
ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Н.И. Ботошан, М.К. Болога, С.Е. Берзой

КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ЭЛЕКТРОПЛАЗМОЛИЗА

*Институт прикладной физики АН РМ,
ул. Академией, 5, г. Кишинев, MD-2028, Республика Молдова*

Введение

Внешнее воздействие электрического поля на заряженные частицы внутриклеточной и внеклеточной жидкостей биологического сырья является неоднозначным в отношении их участия в процессах переноса. Особую значимость при этом имеют клеточная мембрана и ее электрический потенциал. Различные подвижности разноименных носителей зарядов в проводящей, нейтральной среде приводят к возникновению флуктуаций объемной плотности заряда, если в ней происходят какие-либо реакции между составляющими веществами. В такой среде возникает локальная плотность участвующих в реакциях зарядов.

Известно, что объемная плотность ρ возникшего заряда в проводящей среде под действием вызванного им самим электрического поля будет уменьшаться с течением времени по закону

$$\rho = \rho_0 \exp\left(-\frac{\tau}{\tau_M}\right),$$

где ρ_0 – объемная плотность заряда в момент времени $\tau = 0$, $\tau_M = \epsilon_0 \epsilon / \sigma$, ϵ – диэлектрическая проницаемость среды, σ – ее удельная электропроводность [1], τ_M – время диэлектрической релаксации (релаксации Максвелла). В проводящей среде благодаря подвижности носителей заряда происходит нейтрализация возникшего заряда, и, как следствие, в случае ограниченного пространственного объема среды возникший заряд будет накапливаться на его поверхности.

Избыточную плотность заряда следует определить как модуль разности $|\rho_+ - \rho_-| = \rho(\tau)$, где ρ_+ и ρ_- – плотности положительных и отрицательных носителей тока. Избыточная плотность является динамической величиной, которая в стационарном случае для нейтральной среды должна равняться нулю.

Поле с избыточной плотностью зарядов является суперпозицией полей разноименных зарядов:

$$\operatorname{div} \vec{E}_+ = \frac{\rho_+}{\epsilon_0 \epsilon}, \quad \operatorname{div} \vec{E}_- = \frac{\rho_-}{\epsilon_0 \epsilon},$$

и должно быть векторной величиной $\vec{E} = |\vec{E}_+ - \vec{E}_-|$, определяемой по знаку дивергенции:

$$\vec{E} = \begin{cases} \vec{E}_+ - \vec{E}_-, & \text{если, } \operatorname{div} \vec{E} \geq 0, \\ \vec{E}_- - \vec{E}_+, & \text{если, } \operatorname{div} \vec{E} < 0. \end{cases}$$

Вектор поля избыточной плотности зарядов удовлетворяет уравнению

$$\operatorname{div} \vec{E} = \frac{\rho(\tau)}{\epsilon_0 \epsilon}.$$

Если использовать линейный закон Ома для плотности тока, в поле избыточной плотности возникают плотности потоков разноименных зарядов: $\vec{j}_+ = \sigma_+ \vec{E}$, $\vec{j}_- = \sigma_- \vec{E}$, удовлетворяющих условию непрерывности потоков:

$$\operatorname{div} \vec{j}_+ + \frac{\partial \rho_+}{\partial \tau} = 0 \text{ и } \operatorname{div} \vec{j}_- + \frac{\partial \rho_-}{\partial \tau} = 0.$$

Следовательно, поле избыточного заряда должно удовлетворять условию:

$$\operatorname{div} \vec{E} = -\frac{\partial \rho(\tau)}{|\sigma_+ - \sigma_-| \partial \tau},$$

что приводит к релаксации согласно

$$\rho(\tau) = \rho_0 e^{-\frac{\tau}{\tau_M}},$$

где ρ_0 – начальная, избыточная плотность зарядов, $\tau_M = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon}{|\sigma_+ - \sigma_-|}$ – время релаксации избыточной плотности подвижных носителей заряда [2].

