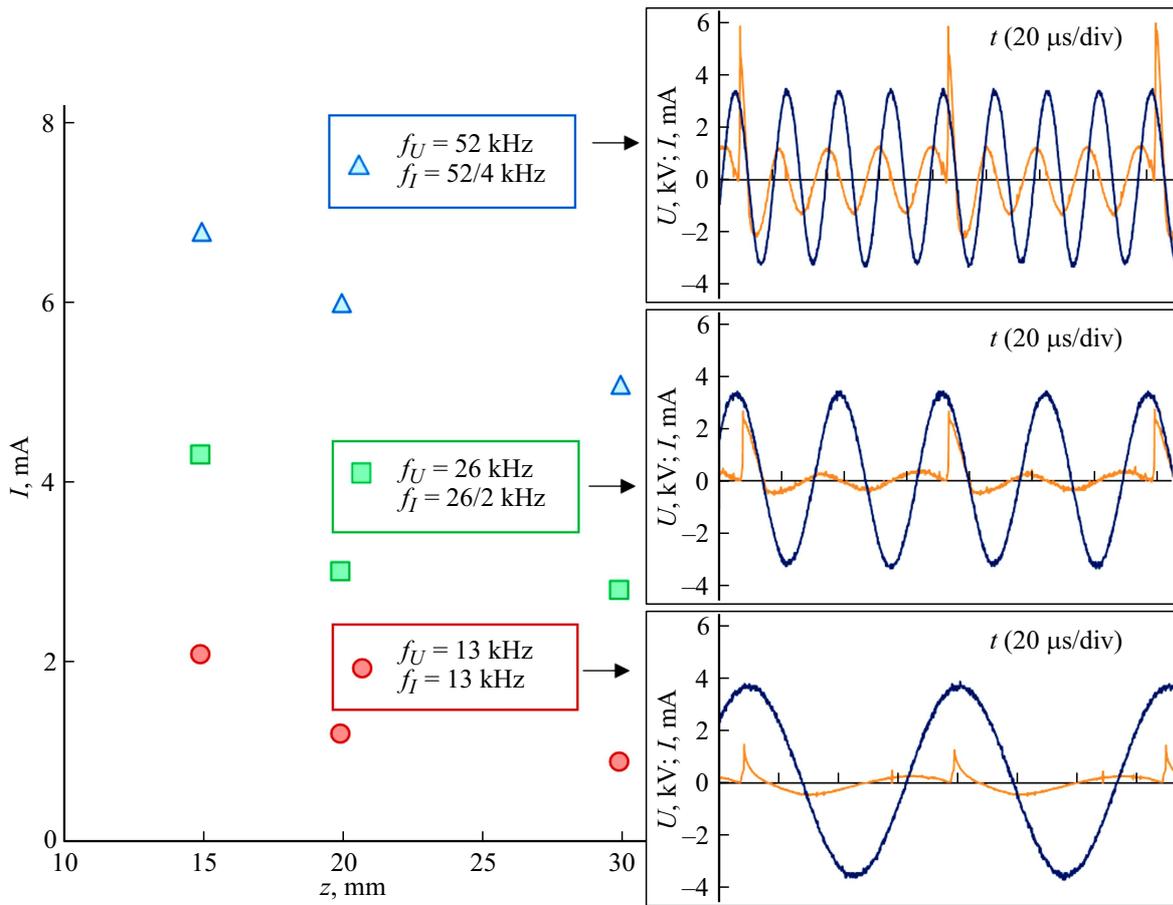


Рис. 4. Зависимости  $I(z)$  и осциллограммы ХПС при разных  $f_U$ ; He, 9 L/min,  $z = 20$  mm.

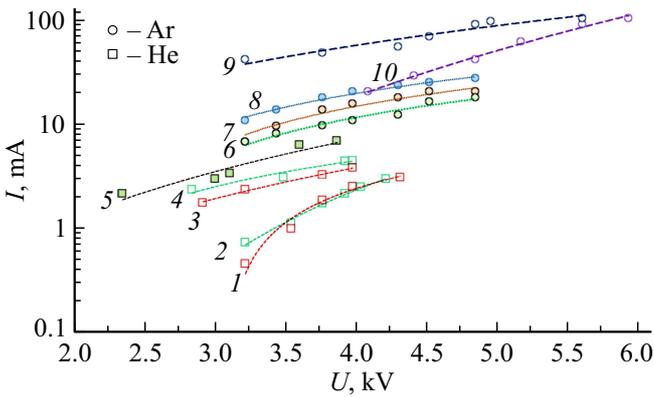
ния для одинаковых частот. Максимальные достигаемые амплитуды тока не превышали 15 мА. При увеличении  $f_U$  частота тока  $f_I$  оказывается пропорциональной  $f_U$ ,  $f_U/2$  и  $f_U/4$ . Эксперименты, проведенные для трех фиксированных частот инициирующего напряжения  $f_U \approx 52$ , 26 и 13 kHz при  $v = 9$  L/min и  $z = 20$  mm, продемонстрировали, что на мишени регистрируются импульсы тока с одинаковой частотой  $f_I \approx f_U = 52/4$ , 26/2 и 13 kHz соответственно (рис. 4).

