

УДК 577.3

## ВОЗМОЖНОСТЬ ОЦЕНКИ БАКТЕРИЦИДНОГО И ФУНГИЦИДНОГО ЭФФЕКТА ПО ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

© 2025 г. И.М. Пискарев<sup>\*,#</sup>, Н.А. Аристова<sup>\*\*,##</sup>, И.П. Иванова<sup>\*\*\*,###</sup>

<sup>\*</sup>Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/2, Москва, 119991, Россия

<sup>#</sup>E-mail: i.m.piskarev@gmail.com

<sup>\*\*</sup>Нижнетагильский технологический институт – филиал Уральского федерального университета, Красногвардейская ул., 59, Нижний Тагил, 622031, Россия

<sup>##</sup>E-mail: aristova-na@mail.ru

<sup>\*\*\*</sup>Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, просп. Гагарина, 23, Нижний Новгород, 603022, Россия

<sup>###</sup>E-mail: ivanova.ip@mail.ru

Поступила в редакцию 23.04.2024 г.

После доработки 12.06.2024 г.

Принята к публикации 18.09.2024 г.

При исследовании антимикробного действия различных физических факторов полезен оперативный контроль изменений, происходящих с биологическим объектом. Основными компонентами живых клеток являются белки, поэтому повреждение структуры белков и входящих в их состав аминокислот может быть критичным фактором, ответственным за гибель микроорганизмов. Исследованы ультрафиолетовые спектры поглощения и спектры флуоресценции для альбумина, тирозина и триптофана после действия импульсного излучения горячей плазмы генератора ИР10. Проведено сравнение флуоресценции модельных растворов альбумина, тирозина и триптофана с фунгицидным эффектом водной суспензии микромицетов *Aspergillus niger* и бактерицидным эффектом *E. coli* в зависимости от дозы импульсного излучения горячей плазмы искрового разряда. Установлено, что уменьшение выхода флуоресценции коррелирует с фунгицидным эффектом, поэтому измерения флуоресценции белков и аминокислот можно использовать для оперативной оценки возможности повреждения биологических объектов. Бактерицидный эффект оказывается намного сильнее фунгицидного, что свидетельствует о преобладании механизмов, не оказывающих влияния на флуоресценцию.

**Ключевые слова:** флуоресценция, фунгицидный эффект, бактерицидный эффект, доза излучения, горячая плазма.

DOI: 10.31857/S0006302925010055, EDN: LXLUDU

Физические методы воздействия на обрабатываемый объект, основанные на электрическом разряде в присутствии воздуха (плазменные технологии), обеспечивают генерацию широкого спектра активных форм кислорода и азота (АФК и АФА) [1]. Физические и биологические механизмы прямого действия активных частиц на живые организмы рассмотрены в работе [2]. В случае воздействия на водный раствор эти активные частицы взаимодействуют с примесями, растворенными в воде, что приводит к очистке и обеззараживанию воды. Эффективность и механизм дей-

ствия различных физических методов генерации активных частиц сравнивается в работе [3]. Стерилизация растворов и поверхностей является одной из сфер применения плазменных технологий. Механизмы бактерицидности различными физическими факторами, генерирующими АФК, анализируются в работе [4]. Имея высокую активность, АФК взаимодействуют практически со всеми компонентами клеток, приводя к изменению их свойств.

Основными компонентами клеток являются белки, поэтому повреждение структуры белков может быть критичным фактором, ответственным за гибель микроорганизмов. АФК воздействуют на объект преимущественно через окислительно-восстановительные реакции. В работе [5] дается

*Сокращения:* АФА – активные формы азота, АФК – активные формы кислорода, УФ – ультрафиолетовый, УФ-С – коротковолновой диапазон ультрафиолетового излучения с длиной волны 280–200 нм.

