

УДК 544.43

АНАЛИЗ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БЕЛКА И АМИНОКИСЛОТ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ

© 2024 г. И. М. Пискарев*

*Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д. В. Скобельцына,
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, (НИИЯФ МГУ),
Москва, Россия*

**E-mail: i.m.piskarev@gmail.com*

Поступила в редакцию 18.04.2024 г.

После доработки 18.04.2024 г.

Принята к публикации 02.06.2024 г.

Исследована деградация альбумина и аминокислот, входящих в его состав: триптофана, тирозина и фенилаланина под действием холодной плазмы коронного электрического разряда, импульсного излучения горячей плазмы и УФ-излучения ртутной лампы 253.7 нм. Концентрация продуктов до и после обработки определялась по выходу флуоресценции. Механизмами реакций, приводящих к деградации белка, являются окисление, нитрование и восстановление дисульфидных связей. Степень деградации белка и аминокислот сравнивается с действием перекиси водорода. Обсуждается возможность оценки эффективности бактерицидного действия на основе выхода флуоресценции.

Ключевые слова: флуоресценция, альбумин, аминокислоты, АФК, АФА

DOI: 10.31857/S0023119324050019 EDN: TYLGJS

ВВЕДЕНИЕ

Стерильность субстратов, продуктов и поверхностей различного назначения является одной из важных задач современных технологий. Антимикробным эффектом обладают различные физические факторы: излучение УФ-диапазона, активные формы кислорода и азота (АФК, АФА), высокая температура, а также химические препараты. В организме АФК и АФА участвуют в различных метаболических процессах, но превышение их концентрации приводит к деструкции и гибели микроорганизма или клетки [1].

К физическим методам, способным создавать высокие концентрации активных форм кислорода и азота, относятся разные виды электрического газового разряда, и УФ-излучение. Полный спектр АФК и АФА генерируется в плазме электрического разряда [2–4]. Генерируемые в электрическом разряде активные частицы производят бактерицидный эффект [5, 6]. Механизмом гибели бактериальной клетки под действием АФК и АФА являются в первую очередь, окислительные процессы, приводящие к разрушению клеточной стенки

и цитоплазматической мембраны. Проникшие внутрь клетки активные частицы через сигнальный механизм распространяют свое действие на внутриклеточные структуры [7]. В результате микроорганизм утрачивает метаболическую активность, структурную целостность и погибает.

Световое излучение имеет особенности бактерицидного действия. Под действием излучения УФ-С-диапазона (220–280 нм) происходит прямое поглощение квантов света молекулами ДНК/РНК и последующее их повреждение, связанное с изменением структуры и функции ДНК/РНК [8]. Кроме молекул ДНК/РНК, прямое поглощение квантов УФ-С-излучения возможно аминокислотами, входящими в состав белка: триптофан, тирозин, фенилаланин, гистидин, метионин, цистеин и цистин (дисульфидные связи). В результате аминокислоты разрушаются, что приводит к нарушению функции белка.

Для дезактивации микроорганизмов могут применять специальные реагенты, в том числе перекись водорода [9, 10]. Перекись водорода вызывает разрушение клеточной стенки у микроорганизмов,

что связано с высокой окислительной способностью препарата [11]. Химические реакции окисления могут занимать определенное время, поэтому при использовании перекиси водорода в качестве дезинфектанта важным фактором является время контактирования.

Клетки бактерий и других организмов состоят преимущественно из белков. Изучать степень бактерицидного и цитотоксического эффекта конкретного воздействия можно, используя в качестве модельного объекта растворы белка и аминокислот, входящих в его состав. Модельные растворы позволяют сравнить энергетические характеристики активных частиц разной природы, оценить степень их воздействия на белки и компоненты белков, а также выявить уровень противомикробного действия.