Между областями однозначного соответствия частоты инициирующего напряжения и тока, достигающего мишени, находятся переходные зоны с нерегулярной („плавающей“) частотой  $f_I$ , выделенные на рис. 3 вертикальными пунктирными прямыми. Для всех частот с увеличением расстояния между соплом и мишенью  $z$  ток  $I$  уменьшается. Например, при  $U = 3.5$  kV и  $f_U = 52$  kHz ( $f_I = f_U/4 \approx 13$  kHz) при  $z = 15$ ; 20 и 25 mm ток, достигающий подложку  $I \approx 6.8$ , 6.2 и 5.1 mA, соответственно.

В аргоне характер зависимостей  $I(f_U)$  иной. Во всем исследованном диапазоне амплитуды и частоты инициирующего напряжения наблюдается регулярный характер импульсов тока  $f_I = f_U$  с тенденцией уменьшения тока при увеличении  $f_U$  и сопровождаемой  $\sim 40\%$  моду-

ляцией и увеличением амплитуды тока с увеличением напряжения для одинаковых частот. С уменьшением  $U$  частота  $f_U$ , при которой разряд внутри диэлектрического канала загорается, увеличивается. Например, при  $U \leq 3.5$  kV разряд загорается при  $f_U > 38$  kHz, а при  $U \approx 4.5$  kV разряд загорается при  $f_U \approx 20$  kHz. Амплитуда тока достигала  $\sim 80$  mA при  $U \geq 4.5$  kV. При сопоставимых напряжениях инициирования плазменной струи токи ХПС в аргоне, значительно больше, чем в гелии, что может оказаться некомфортным и опасным при облучении живых объектов с точки зрения электробезопасности.

На рис. 5 представлены зависимости  $I(U)$  для ХПС в гелии и аргоне. Для гелия семейства кривых  $I(U)$  приведены при  $z = 20$  mm для следующих условий:  $f_U \approx 13$  kHz,  $v = 6$  и 9 L/min (условия, при которых наблюдается однозначное соответствие  $f_I \approx f_U$ , кривые 1,2);  $f_U \approx 26$  kHz,  $v = 6$  и 9 L/min (условия, при которых  $f_I \approx f_U/2$ , кривые 3,4);  $f_U \approx 52$  kHz,  $v = 9$  L/min (условия, при которых  $f_I \approx f_U/4$ , кривая 5). Для аргона зависимости  $I(U)$  приведены при  $z = 15$  mm для:  $f_U \approx 50$  kHz и  $v = 3$ ; 4 и 6 L/min (кривые 6-8 соответственно),  $f_U \approx 24$  kHz и  $v = 4$  L/min (кривая 9) и  $f_U = 13$  kHz и  $v = 4$  L/min (кривая 10). В гелии



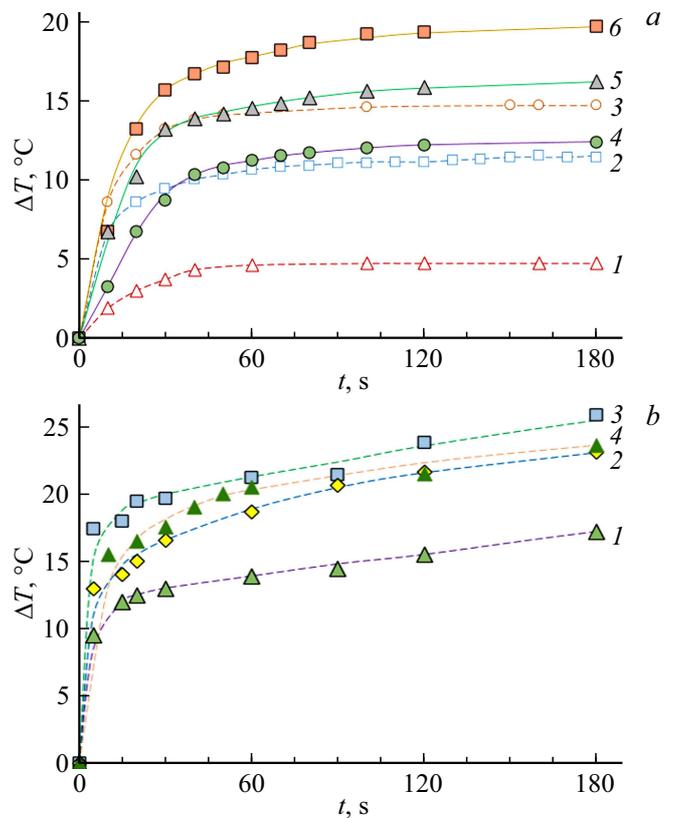
**Рис. 5.** Зависимости  $I(U)$ : He ( $f_U \approx 13$  (1,2); 26 (3,4) и 52 kHz (5),  $\nu = 6$  (1,3) и 9 (2,4,5) L/min,  $z = 20$  mm); Ar ( $f_U \approx 50$  (6–8); 24 (9) и 13 kHz (10),  $\nu = 3$  (6); 4 (7,9,10) и 5 (5) L/min,  $z = 15$  mm).