анализ химических превращений белков в результате их взаимодействия с АФК, в частности путем разрыва полипептидной цепи, а также окисления боковых частей аминокислотных остатков. АФА могут воздействовать как через окислительно-восстановительные процессы, так и через нитрование [6]. АФК/АФА могут играть сигнальную роль в обеспечении антимикробного эффекта [7]. Воздействие АФК/АФА нарушает синтез белка в бактериях и изменяет синтез генетического материала в бактериальных клетках, что может приводить к гибели или прекращению размножения бактерий [8]. В работе [9] показано, что плазменный разряд может быть использован для деструкции коронавирусов. Отдельно следует выделить ультрафиолетовое (УФ) излучение ртутной лампы с длиной волны 253.7 нм. Молекулы ДНК/РНК имеют максимум поглощения при длине волны ~260 нм. При поглощении УФ-излучения эти молекулы разрушаются, и клетки гибнут [10], поэтому воздействию УФ-излучения является дополнительным фактором.

Эффективность стерилизации, антимикробного действия, зависит от дозы излучения. Закон инактивации водного раствора при условии хорошего перемешивания жидкости, содержащей микроорганизмы, с активными частицами, воздействующими на объект, описывается выражением:

$$dN/dt = -ktI, \quad (1)$$

откуда

$$N_t = N_0 e^{-ktI}. \quad (2)$$

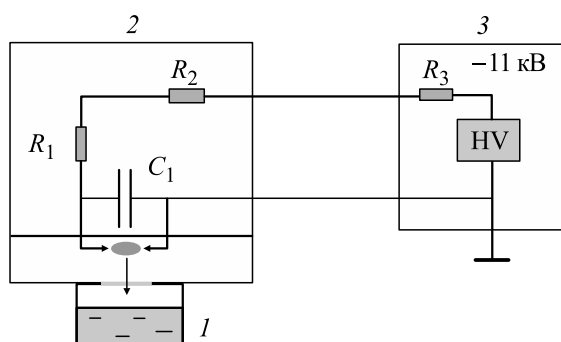
Здесь  $N_t$  — концентрация микроорганизмов через время  $t$  после начала обработки,  $N_0$  — начальная концентрация микроорганизмов,  $k$  — константа, зависящая от концентрации и вида активных частиц,  $t$  — время обработки и  $I$  — интенсивность генерации активных частиц. Величина произведения  $tI = D$  определяет дозу облучения. Известно, что экспериментально наблюдаемая зависимость числа выживших микроорганизмов от дозы облучения, которая пропорциональна времени обработки, в первом приближении в логарифмическом масштабе описывается прямой линией, т. е. выражением (2) [11]. Отклонения от закона (2) наблюдаются, если механизм инактивации будет разным при разных дозах, но в первом приближении это соотношение можно использовать для оценки антимикробного эффекта. Количество выживших микроорганизмов со временем обработки уменьшается. Отношение  $N_t/N_0$ , т. е. процент выживших бактерий, при данной дозе активных частиц в первом приближении не зависит от начальной концентрации бактерий  $N_0$  и будет одинаков для всех  $N_0$ .

Традиционно для обработки проб с целью стерилизации используется холодная плазма, так как горячая плазма при непосредственном контакте с объектом будет повреждать его [1]. В работе [12] описан источник импульсного излучения горячей плазмы, создающий в обрабатываемом водном растворе широкий спектр химически активных частиц, обеспечивающих стерилизацию [13]. Продукты, образующиеся в жидкости под действием импульсного излучения, могут инициировать в белках и аминокислотах окислительно-восстановительные реакции и нитрование. Во всех этих процессах первичная структура обрабатываемых соединений нарушается. Медико-биологические эксперименты, позволяющие оценить степень фунгицидного, бактерицидного и бактериостатического эффекта, занимают много времени, являются трудоемкими и небезопасными. Физические методы анализа позволяют быстро оценить изменения структуры белка. Так как белки являются основным компонентом клетки микроорганизма, и большинство клеточных функций выполняются белками [8], то на основании данных по изменению структуры белков можно прогнозировать результаты антимикробного действия конкретного физического фактора. Поэтому представляет интерес сравнить степень повреждений белка, являющегося составной частью изучаемых биологических объектов, со степенью стерилизации водных растворов микроорганизмов. В качестве модельной системы нами выбраны растворы альбумина, тирозина и триптофана.

