
ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

А.М. Гашимов, Э.Д.Курбанов

ВЫСОКОВОЛЬТНОЕ ИМПУЛЬСНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ КЛЕТКУ

*Институт физики НАН Азербайджана,
пр. Джавида, 33, Аз-1143, г. Баку, Республика Азербайджан, e_qurbanov@physics.ab.az*

Сильные импульсные электрические поля короткой длительности находят широкое применение в технологических процессах обработки материалов и продуктов питания, получения озона, очистки жидких и газовых отходов, в медицине и сельском хозяйстве. Каждая технология строится с учетом особенностей физических процессов, протекающих в объекте, который подвергается воздействию импульсных полей. В свою очередь создание высоковольтных импульсных установок, позволяющих получать поля с напряженностью ~ 100 кВ/см и больше и временем нарастания ~ 1 нс и меньше, – актуальная проблема для многих электротехнологий. С этой точки зрения разработка технологии обработки жидких пищевых продуктов и воды при помощи высоковольтных импульсных воздействий с целью инактивации микроорганизмов, находящихся в них, – весьма актуальная и перспективная задача. К тому же, по сравнению с традиционной тепловой пастеризацией, импульсная инактивация микроорганизмов в водосодержащей среде является энергосберегающей, сохраняет исходную биологическую и пищевую ценность пищевых продуктов.

Воздействие электромагнитного поля на живую клетку и ее отклик на это воздействие в высшей степени сложный процесс. На настоящем этапе теоретического описания этого процесса видятся актуальными как построение достаточно простых моделей, для которых возможно получить аналитические решения, так и оценочное математическое описание реальных сложных процессов в реальной клетке и клеточных системах при действии на них внешнего электрического поля.

В данной статье рассматривается модель биологической клетки и приводятся некоторые расчеты, описывающие влияние воздействия на нее наносекундных импульсов высокого напряжения с целью инактивации.

Моделями клетки могут быть однослойные и многослойные диэлектрические оболочки [1], внутри и снаружи которых находится поляризуемая среда. На рис. 1 приведена двухслойная модель биологической клетки. Среда вне клетки с диэлектрической проницаемостью ε_1 является обрабатываемым продуктом. Наружная оболочка клетки соответствует клеточной мембране [2] с диэлектрической проницаемостью ε_2 , а диэлектрическая область под ней – цитоплазме [3] с ε_3 . Внутренняя оболочка клетки относится к ядерной мембране с ε_4 , а область под ней – прокариотической хромосоме с ε_5 . Именно электрический пробой оболочки служит одной из причин гибели клетки [4]. Поэтому напряженность электрического поля и падение напряжения на мембране – важные характеристики воздействия сильного электрического поля на клетку.

Вектор напряженности результирующего электрического поля и его составляющие определяются с помощью известного соотношения $\vec{E} = -\text{grad}\varphi^{(k)}$, лежащего в основе уравнения Лапласа:

$$\Delta\varphi^{(k)} = 0, k = \overline{1, n}, \quad (1)$$

где φ – скалярный потенциал электромагнитного поля, n – число сред с различными характеристиками, k – индекс среды с данными характеристиками.

Решение (1) для однородного диэлектрического шара и цилиндра приведено в [5], для однослойной оболочки – в [5, 6]. Для n -слойной оболочки уравнение (1) приобретает следующий вид:

$$\varphi^{(k)}(r, \theta) = \left(A_k r + \frac{B_k}{r^s}\right) \cos\theta, k = \overline{1, n}, \quad (2)$$

где A_k, B_k – постоянные; r, Θ – радиальная и угловая координаты; s – показатель, зависящий от формы оболочки.

Для сферических координат – $s=2$, для цилиндрических – $s=1$.