зависимости имеют однотипный характер: с ростом напряжения  $U$  ток  $I$  сублинейно растет; в исследованном диапазоне скоростей потока  $\nu$  ток слабо зависит от  $\nu$ . В отличие от [34], в которой исследовались зависимости  $I(U)$  при контакте ХПС с металлическим коллектором, в настоящем случае, при контакте ХПС с диэлектрической мишенью достигнутый ток меньше  $I \sim 3\text{--}4$  mA. В аргоне при регулярном характере  $I(f_U)$  с увеличением напряжения амплитуда импульсов тока растет для всех  $f_U$  и всех  $\nu$ . При одинаковых напряжениях с увеличением скорости потока  $\nu = 1\text{--}5$  L/min достижимы большие токи. Для меньших  $f_U = 13$  и 24 kHz характер зависимостей  $I(f_U)$  не меняется. В гелии при  $\nu > 12$  L/min, в аргоне при  $\nu > 5$  L/min в данной геометрии сопла и разрядной ячейки газовый поток, выходящий из сопла, становится неустойчивым в пространстве и нерегулярно достигает коллектора, что связано переходом от ламинарного к турбулентному режиму течения газа.

Одним из факторов действия ХПС на биологические объекты является тепловой эффект. Терапевтическое применение плазменного воздействия ограничивает допустимый нагрев объекта, что уменьшает возможный диапазон параметров плазменной струи. Совокупность биологических экспериментальных результатов авторов [25–30] демонстрирует, что подавление жизнедеятельности злокачественных клеток более эффективно при более интенсивном взаимодействии плазмы с объектом. С увеличением напряжения (тока) и частоты касания стримера с объектом интенсивность взаимодействия ХПС струи с мишенью возрастает. Очевидно, что температура биологического объекта  $T = T_0 + \Delta T$  (где  $T_0$  — собственная температура,  $\Delta T$  — приращение температуры вследствие облучения ХПС) не должна превышать максимально допустимую  $T = 42^\circ\text{C}$ , так как это может привести к ожогу и дестабилизации белковых тканей.

На рис. 6 приведены зависимости приращения температуры мишени от времени воздействия  $\Delta T(t)$  при облучении плазменной струей, генерируемой в гелии (рис. 6, a), при  $U = 3.5$  и 3.9 kV,  $f_U = 13$  kHz,  $z = 20$  mm,  $\nu = 3$  и 9 L/min (режим  $f_I \approx f_U$ ) и  $U = 2.9$  и 3.3 kV,  $f_U = 52$  kHz,  $z = 20$  mm,  $\nu = 6$  и 9 L/min (режим  $f_I \approx f_U/4$ ) и в аргоне (рис. 6, b) при  $U = 3.5$  и 3.9 kV,  $f_U = 13$  и 50 kHz,  $z = 15$  mm и  $\nu = 4$  L/min.

В гелии характерное время установления температуры мишени не превышает  $t \approx 60$  s и в дальнейшем зависимость  $\Delta T(t)$  имеет практически стационарный вид. В режимах функционирования ХПС с частотой иницирующего напряжения  $f_U = 13$  kHz (режим  $f_I \approx f_U$ ) при фиксированном расстоянии сопло — мишень  $z$  с увеличением амплитуды напряжения  $U$  при постоянных скорости потока  $\nu$  (рис. 6, a, кривые 1,2) и при уменьшении  $\nu$  при постоянных  $U$  (рис. 6, a, кривые 2,3) температура мишени  $T$  возрастает. При указанных параметрах приращение температуры мишени находится в диапазоне  $\Delta T = 4.5\text{--}15^\circ\text{C}$ . Аналогично при  $f_U = 52$  kHz (режим  $f_I \approx f_U/4$ ) температура мишени возрастает при увеличении  $U$  при постоянной  $\nu$  (рис. 6, a, кривые 4,6) и уменьшении  $\nu$  при постоянной  $U$  (рис. 6, a, кривые 5,6) с  $\Delta T = 10\text{--}20^\circ\text{C}$ . При больших частотах  $f_U$



**Рис. 6.** Зависимости  $\Delta T(t)$ : a — He,  $\nu = 9$  (1,2,5); 6 (4); 3 (3) l/min,  $f_U = 13$  (1–3); 52 (4–6) kHz;  $U = 3.9$  (2,3); 3.5 (1); 3.3 (5,6) и 2.9 (4) kV;  $z = 20$  mm; b — Ar,  $\nu = 4$  (1,3,4); 3 (2) l/min,  $f_U = 52$  (1–3); 13 (4) kHz;  $U = 3.5$  (1); 3.9 (2–4) kV;  $z = 15$  mm.