Работа посвящена сравнению флуоресценции модельных растворов альбумина, тирозина и триптофана с фунгицидным эффектом водной суспензии микромицетов *Aspergillus niger* и бактерицидным эффектом микроорганизмов *E. coli* в зависимости от дозы импульсного излучения горячей плазмы искрового разряда.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Схема эксперимента представлена на рис. 1. Источником активных частиц служил генератор импульсного излучения искрового разряда ИР10 (НИИЯФ МГУ, Россия). Характеристики генератора: энергия в импульсе  $5.9 \cdot 10^{-2}$  Дж, частота повторения импульсов 10 Гц, мощность, выделяемая в разряде, — 0.59 Дж/с. Горячая плазма излучала как черное тело, температура ~  $10^4$  К. Максимум спектра излучения ~220 нм. Условия разряда подобраны так, что плазма была слабо ионизована, степень ионизации меньше 0.1%. Электронная плотность в области разряда ~  $10^{11}$  см<sup>-3</sup>, энергия электронов не превышала 1 эВ [14]. Обрабатывали пробы тестовых растворов объемом 10 мл. Расстояние от пробы до



**Рис. 1.** Блок-схема модуля для обработки пробных растворов импульсным излучением горячей плазмы генератора ИР10. Цифрами обозначены: 1 — емкость с пробной жидкостью, 2 — блок источника излучения, 3 — блок источника высокого напряжения.

источника излучения — 30 мм. Дозу излучения определяли как энергию электрического разряда, расходуемую на генерацию активных частиц, нормированную на объем обрабатываемой жидкости (10 мл).

Активными частицами, образующимися в водном растворе под действием импульсного излучения горячей плазмы, являются радикалы  $\text{HO}_2^\bullet$ , перекись водорода, азотистая кислота и комплекс (...ONOOH/ONOO<sup>-</sup>...,  $\text{pK}_a = 6.8$ ), распадающийся на пероксинитрит и пероксиазотистую кислоту [12, 14]. Дополнительным фактором, который может влиять на бактерицидный эффект, является световое излучение УФ-С-диапазона (коротковолнового диапазона ультрафиолетового излучения с длиной волны 280–200 нм). Поток УФ-С-фотонов в импульсе составляет  $(1.2 \pm 0.2) \cdot 10^{-7}$  (моль фотонов)/(см<sup>2</sup>·с) [13]. Окислительная способность радикалов  $\text{HO}_2^\bullet$  не-

достаточна, чтобы разрушить ароматическое кольцо аминокислот путем отрыва атома водорода [15], поэтому основную роль играли активные формы азота. Реакция с азотистой кислотой медленная [12], комплекс (...ONOOH/ONOO<sup>-</sup>... проявляет свою активность по мере распада в течение нескольких суток [16]. Поэтому для наблюдения изменений, происходящих под действием активных форм азота, измерения осуществляли сразу и через сутки после обработки. Контроль (исходные растворы) и обработанные пробы хранили в стеклянных закрытых сосудах при комнатной температуре. Через сутки после обработки флуоресценция контрольных исходных растворов не менялась. Флуоресценция обработанных растворов уменьшалась сразу, а через сутки уменьшилась еще на 10–20%. При дальнейшем хранении растворов их флуоресценция не менялась, поэтому за результат принимали флуоресценцию проб через сутки после обработки.

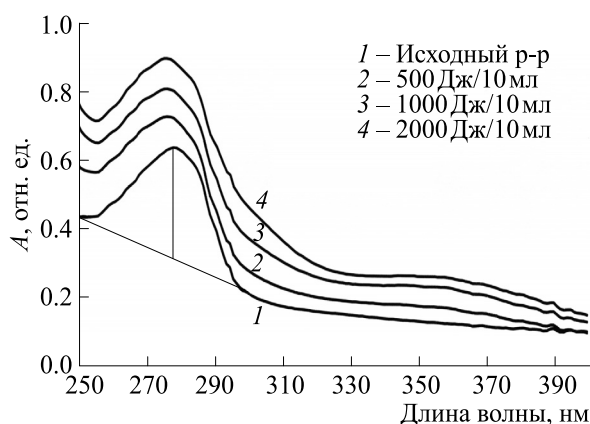
В качестве тестового белка использовали альбумин. В состав бычьего сывороточного альбумина входят 607 аминокислотных остатков. Из них по спектрам поглощения и спектрам флуоресценции могут идентифицироваться фенилаланин, тирозин и триптофан. Характеристики этих аминокислот представлены в табл. 1. Все характеристики, приведенные в табл. 1, определены в данной работе экспериментально на основании измерений с калибровочными растворами.