Цель работы — оценка и сравнение энергетических затрат на деградацию до уровня 50% альбумина и аминокислот (триптофан, тирозин, фенилаланин) под действием активных частиц холодной плазмы коронного электрического разряда, импульсного излучения горячей плазмы искрового разряда, УФ-излучения и сопоставление с действием перекиси водорода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Источниками активных частиц служили генератор коронного электрического разряда, генератор импульсного излучения горячей плазмы и ртутная УФ-лампа низкого давления. Для каждого источника определялся выход активных частиц, нормированный на дозу и объем обрабатываемого раствора. Для каждого исследуемого вещества определялась зависимость остаточной концентрации после обработки от дозы физического воздействия.

Генератор холодной плазмы коронного электрического разряда

Функциональная схема генератора приведена на рис. 1. Диаметр стеклянного реактора 90 мм, полный объем 500 мл. На дно наливали 50 мл обрабатываемого раствора. Слой жидкости заземлялся через отверстие в дне реактора. На расстоянии 6.5 мм от поверхности жидкости располагались 7 разрядных электродов из нержавеющей стали диаметром 2 мм. На каждый электрод через балластный резистор $R = 20$ МОм подавалось высокое напряжение 11 кВ отрицательной полярности. Каждый электрод соединялся с землей через искрогасящую емкость $C = 30$ пф. Ток разряда с каждого электрода 70 μ А, полный ток разряда 0.5 мА. Коронный разряд горел между электродами и поверхностью жидкости.

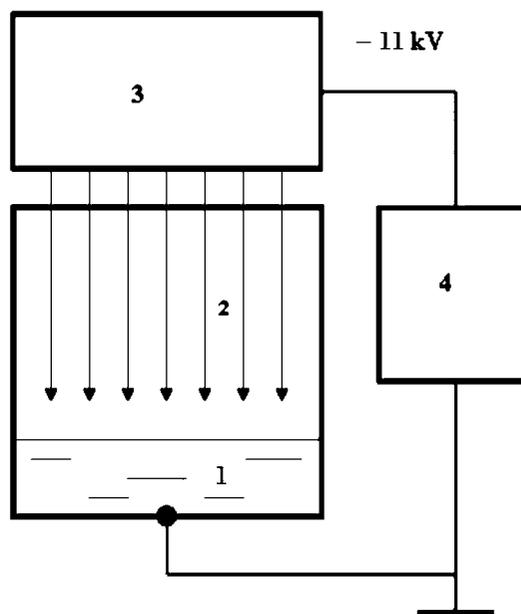


Рис. 1. Генератор коронного электрического разряда. 1 — обрабатываемая жидкость, 2 — разрядные электроды, 3 — RC матрица, 4 — источник высокого напряжения.

Под действием коронного разряда на воздухе в присутствии паров воды образовывались гидроксильные радикалы, озон, перекись водорода и окислы азота. За время обработки изменение кислотности воды не наблюдалось, поэтому образованием азотных соединений можно пренебречь. Перекись водорода образовывалась при взаимодействии гидроксильных радикалов, но далее она взаимодействовала с озоном, регенерировались гидроксильные радикалы. Поэтому в реакторе вырабатывалась озono-гидроксильная смесь, в которой время жизни гидроксильных радикалов составляло 0.12 с, на поддержание жизни гидроксильных радикалов расходовался озон [12, 13]. Основным реакционно-способным продуктом являлись гидроксильные радикалы. Выход гидроксильных радикалов, измеренный по окислению щавелевой кислоты и рассчитанный на основании данных работ [12, 13], составил $(4.15 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$ ммоль/(Дж 10 мл).

Генератор импульсного излучения горячей плазмы ИР10

Функциональная схема генератора представлена на рис. 2. Разрядный конденсатор $C1$ заряжается от источника высокого напряжения 11 кВ через резисторы $R1$, $R2$ и $R3$ ($R3 \gg R1 + R2$). Конденсатор соединен с электродами из нержавеющей стали диаметром 2 мм, расстояние между которыми 3 мм. При подаче высокого напряжения начинается самостоятельный искровой разряд, частота