при  $U > 4.5$  kV ( $f_I \approx f_U/2$ ) увеличение  $\Delta T$  может превысить  $30^\circ\text{C}$  [35]. Для уменьшения  $\Delta T$  необходимо либо снижение рабочего напряжения, либо увеличение расстояния между соплом и объектом облучения, что не всегда допустимо, так как приводит к уменьшению тока, достигающего мишень, и с величиной которого связана интенсивность генерации активных радикалов на ее поверхности. Другим способом является увеличение скорости потока рабочего газа, что, в свою очередь, сопряжено с отклонением от условий по оптимальной концентрации активных радикалов, являющейся экстремальной функцией скорости потока [25]. При условии, что температура поверхности (кожи) живого объекта  $T \approx 34\text{--}35^\circ\text{C}$ , то допустимая величина  $\Delta T \approx 6\text{--}8^\circ\text{C}$ , что предопределяет выбор необходимых параметров ХПС, дозу и расстояние до объекта облучения. Так, в экспериментах при облучении животных — мышей (8–12 недельные самцы линии BALB/C средней массы 25–30 g развода вивария ИХБФМ СО РАН) гелиевой плазменной струей с параметрами  $U = 4.5$  kV,  $f_U \approx 13$  kHz,  $z = 20$  mm,  $v = 9$  L/min, время облучения  $t = 1\text{--}2$  min средняя температура кожи достигала  $T \approx 37.8 \pm 0.7^\circ\text{C}$  [26]. В аналогичных условиях с  $f_U \approx 52$  kHz с  $f_I = f_U/4 \approx 13$  kHz средняя температура кожи может превышать  $T \approx 41^\circ\text{C}$ .

В аргоне характерное время установления температуры мишени  $t \approx 30$  s с последующей тенденцией медленного установления стационарного состояния. Температура мишени возрастает при увеличении  $U$  при постоянной  $v$  (рис. 6, b, кривые 1,3); при увеличении  $f_U$  при постоянной  $v$  и  $U$  (рис. 6, b, кривые 3,4); при увеличении  $v$  при постоянной  $U$ . При аналогичном характере зависимостей и закономерностях нагрева мишени  $\Delta T(t)$  и  $\Delta T(U)$ , типичных для ХПС в гелии, приращение температуры может достигать значительных величин  $\Delta T \approx 15\text{--}30^\circ\text{C}$  и более. Подобное приращение температуры приемливо при исследовании плазменного воздействия на клетки *in vitro* с собственной температурой  $T_0$ , близкой к комнатной, но недопустимо для воздействия на живые организмы. Помимо вышперечисленных факторов уменьшения  $\Delta T$  необходимо ограничение дозы — времени облучения. Так, например, в [29] при ХПС с параметрами  $U = 4.9$  kV,  $f_U \approx 40$  kHz,  $z = 25$  mm,  $v = 4$  L/min типичное время облучения  $t = 30\text{--}120$  s в зависимости от объема лунок культурального планшета и облучаемого биологического материала. При воздействии на живые объекты необходимо более значительное ограничение времени облучения. Результаты экспериментов показывают, что аргонная плазменная струя имеет более узкий диапазон допустимых режимов для воздействия на биологические, особенно живые объекты.

На рис. 7 приведены зависимости амплитуды тока  $I$  (кривые 1,3,5) и величины приращения температуры мишени  $\Delta T$  (кривые 2,4,6) от амплитуды напряжения  $U$  для скоростей потока  $v = 6$  (рис. 7, a) и  $9$  (рис. 7, b) L/min при  $f_U = 52$  (кривые 1,2);  $26$  (кривые 3,4)