Из табл. 1 видно, что оптическая плотность и выход флуоресценции для фенилаланина малы, и основными наблюдаемыми флуоресцентным методом продуктами, входящими в состав альбумина, являются тирозин и триптофан.

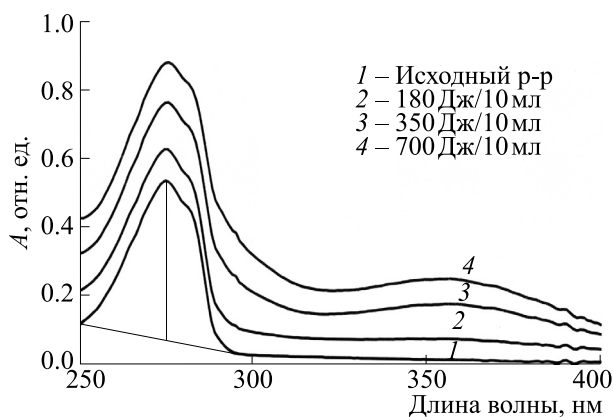
Для экспериментов использовали растворы бычьего сывороточного альбумина (фракция V), L-тирозина, L-триптофана и L-фенилаланина («Лаверна», Москва, Россия). Концентрация раствора аль-

**Таблица 1.** Характеристика линий поглощения в УФ-спектре, а также линий возбуждения и регистрации в спектрах флуоресценции для триптофана, тирозина и фенилаланина

Характеристика линии		Триптофан	Тирозин	Фенилаланин
Спектр поглощения	Спектр флуоресценции			
Длина волны поглощения, нм	—	280	275	261
Коэффициент экстинкции, л (моль·см) <sup>-1</sup>	—	5600	1400	200
—	Длина волны возбуждения, нм	280	275	260
—	Длина волны регистрации, нм	355	303	284
—	Квантовый выход флуоресценции	0.2	0.14	0.04



**Рис. 2.** Оптическая плотность  $A$  (в отн. ед.) исходного раствора альбумина ( $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л) и раствора альбумина через сутки после обработки импульсным излучением генератора ИР10 в дозах 500, 1000 и 2000 Дж/10 мл раствора. Для нижнего графика (оптическая плотность исходного раствора) нанесена базовая линия, относительно которой отсчитывали оптическую плотность, связанную с концентрацией исследуемого вещества.



**Рис. 3.** Оптическая плотность  $A$  (в отн. ед.) исходного раствора тирозина ( $1.1 \cdot 10^{-4}$  моль/л) и раствора тирозина через сутки после обработки импульсным излучением генератора ИР10 в дозах 180, 350 и 700 Дж/10 мл раствора. Базовая линия — см. пояснения к рис. 2.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

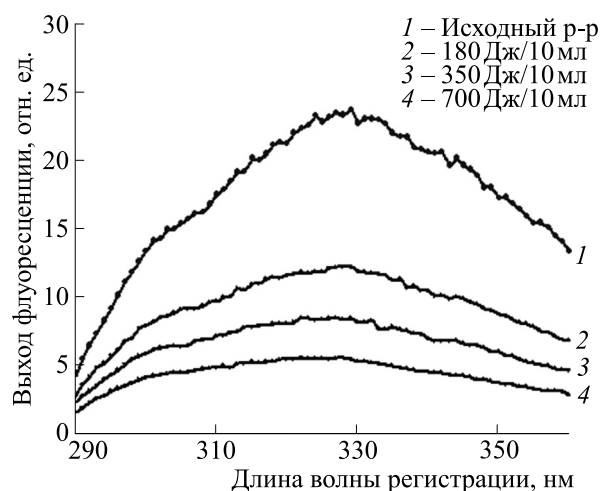
**Спектры поглощения.** Оптические плотности растворов альбумина и тирозина через сутки после обработки импульсным излучением горячей плазмы представлены на рис. 2 и 3. Линии поглощения тирозина и триптофана близки (табл. 1), поэтому в спектре альбумина наблюдается одна линия поглощения 275 нм.