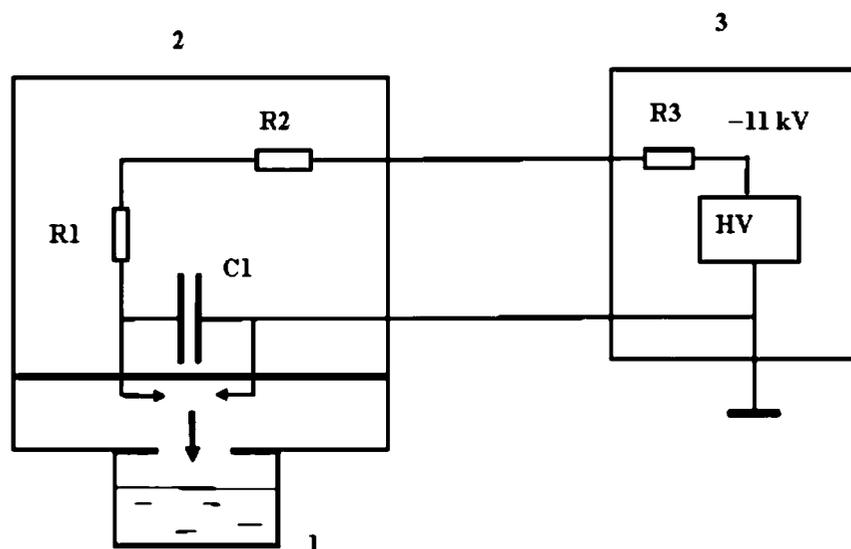


Рис. 2. Генератор импульсного излучения горячей плазмы ИР10. 1 – кювета с обрабатываемой жидкостью, 2 – модуль искрового разряда, 3 – модуль источника питания; C1 – разрядный конденсатор 2200 пф; R1 = R2 = 330 кОм – гаситель отраженной волны; R3 – балластное сопротивление 8 МОм, HV – источник высокого напряжения 11 кВ.

повторения импульсов 10 Гц, мощность 0.59 Дж/с. Область разряда излучает как черное тело, нагретое до температуры $\sim 10^4$ К. Максимум спектра излучения соответствует длине волны 220 нм. Излучение воздействует на жидкость, находящуюся в кювете. Объем жидкости 10 мл.

Активными частицами, образующимися в воде под действием излучения плазмы, являются радикалы HO_2^{\cdot} , азотистая кислота и комплекс... $\text{ONOON}/\text{ONO}^{\cdot}$..., который мог распадаться на пероксинитрит и пероксиазотистую кислоту [14, 15]. В процессе обработки кислотность раствора уменьшается, создается кислая среда. Поэтому основным каналом распада комплекса в данных условиях является пероксиазотистая кислота.

Выход радикалов HO_2^{\cdot} определяли в работах [14, 15] по окислению двухвалентного железа в соли Мора. На основании этих данных рассчитан выход радикалов HO_2^{\cdot} в условиях данного эксперимента. Выход составил $(2 \pm 0.2) \cdot 10^{-5}$ ммоль/(Дж 10 мл).

Азотсодержащие соединения, образующиеся в данном эксперименте, являются короткоживущими и в течение 3 суток практически полностью распадаются на азотную кислоту [16]:



Поэтому концентрацию первичных азотсодержащих соединений определяли по величине pH воды через 3 дня после обработки. Получена концентрация азотсодержащих соединений $(6.5 \pm 0.5) \cdot 10^{-4}$ ммоль/(Дж 10 мл).

Ртутная лампа низкого давления ДКБ-9

Использовалась лампа, вмонтированная в излучатель ОУФК-01 “Солнышко” мощностью 9 Вт. Интенсивность излучения определялась раствором ферриоксалата калия и ферросульфатным дозиметром в работе [15]. Полученные значения соответствуют паспортным характеристикам. Отсюда был рассчитан выход УФ-фотонов применительно к условиям данного эксперимента. Получено значение $(2.07 \pm 0.12) \cdot 10^{-3}$ ммоль/(Дж 10 мл).