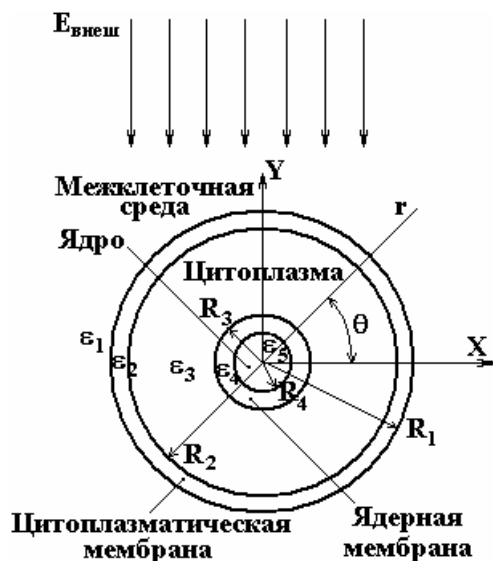


Рис. 1. Конструкция двухслойной биологической клетки: R_1 – наружный радиус оболочки клетки; R_2 – внутренний радиус наружной оболочки; R_3 – наружный радиус ядерной мембраны; R_4 – внутренний радиус ядерной мембраны; r, Θ – радиальная и угловая координаты

Падение напряжения на мембране U_m определяется путем интегрирования E вдоль радиальной координаты по толщине мембраны. Для описания биологической клетки примем следующие характеристики [3]: относительная диэлектрическая проницаемость мембраны от 2 до 10; относительная диэлектрическая проницаемость цитоплазмы – от 60 до 81; внутренний радиус мембраны $R_2=0,99 R_1$. На рис. 2 приведены графики относительного распределения модуля и радиальной составляющей напряженности электрического поля на внешней поверхности сферической мембраны (а, б) и падения напряжения на ней (в) при различных значениях ϵ_2 и ϵ_3 . Относительная диэлектрическая проницаемость среды, окружающей клетку, принята равной 81. Рассматриваемые распределения характеризуются безразмерными величинами:

$$E_r^*(R_1, \theta) = E_r(R_1, \theta) / E_0, E^*(R_1, \theta) = E(R_1, \theta) / E_0, U_m^*(\theta) = U_m(\theta) / (E_0 R_1).$$

Расчеты показали, что при характерных для биологической клетки значениях отношений ϵ_2/ϵ_1 и ϵ_3/ϵ_2 радиальная составляющая напряженности электрического поля в мембране значительно больше тангенциальной. Правые ветви кривых E_r^* и E^* при $\theta > \pi/2$ совпадают (рис. 2, а). При $\epsilon_2 \leq 5\epsilon_0$ напряженность поля в мембране в десятки раз превосходит E_0 и возрастает с уменьшением ϵ_2 (кривые 2, 4, 7, 8). Такая же тенденция имеет место при увеличении ϵ_3 (кривые 4, 9).

Известно, что биологическая клетка имеет сложную неоднородную структуру (в частности, прокариотические клетки содержат хромосому, а эукариотические – ядро). При фиксированном значении $\epsilon_3=81\epsilon_0$ изменяем радиус ядра R_3 в пределах $(0,2-0,9) R_1$. При $R_3 \leq 0,5 R_1$ наличие ядра мало сказывается на электрическом поле в мембране, а при $R_3 \leq 0,9 R_1$ приводит к его ослаблению (кривые 4, 9). Уменьшение диэлектрической проницаемости ядра приводит к усилению напряженности электрического поля в нем, особенно при больших значениях R_3 . В таблице приведены значения E/E_0 в ядре модели биологической клетки с двухслойной сферической диэлектрической оболочкой (рис. 2, б).

R_3/R_1	E/E_0	$\epsilon_4/\epsilon_0=10$
	$\epsilon_4/\epsilon_0=2$	
0,2	1,18	1,13
0,5	1,21	1,15
0,9	1,39	1,30