Из рис. 2 и 3 видно, что оптическая плотность линии поглощения 275 нм в растворах альбумина и тирозина относительно базовой линии остается постоянной в пределах ошибок измерений при всех дозах обработки. Уровень базовой линии повышается за счет образования низкомолекулярных продуктов, перекиси водорода и вклада 3-нитротирозина. Аналогичным образом, мало меняются спектры поглощения триптофана. Это означает, что ароматическое кольцо не повреждается. Разрыв пептидных связей в реакциях с активными частицами в результате модификации белка под действием импульсного излучения горячей плазмы может не влиять на состояние ароматического кольца, которое определяет спектры поглощения [8]. Из эксперимента следует, что спектр поглощения, обусловленный ароматическим кольцом, не меняется. В тирозине после обработки появляется линия 355 нм, связанная с образованием 3-нитротирозина [6]. Та же линия 355 нм наблюдается после обработки в спектре поглощения альбумина, что может быть следствием нитрования тирозина, входящего в его состав. Таким образом, для рассматриваемых аминокислот и альбумина наблюдение спектров поглощения в УФ-диапазоне не позволяет выявить изменения молекулярной структуры под действием импульсного излучения горячей плазмы.

бумина составляла  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л, тирозина —  $1.1 \cdot 10^{-4}$  моль/л, триптофана —  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л, фенилаланина —  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л. При обработке водных растворов импульсным излучением горячей плазмы образуется кислота [12, 14]. Чтобы исключить зависимость флуоресценции от pH, реактивы разводили в 0.0005 М растворе серной кислоты. После обработки в исследованном диапазоне pH кислотность проб не менялась.

УФ-спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ102 («Аквион», Москва, Россия). Спектры флуоресценции анализировали на флуориметре «Флуорат-02 Панорама» («Люмекс», Санкт-Петербург, Россия). Для измерения спектров флуоресценции концентрацию растворов тирозина и триптофана, исходных и обработанных, разбавляли в 10 раз, так как при большой концентрации имеет место самопоглощение линий регистрации. Для тирозина и триптофана положения линий возбуждения близки (см. табл. 1), длина волны возбуждения для всех исследованных проб была взята 275 нм. За длину волны регистрации принимали положение максимума в спектре флуоресценции при длине волны возбуждения 275 нм (для тирозина — 303 нм, триптофана — 355 нм, альбумина — 330 нм).

Величину pH измеряли pH-метром «Эксперт-001» («Эконикс», Москва, Россия). Величины выхода флуоресценции измеряли не менее чем в 5 независимых сериях измерений, результаты усредняли. Использовали химически чистые реактивы и дважды дистиллированную воду, pH 6.5.

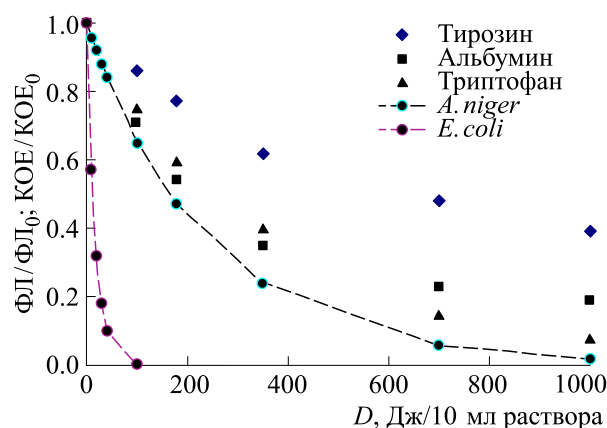


**Рис. 4.** Спектр флуоресценции (в отн. ед.) исходного раствора альбумина ( $10^{-5}$  моль/л) и раствора альбумина через сутки после обработки импульсным излучением генератора ИР10 в дозах 180, 350 и 700 Дж/10 мл раствора. Длина волны возбуждения 275 нм.