Условия эксперимента

Для обработки использовались водные растворы бычьего альбумина концентрацией 700 мг/л ($1.07 \cdot 10^{-5}$ моль/л), L-триптофана 20 мг/л ($9.8 \cdot 10^{-5}$ моль/л), L-тирозина 20 мг/л ($1.1 \cdot 10^{-4}$ моль/л) и L-фенилаланина 220 мг/л ($1.33 \cdot 10^{-3}$ моль/л). Концентрацию растворов контролировали по выходу флуоресценции, калибровку осуществляли по стандартным растворам. Характеристики исследуемых веществ приведены в табл. 1. В состав молекулы альбумина входят ароматические аминокислоты триптофан (3 молекулы), тирозин (21 молекула) и фенилаланин (30 молекул), которые могут флуоресцировать. Как видно из табл. 1, основной вклад в флуоресценцию могут давать триптофан и тирозин, вклад фенилаланина мал. Длины волн возбуждения триптофана и тирозина близки, а с учетом количества этих аминокислот в молекуле альбумина максимум регистрации приходится на длину волны 330 нм. Характеристики линий поглощения, возбуждения и регистрации измерены для калиброванных растворов.

Таблица 1. Флуоресцентные характеристики ароматических аминокислот и альбумина

Аминокислота, белок	Длина волны поглощения, нм	Коэффициент экстинкции*, л моль ⁻¹ см ⁻¹	Длина волны испускания, нм	Квантовый выход* флуоресценции
Триптофан	288–290	5000–5600	350–355	0.2
Тирозин	275	1400	303	0.14
Фенилаланин	261	200	284	0.04
Альбумин	280	–	330	–

* – для альбумина определить коэффициент экстинкции и квантовый выход излучения затруднительно, так как белок имеет сложный состав.

Таблица 2. Доза физического воздействия, нормированная на 10 мл обрабатываемого раствора, при которой концентрация аминокислоты или белка уменьшается в два раза, $D_{1/2}$, Дж/(10 мл), и количество 3% перекиси водорода, вводимой в раствор для получения того же эффекта

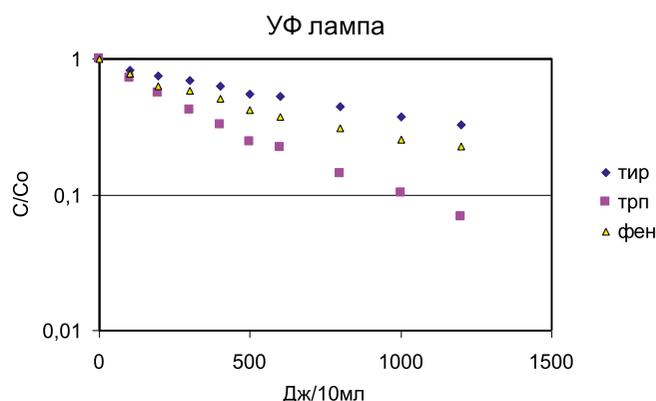
Аминокислота, белок	Вид воздействия, активные факторы, $D_{1/2}$ (Дж/10 мл)			
	Плазма, OH [•]	ИР10, NO ₂ [•] , HNO ₂ , ONOOH	УФ, $\lambda = 253.7$ нм	3% H ₂ O ₂ мл/(10 мл)
Тирозин	400 ± 60	2200 ± 250	650 ± 70	0.45
Триптофан	120 ± 15	1400 ± 150	210 ± 25	0.55
Фенилаланин	450 ± 70	1500 ± 170	420 ± 50	0.1
Альбумин	411 ± 45	1240 ± 130	40 ± 5	1.15

Выход флуоресценции зависит от кислотности раствора. Так как в процессе обработки величина pH уменьшалась, то обрабатывались растворы, подкисленные серной кислотой. Исходное значение кислотности растворов pH 3.2. В этом случае после обработки значение pH не менялось.