Таким образом, в электролитической среде с симметричной проводимостью разноименных ионов ($\sigma_+ = \sigma_-$) диэлектрическая релаксация не происходит, так как $\tau_M = \infty$. Не рассматривая задачи определения стационарного состояния системы нейтральных зарядов среды при ($\sigma_+ \neq \sigma_-$), отметим, что при условии $\sigma_+ > \sigma_-$ произойдет уменьшение плотности положительного заряда среды. Накопление положительного заряда на границе замкнутого объема связано с уменьшением числа положительных носителей в самой среде, что приведет к установлению равновесия σ_+ и σ_- . Эта взаимосвязь между кинетикой реакций, происходящих в клетке, и накоплением заряда на внутренней стороне мембраны, по-видимому, является ключевым механизмом клеточного обмена веществ.

Клеточная релаксация при уносе заряда с ее оболочки

В замкнутом, проводящем объеме свободные заряды скапливаются на его поверхности благодаря процессу "рассасывания". Если же замкнутый объем окружен селективно проницаемой мембраной для различных ионов, то благодаря максвелловскому "рассасыванию" избыточных зарядов из объема между поверхностями мембраны образуется разность потенциалов – типа заряженного сферического конденсатора. Аналогом замкнутого объема, окруженного липидной мембраной, является биологическая клетка. Обычно из-за различия величин подвижности основных клеточных ионов натрия и калия на внешней поверхности клеточной мембраны накапливается избыточный положительный заряд, на внутренней же поверхности остается равный по величине отрицательный заряд.

Нейтрализацией избыточного заряда на внешней оболочке можно нарушить жизнеспособность клетки. Опишем процесс клеточного обмена веществ модельной клетки положительными n_+ и отрицательными n_- зарядами между внутренней и внешней поверхностями мембраны [2].

Унос заряда с внешней поверхности клеточной мембраны можно описать системой уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dn_+}{d\tau} = n_- (\lambda - kn_+) - \lambda n_Q, \\ \frac{dn_-}{d\tau} = n_+ (\lambda - kn_-), \end{cases}$$

решение которой следует начинать с определения разбаланса зарядов на внешней и внутренней сторонах клеточной мембраны. Уравнение для разности зарядов на мембранном конденсаторе клетки получается вычитанием исходных уравнений системы:

$$\frac{d(n_+ - n_-)}{d\tau} = -\lambda(n_+ - n_-) - \gamma n_Q.$$

Решением дифференциального уравнения разбаланса является экспоненциальная функция

$$n_+ - n_- = u_0 \exp(-\lambda\tau) - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q,$$

где u_0 константа неравновесного распределения носителей при $\tau = 0$.

В результате система дифференциальных уравнений расщепляется на два независимых нелинейных уравнения:

$$\dot{n}_+ = \left(n_+ - u_0 e^{-\lambda\tau} + \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) (\lambda - kn_+) - \gamma n_Q, \quad \dot{n}_- = \left(n_- + u_0 e^{-\lambda\tau} - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) (\lambda - kn_-).$$

Рассмотрим решение системы для равновесного режима уноса заряда с внешней стороны мембраны начиная с времени установления равновесия на обкладках клеточного конденсатора ($\lambda \tau \gg 1$). В этом случае дифференциальные уравнения принимают вид:

$$\dot{n}_+ = -k \left\{ n_+^2 - \left(n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) n_+ \right\}, \quad \dot{n}_- = -k \left\{ n_-^2 - \left(n_s + \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) n_- + \frac{\gamma}{k} n_Q \right\}.$$

Интегрирование этих уравнений приводит к первичному результату вида

$$\left| \frac{n_+ - p_+}{n_+ - q_+} \right| = \bar{C}_+ \exp(-\alpha \tau), \quad \left| \frac{n_- - p_-}{n_- - q_-} \right| = \bar{C}_- \exp(-\alpha \tau),$$

где введены обозначения

$$\alpha = k \left| n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right| = k(p_+ - q_+) = k(p_- - q_-),$$

$$p_+ = \frac{1}{2} \left\{ \left(n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) + \left| n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right| \right\}; \quad q_+ = \frac{1}{2} \left\{ \left(n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) - \left| n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right| \right\},$$

$$p_- = \frac{1}{2} \left\{ \left(n_s + \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) + \left| n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right| \right\}; \quad q_- = \frac{1}{2} \left\{ \left(n_s + \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right) - \left| n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q \right| \right\}.$$