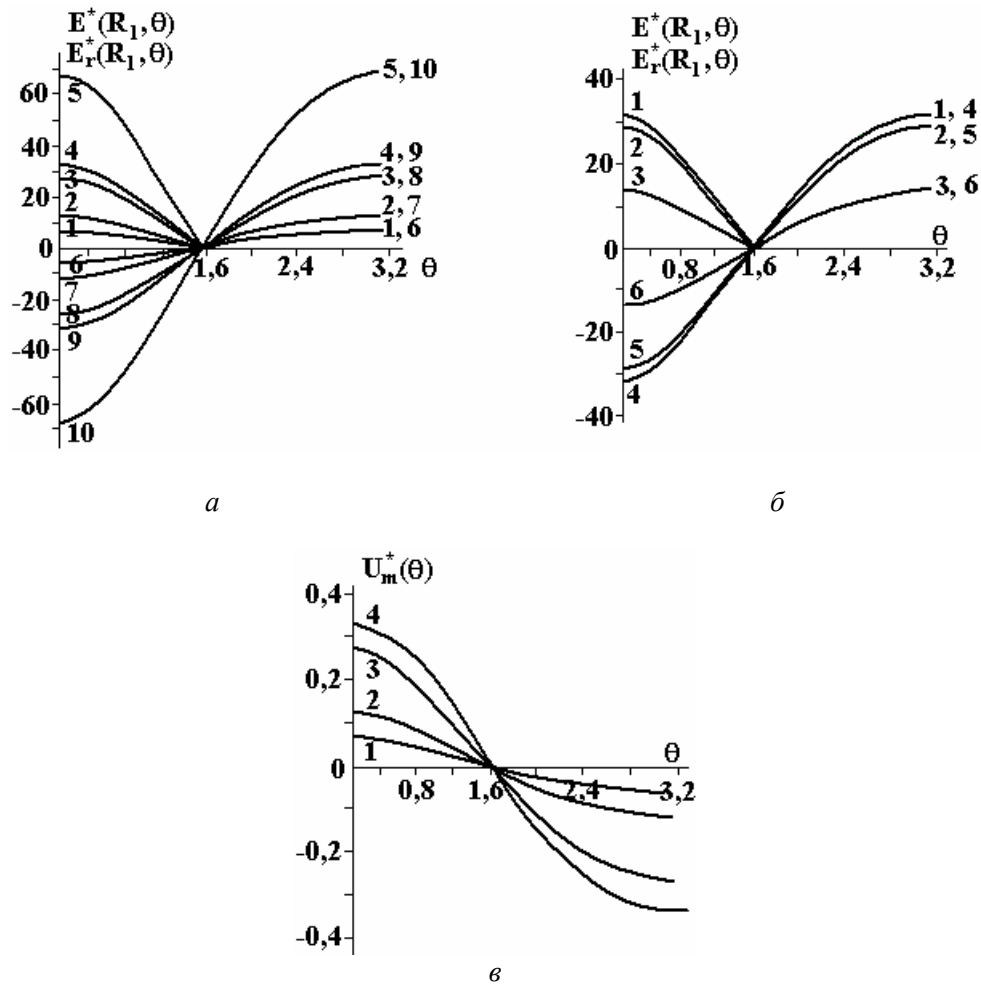


Рис. 2. Распределение модуля E^* (кривые 1–5) и радиальной составляющей E_r^* (кривые 6–10) напряженности электрического поля на внешней поверхности клеточной мембраны в модели с однослойной сферической диэлектрической оболочкой (а): 1–3, 7–9 – $\epsilon_3=60\epsilon_0$, 4, 6 – $81\epsilon_0$, 5,10 – оболочка на проводящем шаре; 1,6 – $\epsilon_2=10\epsilon_0$; 2,7 – $5\epsilon_0$; 3–5, 8–10 – $2\epsilon_0$; (б): распределение модуля E^* (кривые 1–3) и радиальной составляющей E_r^* (кривые 4–6) на внешней поверхности клеточной мембраны в модели с двухслойной сферической диэлектрической оболочкой при $\epsilon_1=\epsilon_3=81\epsilon_0$, $\epsilon_2=2\epsilon_0$, $\epsilon_4=10\epsilon_0$: 1,4 – $R_4=0,2R_1$, 2,5 – $R_4=0,5R_1$, 3–6 – $0,9R_1$; (в): падения напряжения на мембране в модели с однослойной сферической диэлектрической оболочкой: 1–3 – $\epsilon_3=60\epsilon_0$; 4 – $81\epsilon_0$; 1 – $\epsilon_2=10\epsilon_0$; 2 – $5\epsilon_0$; 3–4 – $2\epsilon_0$.