Оптическая плотность растворов измерялась спектрофотометром СФ-102 фирмы “Аквилон”, Москва. Выход флуоресценции измеряли прибором “Флуорат-02 Панорама”, фирма “Люмекс”, Санкт-Петербург. Кислотность растворов измеряли прибором “Эксперт-001”, фирма “Эконики”, Москва. Использовались химически чистые реактивы и дистиллированная вода, pH 6.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для всех исследованных веществ их остаточная концентрация после обработки источниками активных частиц уменьшается с ростом дозы, притом зависимость носит экспоненциальный характер. В качестве примера на рис. 3 представлена зависимость отношения концентрации C после обработки излучением УФ-лампы к исходному значению C_0 (C/C_0) от дозы излучения для тирозина, триптофана и фенилаланина. Видно, что зависимость от дозы в логарифмическом масштабе линейная. Поэтому величиной, которая характеризует уменьшение концентрации, является доза излучения, при которой концентрация уменьшилась в два раза $D_{1/2}$. Для исследуемого диапазона концентраций эта доза не зависит от начальной концентрации аминокислоты.

**Рис. 3.** Зависимость относительного уменьшения концентрации аминокислот после обработки (C/C_0) от дозы облучения УФ-лампой (Дж/10 мл), $\lambda = 253.7$ нм.

В табл. 2 приведены значения $D_{1/2}$ для исследованных веществ. В табл. 3 приводятся концентрации активных частиц, соответствующая $D_{1/2}$, и исходные концентрации обрабатываемых веществ. Для продуктов, образующихся под действием излучения горячей плазмы генератора ИР10: радикалов NO₂[•] и азотных соединений (HNO₂, ONOOH), концентрации активных частиц приведены отдельно.

Проанализируем полученные результаты.

Генератор холодной плазмы коронного электрического разряда

Основными активными частицами являются гидроксильные радикалы [13]. Механизм действия – окисление, отрыв атома водорода:

Таблица 3. Концентрация исходных веществ и активных частиц, нормированная на 10 мл раствора, соответствующая дозе $D_{1/2}$

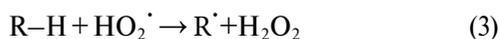
Аминокислота, белок	Концентрация аминокислот и белка в пробе, ммоль/(10 мл)	Вид воздействия, активные факторы, Концентрация частиц, ммоль/(10 мл), соответствующая $D_{1/2}$				
		Плазма OH^\cdot	ИР10		УФ $\lambda=253.7$ нм	H_2O_2
			HO_2^\cdot	HNO_2 ONOOH		
Тирозин	9.810^{-4}	1.6610^{-3}	0.044	1.43	1.34	0.396
Триптофан	1.110^{-3}	0.510^{-3}	0.028	0.91	0.434	0.48
Фенилаланин	1.3310^{-2}	1.8610^{-3}	0.03	0.97	0.867	0,088
Альбумин	1.0710^{-4}	1.710^{-3}	0.0248	0.8	0.0828	1.01



Энергия, выделяемая при образовании молекулы воды, составляет 115 ккал/моль [17]. Эта энергия расходуется на отрыв атома водорода. Ее достаточно, чтобы оторвать атом водорода практически из любого положения в органической молекуле [17]. Образуется радикал R^\cdot , который может участвовать в цепных реакциях. Из табл. 2 видно, что дозы $D_{1/2}$ для альбумина и входящих в его состав аминокислот под действием холодной плазмы примерно одинаковы. Сравнивая концентрацию радикалов OH^\cdot , соответствующую дозе $D_{1/2}$, с концентрацией исходных аминокислот в пробе (табл. 3), видим, что на один радикал приходится 0.6, 2.2 и 7 разрушенных молекул тирозина, триптофана и фенилаланина соответственно. Это свидетельствует о возможности протекания цепных реакций. Для альбумина на один гидроксильный радикал приходится 0.06 разрушенных молекул. Роль цепной реакции намного меньше, что может быть связано с ограниченной подвижностью аминокислот в альбумине. Из результатов следует, что механизмом повреждения белка под действием холодной плазмы коронного электрического разряда является окисление аминокислот, входящих в его состав.

Генератор импульсного излучения горячей плазмы ИР10

Основными активными продуктами являются радикалы HO_2^\cdot -окислители и азотные соединения HNO_2 и ONOOH . Механизм действия радикалов HO_2^\cdot – отрыв атома водорода:



Энергия, выделяемая при образовании перекиси водорода, составляет 88 ккал/моль [17]. Эта энергия меньше энергии связи атома водорода в большинстве участков органической молекулы, поэтому окисление радикалами HO_2^\cdot маловероятно и не играет большого значения, хотя их концентрация намного больше, чем концентрация гидроксильных радикалов в плазме коронного разряда (табл. 3).