Известно, что при $\tau = 0$ в уравновешенном режиме соблюдается соотношение $n_- - n_+ = (\gamma/\lambda)n_Q$. В этом случае решения n_+ и n_- обладают одинаковыми константами интегрирования. В самом деле, выражая n_+ через решение n_- , при помощи соотношения между ними получаем полное совпадение решений. Следовательно, уместно ввести единую константу \bar{C} . Учитывая свойство констант интегрирования, определим решения n_+ и n_- при начальном условии $n_+(\tau = 0) = n_s$. Для раскрытия модулей рассмотрим два случая величины внешнего воздействия уноса заряда с внешней стороны мембраны. При условии $n_s > (\gamma/\lambda)n_Q$ константа интегрирования равна $\bar{C} = \gamma n_Q / \lambda n_s$ и определяется произведением относительной концентрации n_Q/n_s к отношению факторов внешнего воздействия и переноса зарядов через мембрану γ/λ . Решения в этом случае имеют вид:

$$\frac{n_+}{n_s} = \frac{C_+}{C_s} = \frac{1 - \bar{C}}{1 - \bar{C} \exp(-\alpha \tau)}, \quad \frac{n_-}{n_s} = \frac{C_-}{C_s} = \frac{1 - \bar{C}^2 \exp(-\alpha \tau)}{1 - \bar{C} \exp(-\alpha \tau)}.$$

В противоположном случае $n_s < (\gamma/\lambda)n_Q$, решения имеют вид

$$\frac{n_+}{n_s} = \frac{C_+}{C_s} = \frac{(\bar{C} - 1) \exp(-\alpha \tau)}{\bar{C} - \exp(-\alpha \tau)}, \quad \frac{n_-}{n_s} = \frac{C_-}{C_s} = \frac{\bar{C}^2 - \exp(-\alpha \tau)}{\bar{C} - \exp(-\alpha \tau)}.$$

Скорость релаксационного процесса определяется величиной времени α^{-1} , которое равняется произведению коэффициента k на модуль разности $n_s - \frac{\gamma}{\lambda} n_Q$. Это указывает на то, что не величина внешнего воздействия является основанием для ускоренной релаксации системы зарядов, а разность значений равновесного числа носителей заряда и фактора их уноса с внешней стороны мембраны. Если проследить динамику изменения относительных концентраций числа носителей на мембране, то при условии $n_s < (\gamma/\lambda)n_Q$ обнаружим полный унос носителей заряда с внешней оболочки клетки. В случае, когда унос заряда с внешней поверхности мембраны незначительный, зарядовое равновесие на клеточном конденсаторе нарушается также незначительно. Однако наибольшее нарушение равновесия происходит при включении внешнего воздействия. Это обстоятельство указывает на то, что не так принципиальна величина внешнего воздействия для разрушения равновесного состояния клетки, как ее резкое включение. Это означает, что электроплазмолиз можно осуществить импульсами в умеренном токовом режиме.

Предельные равновесные значения числа носителей на обкладках клеточного конденсатора указывают на существование восстановительного процесса с последующей стабилизацией числа носителей на внутренней стороне клеточной мембраны ($n_-(\tau \rightarrow \infty) = n_s$) при умеренном токовом режиме $n_s > (\gamma/\lambda)n_Q$. Поэтому для умеренного режима электроплазмолиза важно создать токовые им-