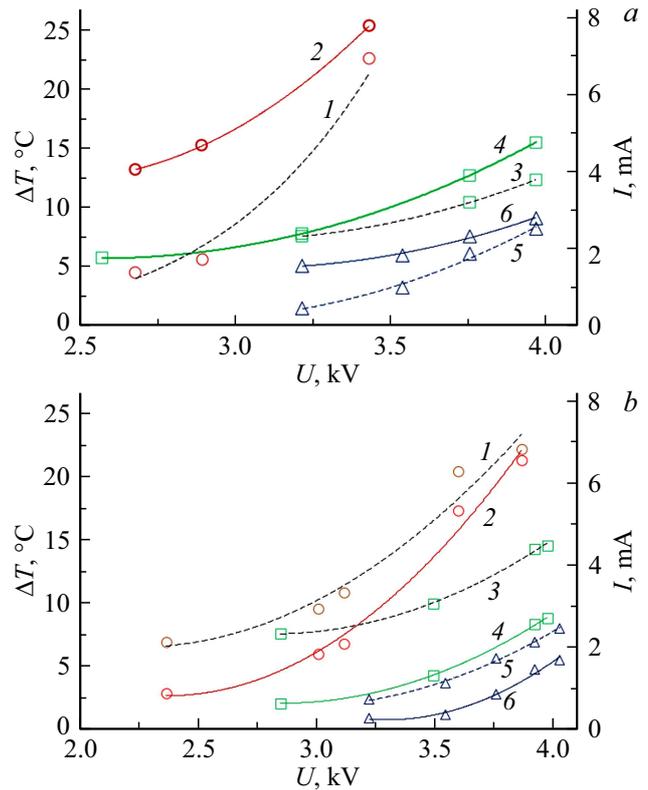
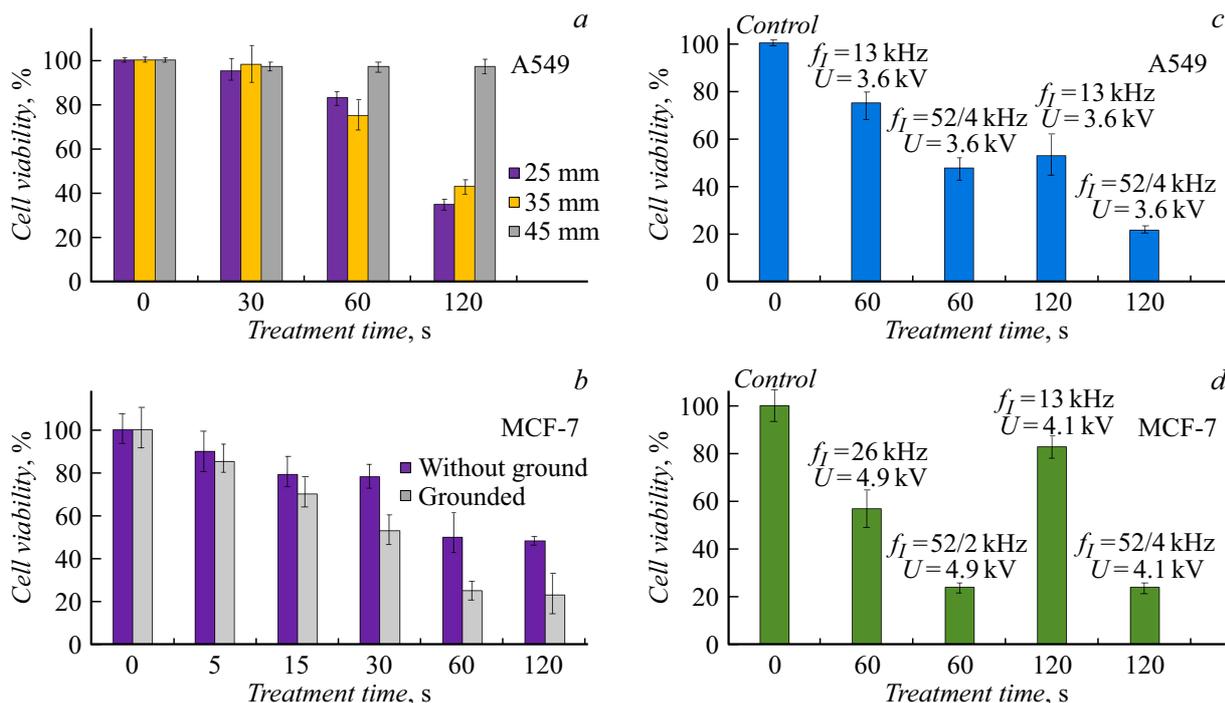


Рис. 7. Зависимости: 1,3,5 —  $I(U)$ , 2,4,6 —  $\Delta T(U)$  для  $v = 6$  (a) и  $9$  (b) L/min при  $f_U = 52$  (1,2);  $26$  (3,4) и  $13$  (5,6) kHz.

и  $13$  kHz (кривые 5,6),  $z = 25$  mm. Из рисунков видно, что при одинаковых напряжениях амплитуда тока с  $f_I \approx f_U = 52/4$  kHz превышает амплитуду тока с  $f_U = 26/2$  kHz и амплитуду тока с  $f_U = 13$  kHz. В свою очередь, нагрев мишени тем больше, чем больше ток, достигающий мишень.

В качестве иллюстрации вышесказанного ниже приведены результаты экспериментов по воздействию плазменной струи, генерируемой в гелии и в аргоне, на клетки аденокарциномы легкого A549 и клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF7 (рис. 8). После облучения ХПС во всех экспериментах клетки выращивали в питательных средах. Клетки культивировали на среде DMEM (A549) и IMDM (MCF7) в присутствии  $2$  mmol L-глутамин,  $10\%$  эмбриональной сыворотки коровы (FBS),  $1\times$  антибиотика-антимикотика ( $100$  u/mL пенициллина,  $100$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  стрептомицина сульфата,  $0.25$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  амфотерицина) при температуре  $T = 37.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$  и атмосфере  $\text{CO}_2$   $5.0 \pm 0.5\%$ .

Жизнеспособность клеток оценивалась по МТТ тесту (колориметрический тест метаболической активности клеток), сделанный через  $24$  h после облучения. Все результаты представлены как среднее значение доли живых клеток в трех независимых экспериментах  $\pm$  стандартное отклонение.