При этом относительное значение напряженности не превышает 1,5, как и в случае уединенного диэлектрического шара [5]. Исходя из того, что мембрана клетки пробивается при напряжении на ней $\sim 1\text{В}$ ([4, 7] и данные, приведенные на рис. 2,в), делаем вывод, что максимальные относительные значения падения напряжения на мембране, в зависимости от характеристик модели клетки, находятся в пределах 0,1–0,3. Этим значениям и указанному напряжению пробоя мембраны при $R_1=0,5 \cdot 10^{-6}$ соответствует напряженность внешнего электрического поля $E_0=67\text{--}200\text{ кВ/см}$.

Учитывая результаты аналитических расчетов для простейших моделей клетки, оценим реальное время присутствия импульсного электрического поля внутри реальной клетки (в цитоплазме и органеллах). На рис. 3 приведена качественная картина воздействия сильного электрического поля (а) и представлены схемы распределения силовых линий поля (б, в) в микробной клетке. При коротких фронтах (высоких частотах) поле проникает внутрь клетки.

Граничные условия для $t=t_1$ с учетом существенного преобладания плотности токов смещения над плотностью токов проводимости в этот момент для напряженностей на диаметре сферической клетки, проходящем через точку A (б,в), следующие: $\epsilon_1 E_1 = \epsilon_2 E_2$; $\epsilon_2 E_2 = \epsilon_3 E_3$; $\epsilon_3 E_3 = \epsilon_4 E_4$;

$$j_i = \gamma_i E_i + \epsilon_0 \epsilon_i \frac{\partial E_i}{\partial t}, \quad (3)$$

где $\varepsilon_0=8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м; $i=1-4$; $j_1 \geq j_2 \geq j_3 \geq j_4$ в общем случае, поскольку часть тока, протекающего во внешней среде, может не протекать через мембрану, а часть тока, протекающего через мембрану, может не протекать через цитоплазму и т.д. Если плотность тока j_i от внешних источников становится равной нулю, то процесс уменьшения напряженности E_i в i -м слое определяется из выражения

$$E_i(t) = E_i(t_0) \times e^{-\frac{t-t_0}{\tau_i}} \quad (4)$$

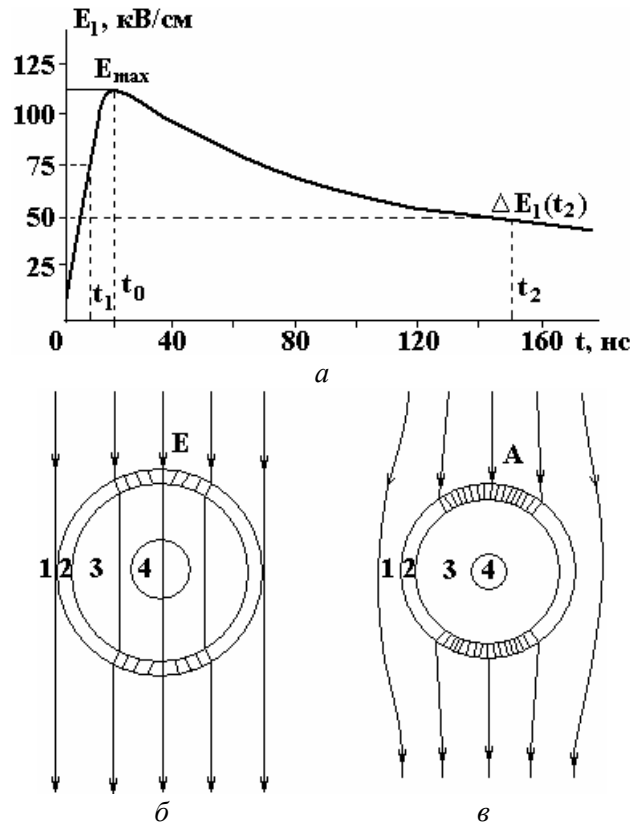


Рис. 3. Качественная картина воздействия импульса внешнего сильного электрического поля на микробную клетку в водосодержащей среде на фронте (t_1) и на спаде (t_2) импульса: 1 – внешняя среда; 2 – цитоплазматическая мембрана клетки; 3 – цитоплазма; 4 – ядро