пульсы с крутым резким фронтом. Когда внешнее токовое воздействие генерирует унос заряда, который значительно превышает равновесное значение числа зарядов на обкладках клеточного мембранного конденсатора, происходит изменение равновесного значения числа зарядов на внутренней стороне мембраны от n_s на $(\gamma/\lambda)n_Q$. Коэффициент γ/λ является существенной кинематической характеристикой внешнего воздействия на клетку. Фактически он равен отношению времени стабилизации равновесного состояния мембраны $\tau_s = 1/\lambda$ к времени включения внешнего воздействия $\tau_{ex} = 1/\gamma$, пока унос возрастает до n_Q . Другими словами, это время определяет крутизну фронта включения внешнего воздействия. Видно, что чем резче включение внешнего воздействия, тем значительнее начальное отклонение от равновесия числа носителей заряда на внутренней стороне клеточной мембраны. Отметим то важное обстоятельство, что, независимо от длительности обработки, на внутренней стороне клеточной мембраны происходит генерация избытка отрицательных зарядов, равного разности $n_- - n_+ = (\gamma/\lambda)n_Q$. Этот избыток зарядов на внутренней стороне мембраны создает

радиальное электрическое поле $\vec{E} = \frac{\gamma n_Q e \vec{r}}{4\pi \epsilon_0 \epsilon \lambda r^3}$, под действием которого происходит отталкивание из-

быточных зарядов на внутренней стороне мембраны. Клеточная оболочка принимает сферическую форму, подтверждающую выдвинутую ранее модель клетки [3], и в пределах эластичности мембраны клетка набухает. Если внешнее воздействие превысит предел прочности мембраны, произойдет так называемый полный ее плазмолиз. Значение клеточного тока определяется величиной n_Q – количеством унесенных зарядов с внешней оболочки клетки, а внешнее воздействие на величину генерируемого избыточного заряда на внутренней стороне мембраны – величиной $\frac{\gamma}{\lambda} n_Q = \frac{\tau_s}{\tau_{ex}} n_Q$. Это под-

тверждает особую значимость электрической обработки в умеренном токовом режиме; даже при незначительном по величине токе фактор разрушения может быть существенным. Таким образом, медленным включением тока можно достичь значительной его величины, не разрушая клеточное строение биологического сырья, выдерживая мягкий фактор быстроты включения внешнего воздействия γ/λ .

Иерархия релаксационных времен клеточных процессов. Прокомментируем иерархию

времен, характерных для описания модели клетки, среди которых: $\tau_M = \frac{\epsilon_0 \epsilon}{|\sigma_+ - \sigma_-|}$ – диэлектрической

релаксации плотности нейтральных зарядов внутри клетки; $\tau_s = 1/\lambda$ – установления зарядового равновесия на обкладках клеточного мембранного конденсатора; $\tau_D = 1/kn_0$ – диффузионной релаксации внутриклеточных флуктуационных зарядов; $\tau_{ex} = 1/\gamma$ – включения внешнего воздействия через унос зарядов с внешней стороны мембраны.

Генератором плотности зарядов во внутренней области клетки является разность проводимостей ионов среды $|\sigma_+ - \sigma_-|$ [1]. Концентрации и дрейфовые скорости в электрическом поле ионов зависят от биохимических реакций во внутренней области модельной клетки. Такая модель полностью подходит для описания плазмолиза клеток биологической среды.

Время τ_D имеет непосредственное отношение к генерации зарядов на мембране и ее стабилизации. Фактически времена τ_M и τ_D равны. Из этого равенства следует $n_0 = |\sigma_+ - \sigma_-|/k\epsilon_0\epsilon$, подтверждая ранее сказанное, что генерация числа зарядов n_0 происходит благодаря отличию проводимостей ионов. Учитывая равенство $\sigma_+ - \sigma_- = n_0 e (v_+ - v_-)$, получаем выражение: $k = e |v_+ - v_-|/\epsilon_0\epsilon$, где v_+ и v_- – подвижности ионов.

Время стабилизации числа носителей заряда на клеточном мембранном конденсаторе τ_s определяет промежуток времени, за который число зарядов на внутренней стороне мембраны изменяется на величину $n_0 - n_s$, естественно, n_0 должно превышать величину n_s . Это означает, что клеточная мембрана имеет избирательную пропускную способность – пропускает только заряды с внутренней стороны мембраны во внешнюю. Если же пропускная способность мембраны будет больше или равна числу генерируемых зарядов ($n_s \geq n_0$), тогда заряды будут накапливаться только на внешней сто-

роне мембраны, что означает гибель клетки из-за нейтральности среды – за время τ_D этот заряд рассеется окружающей средой. Кроме того, отсутствие зарядов на клеточном мембранном конденсаторе означает отсутствие процесса клеточного обмена. Тем самым подчеркивается особая роль избирательной пропускной способности биологических клеточных мембран, которые обладают этим свойством.