**Спектры флуоресценции.** Спектр флуоресценции раствора альбумина при разных дозах облучения представлен на рис. 4. Видно, что с увеличением дозы выход флуоресценции уменьшается, что связано с повреждением молекул аминокислот. Повреждение аминокислот может приводить к фунгицидному и бактерицидному эффекту.

Кроме химического действия АФК и АФА бактерицидным эффектом обладает световое излучение плазмы. Под действием излучения УФ-С-диапазона (200–280 нм) происходит прямое поглощение квантов света молекулами ДНК/РНК и последующее их повреждение, приводящее к изменениям структуры и функции ДНК/РНК [7, 10]. Кроме молекул ДНК/РНК прямое поглощение квантов УФ-С-излучения возможно аминокислотами, входящими в состав белка – триптофаном, тирозином, фенилаланином, гистидином, метионином, цистеином и цистином (восстановление дисульфидных связей). Для тирозина и триптофана, определяющих выход флуоресценции, излучение усиливает эффект химического действия АФК и АФА. Другие аминокислоты, входящие в состав белка, не обладают свойством флуоресцировать и не могут быть обнаружены рассматриваемым способом [17]. На выход флуоресценции не влияет восстановление дисульфидных связей, которые могут значительно определять бактерицидный эффект. Таким образом, бактерицидный эффект определяется увеличенным количеством каналов воздействия импульсного излучения горячей плазмы по сравнению с фунгицидным эффектом.

В состав молекулы альбумина входят 21 молекула тирозина (линия регистрации 303 нм) и 3 мо-



**Рис. 5.** Зависимости относительной флуоресценции ( $\Phi/\Phi_0$ ) растворов тирозина, альбумина и триптофана (точки) и относительного числа колониеобразующих единиц ( $\text{КОЕ}/\text{КОЕ}_0$ ) для микромицета *A. niger* и бактерии *E. coli* (пунктирные линии) от дозы облучения  $D$ .  $\Phi$  – флуоресценция раствора через сутки после обработки дозой облучения  $D$ ,  $\text{КОЕ}_0$  – величина  $\text{КОЕ}$  для исходной пробы,  $\text{КОЕ}$  – величина после обработки дозой облучения  $D$ .

лекулы триптофана (линия регистрации 355 нм). Положение линий возбуждения практически совпадает. С учетом коэффициентов экстинкции линий поглощения и квантового выхода линий регистрации их вклад в флуоресценцию примерно одинаков. В результате для альбумина наблюдается суммарная линия флуоресценции при длине волны регистрации 330 нм.

Зависимость выходов флуоресценции триптофана, тирозина и альбумина от дозы облучения через сутки после обработки излучением представлена на рис. 5.

Из рис. 5 видно, что, в отличие от спектров поглощения, флуоресценция модельных растворов оказывается чувствительной к изменениям в структуре молекул аминокислот и белка и заметно уменьшается с ростом дозы. Оценим, насколько наблюдаемые изменения являются критичными для выживаемости бактерий под действием импульсного излучения искрового разряда.

Для этого сравним изменения выходов флуоресценции с динамикой гибели микроорганизмов после обработки генератором ИР10. На рис. 5 пунктиром приведены зависимости  $\text{КОЕ}$  микромицета *Aspergillus niger* и бактерии *E. coli* от дозы облучения, рассчитанные на основании данных работы [18]. В работе [18] обработку проводили тем же источником излучения, что и в данной работе. Начальная концентрация микромицет и бактерий составляла  $\sim 10^6$  клеток в 1 мл. Было получено значение дозы  $D_{10}$ , при которой  $\text{КОЕ}$  уменьшается в 10 раз. Принимая, что зависимость от дозы экспоненциальная, были получены

кривые на рис. 5. За единицу принято значение КОЕ исходного раствора. Видно, что динамика уменьшения КОЕ для *Aspergillus niger* сопоставима с динамикой изменения флуоресценции альбумина и аминокислот, входящих в его состав. В то же время для бактерии *E. coli* их концентрация после обработки убывает с дозой много быстрее.