Характерная постоянная времени τ_i уменьшения поля с момента прекращения тока j_i от внешних источников определяется выражением

$$\tau_i = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_i}{\gamma_i} \quad (5)$$

Получены следующие типичные данные для j_i и ε_i :

внешняя среда: $j_1=10^{-1}$ (Ом·м) $^{-1}$; $\varepsilon_1=81$; $\tau_1 = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_1}{\gamma_1} = 7,17 \cdot 10^{-9}$ (с),

мембрана: $j_2=10^{-7}$ (Ом·м) $^{-1}$; $\varepsilon_2=2$; $\tau_2 = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_2}{\gamma_2} = 1,77 \cdot 10^{-4}$ (с),

цитоплазма: $j_3=10^{-1}$ (Ом·м) $^{-1}$; $\varepsilon_3=81$; $\tau_3 = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_3}{\gamma_3} = 7,17 \cdot 10^{-9}$ (с),

ядро или прокариотическая хромосома: $j_4=10^{-7}$ (Ом·м) $^{-1}$; $\varepsilon_4=10$; $\tau_4 = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_4}{\gamma_4} = 8,85 \cdot 10^{-4}$ (с).

Плотность тока при $t=t_1$ и $t=t_2$ приблизительно равна проводимости:

$$j_1 \times E_1(t_1) = 10^{-1} \text{ (Ом}\cdot\text{м)}^{-1} \times 75 \cdot 10^5 \text{ (В/м)} = 7,5 \cdot 10^5 \text{ (А/м}^2\text{)};$$

$$j_1 \times E_1(t_2) = 10^{-1} \text{ (Ом}\cdot\text{м)}^{-1} \times 50 \cdot 10^5 \text{ (В/м)} = 5 \cdot 10^5 \text{ (А/м}^2\text{)};$$

$$j_2 \times E_2(t_1) = 10^{-8} (\text{Ом} \cdot \text{м})^{-1} \times 81/2 \cdot 75 \cdot 10^5 (\text{В/м}) = 3,04 (\text{А/м}^2);$$

смещению:

$$\varepsilon_0 \varepsilon_1 (\partial E_1 / \partial t)_{t=t_1} = 8,85 \cdot 10^{-12} \times 81 \cdot (75 \cdot 10^5 / 10^{-8}) = 5,38 \cdot 10^6 (\text{А/м}^2);$$

$$\varepsilon_0 \varepsilon_1 (\partial E_1 / \partial t)_{t=t_2} = 8,85 \cdot 10^{-12} \times 81 \cdot (5 \cdot 10^5 / 15 \cdot 10^{-8}) = 2,4 \cdot 10^3 (\text{А/м}^2);$$

$$\varepsilon_0 \varepsilon_2 (\partial E_2 / \partial t)_{t=t_1} = \varepsilon_0 \varepsilon_2 (\varepsilon_1 / \varepsilon_2) (\partial E_1 / \partial t)_{t=t_1} =$$

$$8,85 \cdot 10^{-12} \times 81 \cdot (75 \cdot 10^5 / 10^{-8}) = 5,38 \cdot 10^6 (\text{А/м}^2).$$

Из приведенных выше соотношений видно, что из-за низкой удельной электропроводности мембраны плотность тока проводимости в ней пренебрежимо мала по сравнению с плотностью тока смещения даже при максимальных амплитудах напряженности поля:

$$E_2 \approx \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} E_1 \approx \frac{81}{2} 100 \frac{\text{кВ}}{\text{см}} \approx 4050 \frac{\text{кВ}}{\text{см}}.$$

При резком уменьшении скорости изменения напряженности внешнего поля ($t=t_2$) соответственно уменьшается полная плотность тока через мембрану и, следовательно, внутри клетки. Если теперь принять за t_0 момент достижения напряженностью E_1 в точке A максимального значения $E_1(t_0) = E_{1\text{max}}$ (рис. 3), то в течение отрезка времени

$$\Delta t \geq 3 \times \tau_3 \quad (6)$$

напряженность поля в цитоплазме клетки станет пренебрежимо малой.