**Рис. 8.** Жизнеспособность раковых клеток A549 (a,c), MCF7 (b,d); He (a,c,d); Ar (b): a —  $U = 4.5$  kV,  $f_U \approx 23$  kHz,  $v = 9$  L/min,  $z = 25; 35; 45$  mm; b —  $U = 4.9$  kV,  $f_U \approx 40$  kHz,  $v = 4$  L/min,  $z = 25$  mm; c —  $U = 3.9$  kV,  $f_U \approx 13$  и  $52$  kHz,  $v = 9$  L/min,  $z = 25$  mm; d —  $U = 4.1$  и  $4.9$  kV,  $f_U \approx 13; 23$  и  $52$  kHz,  $v = 9$  L/min,  $z = 25$  mm,  $t = 1$  и  $2$  min.

На рис. 8,а представлены результаты исследования жизнеспособности клеток аденокарциномы легкого человека A549 при обработке плазменной струей, инициируемой в гелии, с  $U = 4.5$  kV,  $f_U = 23$  kHz и  $v = 9$  L/min при разных расстояниях от сопла до уровня культуральной жидкости с клетками в планшете с  $z = 25, 35$  и  $45$  mm при времени облучения  $t = 30, 60$  и  $120$  s. На рисунке видно, что увеличение дозы–времени облучения ХПС; уменьшение  $z$ , сопровождаемое уменьшением тока, достигающего биологический объект, однозначно приводит к уменьшению выживаемости раковых клеток, но эффективность будет ограничена тепловыми факторами воздействия (рис. 6). На рис. 8,б показано влияние обработки аргоновой холодной плазмой с  $U = 4.9$  kV,  $f_U = 40$  kHz и  $v = 4$  L/min на жизнеспособность клеток аденокарциномы молочной железы MCF7 с использованием заземленного коллектора, на котором расположены исследуемые объекты и без него. Определены дозы облучения и, как в случае с гелиевой плазменной струей [33], усиление электрического поля в зоне взаимодействия аргоновой плазменной струей с клетками, сопровождаемой интенсификацией генерацией гидроксильного радикала OH, приводит к усилению эффекта подавления жизнедеятельности онкологических клеток. На рис. 8,с приведены результаты по воздействию плазменной струей, генерируемой в гелии, инициируемой синусоидальным напряжением, с частотой  $f_U = 13$  kHz ( $f_I = f_U$ ) и  $52$  kHz ( $f_I = f_U/4 \approx 13$  kHz) с  $U = 3.9$  kV,  $v = 9$  L/min,  $z = 25$  mm на клетки адено-

карциномы легкого A549 в течение  $t = 1$  min. Видно, что воздействие ХПС максимально при инициировании напряжением с  $f_U = 52$  kHz, соответствующем большему току, достигающего биологический объект, по сравнению с условиями  $f_U = 13$  kHz.

На рис. 8,д представлены аналогичные результаты по воздействию плазменной струей, генерируемой в гелии, инициируемой синусоидальным напряжением с  $U = 4.1$  и  $4.9$  kV с частотой  $f_U = 13$  kHz ( $f_I = f_U$ ),  $23$  kHz ( $f_I = f_U$ ),  $52$  Hz ( $f_I = f_U/2$  для  $U = 4.9$  kV и  $f_I = f_U/4$  для  $U = 4.1$  kV),  $v = 9$  L/min,  $z = 25$  mm на клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF7 с  $t = 1$  и  $2$  min. Видно, что и в этом случае воздействие ХПС максимально при инициировании напряжением с большей частотой, соответствующей меньшей частоте касания тока и большему току.

## Заключение

Исследование генерационных параметров холодной плазменной струи в различных режимах и их оптимизация для достижения максимального цитотоксического эффекта при воздействии на онкологические клетки необходимо для развития оригинальных методов плазменной медицины. В работе проведены сравнительные экспериментальные исследования параметров генерации ХПС, инициируемой синусоидальным напряжением в гелии и аргоне в единой геометрии разрядного устройства и ее взаимодействия с модельной диэлектрической