Наблюдаемое различие может быть связано с тем, что на бактерии действует дополнительный механизм инактивации через прямое поглощение излучения с длиной волны ~260 нм молекулами ДНК/РНК и через восстановление дисульфидных связей. В работе [19] показано, что выход восстановления дисульфидных связей под действием излучения намного больше химического действия АФК/АФА. Флуоресценция альбумина определяется по концентрации тирозина и триптофана, а дисульфидные связи не входят в их состав и не влияют на выход флуоресценции.

Микромицеты покрыты оболочкой, непрозрачной для света, излучение на выживаемость микромицет мало действует. В случае бактерии излучение проникает внутрь клетки и может непосредственно поглощаться молекулами ДНК/РНК, т. е. кроме АФК и АФА, действует дополнительный канал повреждения. Поэтому инактивация бактерий происходит быстрее, чем уменьшение флуоресценции. Таким образом, изменение флуоресценции белка позволяет качественно оценивать возможность фунгицидного эффекта.

## ВЫВОДЫ

УФ-спектры поглощения аминокислот мало меняются под действием импульсного излучения горячей плазмы и не могут быть критерием повреждения белка.

Выход флуоресценции аминокислот и белка коррелирует с изменениями КОЕ микромицета, поэтому белок можно использовать как тестовую систему для качественной оценки фунгицидного действия АФК и АФА. Бактерицидный эффект оказывается намного сильнее фунгицидного, что свидетельствует о вкладе механизмов, не влияющих на флуоресценцию белков и аминокислот.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность ведущему специалисту НИИЯФ МГУ Ушканову Владиславу Александровичу за техническую поддержку.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ.

Исследование выполнено за счет госбюджетной темы 5.5 «Электромагнитные взаимодействия».

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bruggeman P. J., Kushner M. J., Locke B. R., Gardeniers J. G. E., Graham W. G., Graves D. B., Hofman-Caris R. C. H. M., Ceriani E., Fernandez Rivas D., Foster J. E., Garrick S. C., Gorbanev Y., Hamaguchi S., Iza F., Jablonowski H., Klimova E., Kolb J., Krcma F., Lukes P., Machala Z., Marinov I., Mariotti D., Mededovic Thagard S., Minakata D., Neyts E. C., Pawlat J., Petrovic Z. Lj., Pflieger R., Reuter S., Schram D. C., Schröter S., Shiraiwa M., Tarabová B., Tsai P. A., Verlet J. R. R., von Woedtke T., Wilson K. R., Yasui K., and Zvereva G. Plasma-liquid interactions: a review and roadmap. *Plasma Sources Sci. Technol.*, **25**, 053002 (2016). DOI: 10.1088/0963-0252/25/5/053002
2. Dobrynin D., Fridman G., Friedman G., and Fridman A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. *New J. Physics*, **11**, 115020 (2009). DOI: 1088/1367-2630/11/11/115020
3. Konchekov E. M., Gusein-zade N., Burmistrov D. E., Kolik L. V., Dorokhov A. S., Izmailov A. Yu., Shokri B., and Gudkov S. V. Advancements in plasma agriculture: a review of recent studies. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 15093 (2023). DOI: 10.3390/ijms242015093
4. Lu X. P., Ye T., Cao Y. G., Sun Z. Y., Xiong Q., Tang Zh. Y., Xiong Zh., Hu J., Jiang Zh., and Pan Y. The roles of the various plasma agents in the inactivation of bacteria. *J. Appl. Phys.*, **104**, 053309 (2008). DOI: 10.1063/1.2977674
5. Лушак В. И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма. *Биохимия*, **72** (8), 995–1017 (2007).
6. Иванова И. П. и Пискарев И. М. Нитрование тирозина под действием импульсного излучения горячей плазмы искрового разряда. *Химия высоких энергий*, **56** (5), 361–366 (2022). DOI: 10.31857/S0023119322050047
7. Graves D. B. The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **45**, 263001 (2012). DOI: 1088/0022-3727/45/26/263001
8. Шлапакова Т. И., Костин Р. К. и Тягунова Е. Е. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии. *Биоорганическая химия*, **48** (5), 466–485 (2022). DOI: 10.31857/S013234232005022X
9. Ghernaout D. and Elboughdiri N. Disinfecting water: plasma discharge for removing coronaviruses. *Open Access Libr. J.*, **7**, e6314 (2020). DOI: 10.4236/oalib.1106314