Время t_n , в течение которого присутствует поле внутри клетки (в цитоплазме и органеллах), для импульсов с крутым фронтом и пологим спадом можно оценить при помощи формулы

$$t_n \leq t_0 + \frac{3\varepsilon_0 \varepsilon_3}{\gamma_3}, \quad (7)$$

где t_0 – длительность крутого фронта импульса; ε_3, γ_3 – относительная диэлектрическая проницаемость и удельная электропроводность цитоплазмы.

В рассматриваемом варианте (рис. 3) $t_n = 2 \cdot 10^{-8} = 4,15 \cdot 10^{-8}$ (с). Следует отметить, что время присутствия поля внутри клетки (7) зависит не от ее размеров и формы, а от крутизны фронта внешнего импульса, диэлектрической проницаемости и удельной электропроводности цитоплазмы клетки.

Таким образом, в результате проведенных расчетов и анализа воздействия сильных импульсных полей на биологическую клетку выявлено, что с уменьшением диэлектрической проницаемости оболочки и увеличением диэлектрической проницаемости окружающей среды возрастают напряженность поля и падение напряжения на мембране клетки. Установлено, что для большего воздействия на внутреннее содержимое клетки необходимо поле высокой частоты, то есть комплексная высоковольтная импульсная обработка должна вестись импульсами с коротким фронтом ($t_f \leq 20$ нс) и длительностью ($t_i \geq 100$ нс). Оптимальная длительность импульсов связана с размерами клеток, подлежащих инактивации. Она тем больше, чем больше характерный размер клеток. Импульсы поля с длинным фронтом ($t_f > 20$ нс) хуже проникают или совсем не проникают внутрь клетки.

Итак, согласно предложенной концепции, наиболее целесообразно для максимального инактивирующего эффекта воздействия на микроорганизмы обработку осуществлять импульсами с фронтами минимально возможной длительности, с оптимальной длительностью импульсов (для микроорганизмов с характерным размером $r \sim 1$ мкм, $t_{ionm} \sim 0,1-1$ мкс) при максимально возможной амплитуде напряженности, не приводящей к пробое окружающей среды (суспензии).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко Н.И., Бондина Н.Н., Михайлов В.М. Моделирование воздействия электрического поля на объекты, имеющие многослойную структуру // Электронное моделирование. 2002. Т. 24. № 1. С. 70–82.
2. Hulsheger H., Potel J., Niemann E.G. Killing of bacteria with electric pulses of high field strength // Radiation and Environmental Biophysics. 1981. Vol. 20. P. 53–65.
3. Волькенштейн М.В. Биофизика. М.: Наука, 1988. С. 592.
4. Sale A.J., Hamilton W.A. Effects of high electric fields on microorganism. III. Lysis of Erythrocytes and Photoplasts // Biochimica et Biophysica Acta. 1968. Vol.163. № 1. P. 37–43.

5. *Поливанов К.М.* Теоретические основы электротехники. Ч.3. Теория электромагнитного поля. М.: Энергия, 1969. С. 352.
6. *Смайт В.* Электростатика и электродинамика. М.: ИЛ, 1954. С. 604.
7. *Benz R., Zimmermann U.* Pulse-length dependence of the electrical breakdown in lipid bilayer membranes // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1980. № 597. P. 637–642.

Поступила 27.05.09

Summary

Present article to influence of high pulsed electrical fields on microorganisms in water-containing medium is dedicated. A spherical model of organule by two-layer dielectric membrane is considered. The accounts and diagrams of dependence of field intensity on organule membrane from its geometrical and dielectric parameters are given. The necessity of influence by nanosecond high voltage pulses on microorganisms for their full inactivation is shown.