пластиной и культуральной средой с онкологическими клетками. Эффекты воздействия ХПС характеризовались на основе амплитуды и частоты касания импульсами тока, достигающего мишень, интенсивности спектров гидроксильного радикала ОН и температуры на поверхности объекта облучения. Определены оптимальные параметры (амплитуда и частота иницирующего напряжения, геометрия зоны взаимодействия) и дозы облучения гелиевой и аргонной плазменной струей для подавления жизнеспособности онкологических клеток аденокарциномы легкого человека А549 и аденокарциномы молочной железы МСF7 в различных условиях. Показано, что наличие заземленного коллектора под культуральным планшетом с облучаемыми клетками усиливает цитотоксический эффект. При прочих сравнимых параметрах возбуждения ХПС в аргоне характеризуется меньшей пространственной длиной, по сравнению с ХПС в гелии, что предопределяет необходимое более близкое расположение облучаемого объекта к источнику плазменного образования и достижимостью значительно больших (практически на порядок) токов на биологическом объекте. Это в свою очередь сопровождается увеличением нагрева облучаемого объекта, что может быть опасным для живых объектов и ограничивает возможный диапазон параметров ХПС в аргоне по дозе облучения. В свою очередь, спецификой взаимодействия гелиевой плазменной струи с мишенью является несоответствие частоты касания струи с объектом к частоте прикладываемого иницирующего напряжения. Это приводит к тому, что частотные зависимости  $I(f_U)$  имеют нерегулярный характер, а зависимости  $I(U)$  в широком интервале напряжений и частот неоднозначны. Подобная ситуация приводит к неопределенности и непредсказуемости результатов биофизических экспериментов. В этом отношении по совокупности параметров представляется более перспективным импульсное иницирование ХПС с контролируемой длительностью импульса при большем напряжении, по сравнению с синусоидальным, которое позволяет достичь большего тока на облучаемой поверхности при ограниченном нагреве, и генерации более высоких электрических полей на поверхности [36].

### Финансирование работы

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № FWGW 2021-0012 (в части физических экспериментов) и Российского научного фонда № 22-49-08003 (<https://rscf.ru/project/22-49-08003/>).

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] U. Kogelschatz. Plasma Chem. Plasma Proc., **23**, 1 (2003). DOI: 10.1023/A:1022470901385
- [2] F. Fanelli, F. Fracassi. Surf. Coatings Technol., **322**, 174 (2017). DOI: 10.1016/j.surfcoat.2017.05.027
- [3] M. Kambara, S. Kawaguchi, H.J. Lee, K. Ikuse, S. Hamaguchi, T. Ohmori, K. Ishikawa. Jpn. J. Appl. Phys., **62**, SA0803 (2023). DOI: 10.35848/1347-4065/ac9189
- [4] M. Kogoma, K. Tanaka. Rev. Modern Plasma Phys., **5**, 3 (2021). DOI: 10.1007/s41614-021-00050-4
- [5] K. Takaki, K. Takahashi, N. Hayashi, D. Wang, T. Ohshima. Rev. Modern Plasma Phys., **5**, 12 (2021). DOI: 10.1007/s41614-021-00059-9
- [6] M. Laroussi, X. Lu, M. Keidar. J. Appl. Phys., **122**, 020901 (2017). DOI: 10.1063/1.4993710
- [7] Th. von Woedtke, S. Emmert, H.-R. Metelmann, S. Rupp, K.-D. Weltmann. Phys. Plasmas, **27**, 070601 (2020). DOI: 10.1088/1361-6595/ac604f
- [8] J.C. Harley, N. Suchowerska, D.R. McKenzie. Biophys. Rev., **12**, 989 (2020). DOI: 10.1007/s12551-020-00743-z
- [9] S. Reuter, Th. von Woedtke, K.-D. Weltmann. J. Phys. D: Appl. Phys., **51**, 233001 (2018). DOI: 10.1088/1361-6463/aab3ad
- [10] M. Laroussi, T. Akan. Plasma Processes Polymers, **4**, 777 (2007). DOI: 10.1002/ppap.200700066
- [11] W. Van Gaens, A. Bogaerts. J. Phys. D: Appl. Phys., **46**, 275201 (2013). DOI: 10.1088/0022-3727/46/27/275201
- [12] A. Shashurin, M. Keidar. Phys. Plasmas, **22**, 122002 (2015). DOI: 10.1063/1.4933365
- [13] M. Laroussi, S. Bekeschus, M. Keidar, A. Bogaerts, A. Fridman, X. Lu, K. Ostrikov, M. Hori, K. Stapelmann, V. Miller, S. Reuter, Ch. Laux, A. Mesbah, J. Walsh, Ch. Jiang, S.M. Thagard, H. Tanaka, D. Liu, D. Yan, M. Yusupov. IEEE Transactions Radiation Plasma Medical Sci., **6**, 127 (2022). DOI: 10.1109/TRPMS.2021.3135118
- [14] G.V. Naidis. J. Phys. D: Appl. Phys., **44**, 215203 (2011). DOI: 10.1088/0022-3727/44/21/215203
- [15] V.I. Arkhipenko, A.A. Kirillov, Y.A. Safronau, L.V. Europ. Phys. J. D, **60**, 455 (2010). DOI: 10.1140/epjd/e2010-00266-5
- [16] *Book of Abstracts, 8th International Workshop on Plasma for Cancer Treatment* (Raleigh, NC, USA, 2023)
- [17] M. Biryukov, D. Semenov, N. Kryachkova, A. Polyakova, E. Patrakova, O. Troitskaya, E. Milakhina, J. Poletaeva, P. Gugin, E. Ryachikova, D. Zakrevsky, I. Schweigert, O. Koval. Biomolecules, **13**, 1672 (2023). DOI: 10.3390/biom13111672
- [18] V. Perrotti, V.C.-A. Caponio, L.L. Muzio, E.H. Choi, M.C.-D. Marcantonio, M. Mazzone, N.K. Kaushik, G. Mincione. Intern. J. Molecular Sci., **23**, 10238 (2022). DOI: 10.3390/ijms231810238
- [19] S.A. Norberg, E. Johnsen, M.J. Kushner. J. Appl. Phys., **118**, 013301 (2015). DOI: 10.1063/1.4923345
- [20] S.A. Norberg, W. Tian, E. Johnsen, M.J. Kushner. J. Phys. D: Appl. Phys., **47**, 475203 (2014). DOI: 10.1088/0022-3727/47/47/475203
- [21] P. Viegas, M. Hofmans, O. van Rooij, A. Obrusník, B. Klarenaar, Z. Bonaventura, O. Guaitella, A. Sobota, A. Bourdon. Plasma Sources Sci. Technol., **29**, 095011 (2020). DOI: 10.1088/1361-6595/ac381d
- [22] I. Schweigert, S. Vagapov, L. Lin, M. Keidar, IOP J. Phys.: Conf. Series, **1112**, 012004 (2018). DOI: 10.1088/1742-6596/1112/1/012004