Азотные соединения могут быть восстановителями и нитрующими агентами. Известно нитрование ароматических аминокислот (триптофана и тирозина) [18, 19]. Концентрации нитрующих агентов, соответствующих $D_{1/2}$, для альбумина и аминокислот примерно одинаковы (см. табл. 3). Отсюда следует, что разрушение альбумина импульсным излучением горячей плазмы осуществляется через нитрование входящих в его состав аминокислот.

Ртутная лампа низкого давления ДКБ-9

Активный фактор – излучение с длиной волны 253.7 нм. Излучение поглощают триптофан, тирозин, фенилаланин, гистидин, метионин, цистеин и цистин, которые входят в состав белка, линии поглощения которых расположены в области спектра 240–290 нм. Эти молекулы, поглотив фотон, меняют свою структуру, что влияет на их свойства и свойства белка в целом. Из табл. 2 видно, что величины $D_{1/2}$ для аминокислот близки значениям, полученным при действии гидроксильных радикалов. Особо следует выделить роль дисульфидных связей между остатками серосодержащей аминокислоты цистеина. Дисульфидные связи служат для поддержания третичной и четвертичной структуры белка [20–22], поэтому при их разрушении меняются свойства белка. В тоже время $-\text{S}-\text{S}-$ связи не влияют на свойства флуоресцирующих аминокислот: тирозина, триптофана и фенилаланина.

Восстановление дисульфидных связей в альбумине с образованием групп $-\text{SH}$ под действием импульсного излучения горячей плазмы генератора ИР10 и ртутной лампы ДКБ-9 изучалось в работе [23]. В обоих случаях образование $-\text{SH}$ групп наблюдалось, но для излучения генератора ИР10 их выход в ~ 7 раз меньше, чем под действием ртутной лампы. Восстановление $-\text{S}-\text{S}-$ связей азотсодержащими продуктами дает вклад, величина $D_{1/2}$ для альбумина под действием импульсного излучения генератора ИР10 меньше, чем для аминокислот (см. табл. 2). Но этот вклад небольшой, что согласуется с данными работы [23]. Величина $D_{1/2}$ для альбумина

под действием излучения ртутной лампы примерно в 10 раз меньше, чем для отдельных аминокислот, на концентрацию которых не влияют дисульфидные связи. Поэтому механизмами действия излучения лампы ДБК-9 на белок являются восстановление дисульфидных связей и прямое поглощение фотонов энергетическими уровнями аминокислот.

Перекись водорода

Перекись водорода – в первую очередь сильный окислитель, но может проявлять и восстановительные свойства в зависимости от условий среды. Основной механизм антибактериального действия перекиси водорода – повреждение стенки бактерии, которое происходит в результате нарушения функций белка [24, 25]. Функции белка нарушаются из-за повреждений аминокислот, входящих в его состав. Из табл. 2 видно, что расход перекиси водорода на окисление аминокислот до уровня 1/2 от исходной концентрации заметно меньше, чем на деградацию альбумина. Связано с тем, что в случае альбумина перекись расходуется не только на взаимодействия с аминокислотами, наблюдаемыми методом люминесценции, но и на другие компоненты белка. Перекись водорода можно использовать как эталон антибактериального действия физического фактора. Величину D_{50} можно сопоставить определенной концентрации перекиси водорода, свойства которой хорошо известны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механизмы действия источников активных частиц на аминокислоты и белок:

- Холодная плазма коронного электрического разряда – окисление гидроксильными радикалами.
- Импульсное излучение горячей плазмы – нитрование.
- Излучение ртутной лампы 253.7 нм – прямое поглощение фотонов. В белке – восстановление дисульфидных связей.