10. Башарина О. В., Артюхов В. Г., Земченкова О. В. и Наквасина М. А. Современные представления о механизмах действия ультрафиолетового излучения на лимфоциты человека. *Вестн. ВГУ. Сер.: химия, биология, фармация*, № 1, 46–60 (2023).
11. Laroussi M. Low-temperature plasmas for medicine? *IEEE Trans. Plasma Sci.*, **37** (6), 714–725 (2009).
12. Piskarev I. M. and Ivanova I. P. Comparison of chemistry induced by direct and indirect plasma treatment of water to the effect of UV radiation. *Plasma Chem. Plasma Process.*, **41**, 447–475. (2021). DOI: 10.1007/s11090-020-10127-6
13. Пискарев И. М., Астафьева К. А. и Иванова И. П. Источники газоразрядной плазмы: влияние поглощенной дозы и состава активных частиц на физико-химические превращения в биологических субстратах. *Современные технологии в медицине*, **10** (2), 90–100. (2018). DOI: 10.17691/stm2018.10.2.10
14. Piskarev I. M. and Ivanova I. P. Effect of spark electric discharge between solid electrodes in water. *Plasma Sources Sci. Technol.*, **28** (8), 085008 (2019). DOI: 10.1088/1361-6595/aac35t
15. Ivanova I. P., Trofimova S. V., and Piskarev I. M. Initial stage of lipid Peroxidation with HO<sub>2</sub> radicals. *Am. J. Phys. Chem.*, **2** (2), 44–51 (2013). DOI: 10.11648/j.ajpc.20130202.13
16. Пискарев И. М. Вода, активированная излучением плазмы искрового разряда на воздухе. *Химия высоких энергий*, **53** (1), 71–75 (2019). DOI: 10.1134/S0023119319010169
17. Pattison D. I., Rahmanto A. S., and Davies M. J. Photo-oxidation of proteins. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **11**, 38–62 (2012). DOI: 10.1039/c1pp05164d
18. Пискарев И. М. и Иванова И. П. Споридицидная активность импульсного излучения горячей плазмы. *Современные технологии в медицине*, **14** (4), 17–25 (2022). DOI: 10.17691/stm2022.14.4.02
19. Пискарев И. М., Иванова И. П., Трофимова С. В. и Бурхина О. Е. Окислительно-восстановительные процессы в растворе альбумина под действием УФ излучения плазмы искрового разряда. *Химия высоких энергий*, **49** (1), 76–80 (2015). DOI: 10.7868/S0023119715010093

## Ability to Assess the Bactericidal and Fungicidal Effect by Fluorescence of Proteins and Amino Acids

**I.M. Piskarev\*, N.A. Aristova\*\*, and I.P. Ivanova\*\*\***

\*Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/2, Moscow, 119991 Russia

\*\*Nizhny Tagil Technological Institute – the Branch of the Ural Federal University,  
Krasnogvardeyskaya ul. 59, Nizhny Tagil, 622031 Russia

\*\*\*Nizhny Novgorod State University, prosp. Gagarina 23, Nizhny Novgorod, 603022 Russia

When studying the antimicrobial effect of various physical factors, it is useful to monitor the changes occurring with a biological object. Proteins are the main components of living cells, so damage to the structure of proteins and their amino acids can be a critical factor responsible for the death of microorganisms. UV absorption spectra and fluorescence spectra for albumin, tyrosine and tryptophan after the action of pulsed radiation of hot plasma of the IR10 generator were studied. The fluorescence of model solutions of albumin, tyrosine and tryptophan was compared with the fungicidal effect of an aqueous suspension of *Aspergillus niger* micromycetes and the bactericidal effect of *E. coli* depending on the dose of pulsed radiation of hot plasma spark discharge. It has been established that a decrease in fluorescence yield correlates with fungicidal effects, so measurements of protein and amino acid fluorescence can be used to quickly assess the possibility of damage to biological objects. The bactericidal effect is much stronger than the fungicidal effect, which indicates the predominance of mechanisms that do not affect fluorescence.

*Keywords: fluorescence, fungicidal effect, sporicidal effect, radiation dose, hot plasma*