- [23] I. Schweigert, D. Zakrevsky, E. Milakhina, P. Gugin, M. Biryukov, E. Patrakova, O. Koval. *Plasma Phys. Controlled Fusion*, **64**, 044015 (2022). DOI: 10.1088/1361-6587/ac53f1
- [24] Li Lin, M. Keidar. *Appl. Phys. Rev.*, **8**, 011306 (2021). DOI: 10.1063/5.0022534
- [25] I. Schweigert, Dm. Zakrevsky, P. Gugin, E. Yelak, E. Golubitskaya, O. Troitskaya, O. Koval. *Appl. Sci.*, **9**, 4528 (2019). DOI: 10.3390/app9214528
- [26] O. Troitskaya, E. Golubitskaya, M. Biryukov, M. Varlamov, P. Gugin, E. Milakhina, V. Richter, I. Schweigert, Dm. Zakrevsky, O. Koval. *Intern. J. Molecular Sci.*, **21**, 2158 (2020). DOI: 10.3390/ijms21145128
- [27] I.V. Schweigert, Dm.E. Zakrevsky, P.P. Gugin, E.V. Milakhina, M.M. Biryukov, M. Keidar, O.A. Koval. *Plasma Sources Sci. Technol.*, **31**, 114004 (2022). DOI: 10.1088/1361-6595/aca120
- [28] E. Patrakova, M. Biryukov, O. Troitskaya, P. Gugin, E. Milakhina, D. Semenov, J. Poletaeva, E. Ryabchikova, D. Novak, N. Kryachkova, A. Polyakova, M. Zhilnikova, D. Zakrevsky, I. Schweigert, O. Koval. *Cells*, **12**, 290 (2023). DOI: 10.3390/cells12020290
- [29] E. Patrakova, M. Birukov, O. Troitskaya, D. Novak, E. Milakhina, P. Gugin, D. Zakrevsky, I. Schweigert. *Цитология*, **65**, 39 (2023). DOI: 10.31857/S004137712301008X
- [30] И.В. Швейгерт, Д.Э. Закревский, Е.В. Милахина, П.П. Гугин, М.М. Бирюков, О.С. Троицкая, О.А. Коваль. *Физика плазмы*, **49**, 447 (2023). DOI: 10.31857/S0367292122601400
- [31] И.А. Зарубин, В.А. Лабусов, С.А. Бабин. *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*, **85**, 117 (2019). DOI: 10.26896/1028-6861-2019-85-1-II-117-121
- [32] Testo: Thermal imaging camera testo 872. URL: <https://www.testo.ru/ru-RU/tieplovizor-testo-872/p/0560-8721>
- [33] I.V. Schweigert, A.L. Alexandrov, D.E. Zakrevsky. *Plasma Sources Sci. Technol.*, **29**, 12LT02 (2020). DOI: 10.1088/1361-6595/abc93f
- [34] П.П. Гугин, Д.Э. Закревский, Е.В. Милахина. *Письма в ЖТФ*, **48**, 74 (2022). DOI: 10.21883/PJTF.2021.22.51726.18977
- [35] S. Hashimoto, H. Fukuhara, E.J. Szili, C. Kawada, S.-H. Hong, Y. Matsumoto, T. Shirafuji, M. Tsuda, A. Kurabayashi, M. Furihata, H. Furuta, A. Hatta, K. Inoue, J.-S. Oh. *Plasma*, **6**, 103 (2023). DOI: 10.3390/plasma6010009
- [36] И.В. Швейгерт, Д.Э. Закревский, Е.В. Милахина, А.Л. Александров, М.М. Бирюков, О.А. Коваль. *Физика плазмы*, **49**, 1178 (2023). DOI: 10.31857/S0367292123601042