По уменьшению выхода флуоресценции в два раза можно судить о возможности антимикробного действия физического фактора. Анализ флуоресценции позволяет оперативно оценить роль и каналы действия физических факторов в процессе разрушения клеток живых организмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шлапакова Т.И., Костин Р.К., Тягунова Е.Е. // Биоорганическая химия. 2020. Т. 46. № 5. С. 466.
2. Bruggeman P.J., Kushner M.J., Locke B.R. et al. // Plasma Sources Sci. Technol. 2016. V. 25. 053002 (59 p).
3. Weltman K.D., Kolb J.F., Holub M. et al. // Plasma Processes and Polymers. 2018. e1800118.
4. Rezaei F., Vanraes P., Nikiforov A. et al. // Materials. 2019. V. 12. 2751.
5. van Gils C.A.J., Hofmann S., Boekema B.K.H.L. // J. Phys. D: Appl. Phys. 2013. V. 46. 175203. (14p).
6. Wood J.P., Adrion A.C. // Environ. Sci. Technol. 2019. V. 53. № 8. P. 4045.
7. Estifae P., Su X., Yannam S.K. et al. // Scientific Reports. 2019. V. 9. 2326.
8. Pattison D.I., Rahmanto A.S., Davies M. // Photochem. Photobiol. Sci. 2012. V. 11. P. 38.
9. Антошина Д.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. // Биохимия. 2022. Т. 87. Вып. 11. С. 1720.
10. Matin R., Yousefzadeh S., Ahmad E. et al. // Food and Chemical Toxicology. 2018. V. 116. Part B. P. 129.
11. Scappini F., Capobianco M.L., Casadei F. et al. // International Journal of Astrobiology. V. 6. № 4. P. 281.
12. Пискарев И.М. // Химия высоких энергий. 2020. Т. 54. № 3. С. 223.
13. Piskarev I.M. // IEEE Transactions on Plasma Science. 2021. V. 49. Iss. 4. P. 1363.
14. Пискарев И.М., Астафьева К.А., Иванова И.П. // Современные технологии в медицине. 2018. Т. 10. № 2. С. 90.
15. Piskarev I.M. // Plasma Chem. Plasma Process. 2021. V. 41. P. 1347.
16. Лобачев В.Л., Рудаков Е.С. // Успехи химии. 2006. Т. 75. №5. С. 422.
17. Luo Yu-Ran. Handbook of bond dissociation energies in organic compounds. 2003. CRC Press LLC Boca Raton. London, New York, Washington. pp. 1–94.
18. Corpas F.J., Gonzalez-Gordo S., Palma J.M. // Plant Stress. 2021. V. 2. 10006.
19. Иванова И.П., Пискарев И.М. // Химия высоких энергий. 2022. Т. 56. № 5. С. 361.
20. Mandal B., Basu B. // RSC Advances. 2014. V. 4. 13854.
21. Chung W. K., Russell B., Yang Y. et al. // Biotechnol. Bioeng. 2017. V. 114. P. 1264.
22. Bechtel T.J., Weerapana E. // Proteomics. 2017. V. 17. №. 6. P. 1.
23. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В. и др. // Химия высоких энергий. 2015. Т. 49. № 1. С. 76.
24. Davoudi M., Ehrampoush M.H., Vakili T. et al. // Int. Journal of Environmental Health Engineering. 2012. V. 1. Iss. 2. P. 1.
25. Khurshidi H., Rafiq M., Nazir F. et al. // Pure Appl. Biol. 2019. V. 8. № 4. P. 2238.

PROTEIN AND AMINO ACID FLUORESCENCE ANALYSIS AS A METHOD FOR EVALUATING BACTERICIDAL EFFECTIVENESS

I. M. Piskarev*

Skobeltsyn Research Institute of Nuclear Physics, Moscow State University, Moscow, Russia

**E-mail: piskarev@gmail.com*

The degradation of albumin and its constituent amino acids tryptophan, tyrosine, and phenylalanine under the influence of corona discharge cold plasma, pulsed radiation of hot plasma, and 253.7-nm UV light from a mercury lamp has been studied. The concentration of products before and after treatment was determined by measuring the fluorescence yield. The reaction mechanisms leading to protein degradation are oxidation, nitration, and reduction of disulfide bonds. The degree of protein and amino acid degradation is compared with the effect of hydrogen peroxide. The possibility of assessing the bactericidal effectiveness based on fluorescence yield is discussed.