Последняя из введенных характеристик – время включения внешнего воздействия, при этом не указан характер внешнего воздействия, приводящего к уносу заряда с внешней стороны мембраны. Дело в том, что любое воздействие на модельную клетку, вызывающее унос зарядов с внешней стороны мембраны, будет вызывать клеточные преобразования, аналогичные токовому воздействию. Время τ_{ex} указывает лишь быстроту включения воздействия. Заметим, что прибавка к плотности полного тока в случае электрического воздействия определяется проводимостью положительных зарядов $\sigma_+ = n_D e v_+ N$, где N – полное число клеток в обрабатываемом объеме сырья. Унос только одного заряда из каждой клетки обеспечивает прибавку к плотности полного тока значительной величины $N \approx 10^9$. Если абстрагировать внешнее воздействие фактором централизованного управления и контроля над динамикой клеточных процессов через кинетику биохимических реакций во внутреннем объеме клетки, тогда по крайней мере для клеток растительного и животного происхождения этот параметр определяет состояние их тургора. В самом деле, положительная разность зарядов $n_- - n_+ = (\gamma/\lambda)n_Q$, определяемая фактором внешнего воздействия, порождает отрицательный заряд во внутреннем объеме клетки – $Q_- = e \frac{\gamma}{\lambda} n_Q$, который поддерживает мембрану в состоянии сферической формы. Благодаря этому на внутренней стороне мембраны накапливается избыток отрицательного заряда плотностью $\rho = e \gamma n_D / 4\pi \lambda r^2$, который создает на мембране давление $P = \frac{e^2 \gamma^2 n_Q^2}{16\pi^2 \epsilon_0 \epsilon r^4}$.

Именно это давление поддерживает мембрану в напряженном состоянии, а квадрат характеристики внешнего воздействия $\left((\gamma/\lambda)n_D\right)^2$ в этой формуле указывает на то, что отклик действия на мембрану внешнего фактора усилен квадратично. Возможно, именно таким образом нервные импульсы управляют состоянием клеток живого организма. Кроме этого фактора управления кинетикой клеточных реакций особую роль играют факторы давления, температуры и обмена веществ через мембрану, которые здесь не учтены.

В заключение подчеркнем, что большое количество иерархических времен, казалось бы, должно понижать роль и способность выдвинутой модели. Однако анализ показывает, что она содержит лишь одно нововведенное время τ_s , так как остальные либо взаимно определяемые, либо внешне контролируемые.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Калашиников С.Г.* Электричество. М., 1977.
2. *Ботошан Н.И., Болога М.К., Берзой С.Е.* Время релаксации Максвелла и электризация проводящих сред // *Электронная обработка материалов.* 2003. № 6. С. 44–52.
3. *Ботошан Н.И., Болога М.К., Берзой С.Е.* Некоторые особенности разрядных и токовых режимов электроплазмолиза // Там же. 2004. № 2. С. 59–63.

Поступила 17.03.04

Summary

Peculiar side of the principle of rejection of ions with surplus mobility for vital activity of biological cells and maintenance of electric potential on the membrane is obtained. Membrane transport and conditions of potential neutralization on the membrane at charge carrying away from the cell membrane are considered. Hierarchy of the time relaxations of the cellular processes are presented and conditions of Electropasmolysis are defined by transition into stage of irreversibility of restoration of cellular membrane potential. A simple mathematical model of membrane transport stabilization has been investigated and the main characteristics of cell exchange, conditions of ensuring of the state of turgor, causes of cell death due to the breach of cell exchange have been determined. Possibility of destabilization of cellular processes until destroying of cell structure by electropasmolysis is mentioned.