Keywords: fluorescence, albumin, amino acids, ROS, RNS

REFERENCES

1. *Shlapakova, T.I., Kostin, R.K., and Tyagunova, E.E.* // Russ. J. Bioorg. Chem., 2020, vol. 46, № 5, p. 657.
2. *Bruggeman, P.J., Kushner, M.J., Locke, B.R. et al.* // Plasma Sources Sci. Technol., 2016, vol. 25, p. 053002.
3. *Weltman, K.D., Kolb, J.F., Holub, M. et al.* // Plasma Process. Polym., 2018, vol. 16, № 1, p. e1800118.
4. *Rezaei, F., Vanraes, P., Nikiforov, A. et al.* // Materials, 2019, vol. 12, p. 2751.
5. *Van Gils, C.A.J., Hofmann, S., and Boekema, B.K.H.L.* // J. Phys. D: Appl. Phys., 2013, vol. 46, p. 175203.
6. *Wood, J.P. and Adrion, A.C.*, *Environ. Sci. // Technol.*, 2019, vol. 53, № 8, p. 4045.
7. *Estifae, P., Su, X., Yannam, S.K. et al.* // Sci. Rep., 2019, vol. 9, p. 2326.
8. *Pattison, D.I., Rahmanto, A.S., and Davies, M.* // Photochem. Photobiol. Sci., 2012, vol. 11, p. 38.
9. *Antoshina, D.V., Balandin, S.V., and Ovchinnikova, T.V.* // Biochemistry (Moscow), 2022, vol. 87, № 11, p. 1327.
10. *Matin, R., Yousefzadeh, S., Ahmad, E. et al.* // Food Chem. Toxicol., 2018, vol. 116, p. 129.
11. *Scappini, F., Capobianco, M.L., Casadei, F. et al.* // Int. J. Astrobiol., 2007, vol. 6, № 4, p. 281.
12. *Piskarev, I.M.* // High Energy Chem., 2020, vol. 54, № 3, p. 205.
13. *Piskarev, I.M.* // IEEE Trans. Plasma Sci., 2021, vol. 49, № 4, p. 1363.
14. *Piskarev, I.M., Astaf'eva, K.A., and Ivanova, I.P.* // Sovrem. Tekhnol. Med., 2018, vol. 10, № 2, p. 90.
15. *Piskarev, I.M.* // Plasma Chem. Plasma Process., 2021, vol. 41, p. 1347.
16. *Lobachev, V.L. and Rudakov, E.S.* // Usp. Khim., 2006, vol. 75, № 5, p. 422.
17. *Luo, Y.-R.* Handbook of Bond Dissociation Energies in Organic Compounds, Boca Raton: CRC, 2003.
18. *Corpas, F.J., Gonzalez-Gordo, S., and Palma, J.M.* // Plant Stress, 2021, vol. 2, p. 10006.
19. *Ivanova, I.P. and Piskarev, I.M.* // High Energy Chem., 2022, vol. 56, № 5, p. 339.
20. *Mandal, B. and Basu, B.* // RSC Adv., 2014, vol. 4, p. 13854.
21. *Chung, W.K., Russell, B., and Yang, Y. et al.* // Biotechnol. Bioeng., 2017, vol. 114, p. 1264.
22. *Bechtel, T.J. and Weerapana, E.* // Proteomics, 2017, vol. 17, № 6, p. 1.
23. *Piskarev, I.M., Ivanova, I.P., Trofimova, S.V., and Burkhina, O.E.* // High Energy Chem., 2015, vol. 49, № 1, p. 72.
24. *Davoudi, M., Ehrampoush, M.H., Vakili, T. et al.* // Int. J. Environ. Health Eng., 2012, vol. 1, № 2, p. 1.
25. *Khurshidi, H., Rafiq, M., Nazir, F. et al.* // Pure Appl. Biol., 2019, vol. 8, № 4, p. 2238.