

А.В. ЯКУНОВ, Д.Т. ІЛЬЧУК

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
(Вул. Володимирська, 60, Київ 01033; e-mail: yakunov@knu.ua)**НЕТЕПЛОВИЙ ВПЛИВ МІЛІМЕТРОВОГО
ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ФЛЮОРЕСЦЕНЦІЮ
ВОДНОГО РОЗЧИНУ БАРВНИКА РОДАМІН 6G**

УДК 535.37

За допомогою флуоресцентної спектроскопії досліджено вплив міліметрового випромінювання на водні розчини органічного барвника родамін 6G. Шляхом оптимізації концентрації барвника вдалося мінімізувати теплові ефекти і виділити внесок нетеплових механізмів. Отримані результати свідчать про те, що міліметрове випромінювання індукує структурні зміни у водному середовищі, що, своєю чергою, призводить до зміни флуоресцентних властивостей барвника.

Ключові слова: міліметрові хвилі, нетепловий ефект, флуоресценція, родамін 6G.

1. Вступ

Дослідження ефектів нетеплової взаємодії електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону (ММВ) з біологічними об'єктами мають тривалу історію, що налічує понад п'ять десятиліть. Незважаючи на широке застосування низькоінтенсивного ММВ в біотехнології [1–3] та медицині [4–6], сучасні стандарти електромагнітної безпеки базуються переважно на оцінці теплового впливу [7, 8]. Вважається безпечним рівень експозиції, який не спричиняє істотного підвищення температури біологічних тканин. Механізми теплової взаємодії добре вивчені та піддаються кількісній оцінці за допомогою таких параметрів, як питомий коефіцієнт поглинання (SAR).

На відміну від теплових, нетеплові критерії фокусуються на потенційних нетермічних впливах на організм людини, зокрема, на нервову, репродуктивну та імунну системи. Основою для нетеплових критеріїв є статистичні дані медикобіологічних досліджень, а саме: епідеміологічні показники захворюваності, демографічні показники (наприклад, народжуваність) та імунологічні параметри. Характерною особливістю нетеплових критеріїв є їхня висока варіативність, зумовлена впливом численних соціоекономічних, кліматичних та екологічних чинників. Водночас механізми нетеплових ефектів ММВ на клітинному і молекулярному рівнях на сьогодні вивчені недостатньо і є дискусійною темою сучасної фізики [4, 7, 9–11].

Відсутність консенсусу щодо фізичної природи взаємодії низькоінтенсивного ММВ з біологічними системами зумовлена високим ступенем нелінійності та багатопараметричності біологічних процесів. Наявні фізичні моделі не здатні адекватно описати ефекти, що спостерігаються. Це пов'язано з обмеженістю нашого розуміння молекулярних механізмів, які лежать в основі біологічних реакцій. Дефіцит систематичних досліджень взаємодії ММВ з небіологічними системами, для яких, в принципі, можлива побудова більш ефективної фізичної моделі, ускладнює екстраполяцію отриманих результатів на біологічні об'єкти.

Унікальні фізико-хімічні властивості води, які забезпечують їй центральну роль у біологічних процесах, роблять її перспективним об'єктом для вивчення нетеплових ефектів електромагнітного випромінювання, особливо в міліметровому діапазоні хвиль. Експериментальні дані свідчать про те, що вплив мікрохвиль на воду призводить до зміни її структурних і динамічних характеристик, що не зводяться до теплового ефекту. Зокрема, повідомлялось про модифікацію розчинності газів [12], зміну термофізичних властивостей, адсорбційної здатності, електропровідності та оптичних характеристик [13], параметрів коливальних спектрів

Цитування: Якунов А.В., Ільчук Д.Т. Нетепловий вплив міліметрового випромінювання на флуоресценцію водного розчину барвника родамін 6G. *Укр. фіз. журн.* **69**, № 12, 919 (2024).

© Видавець ВД “Академперіодика” НАН України, 2024. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

ISSN 0372-400X. *Укр. фіз. журн.* 2024. Т. 69, № 12

[14], а також утворення реакційноздатних продуктів, таких як перекис водню [15].

Результати молекулярно-динамічного моделювання дають змогу більш детально описати механізми взаємодії міліметрових хвиль із водою на молекулярному рівні. Передбачається, що електромагнітне випромінювання індукує локальні флуктуації енергії, що сприяють розбудові водневого зв'язку, перетворенню енергії електромагнітного поля на кінетичну енергію молекул і енергію міжмолекулярної взаємодії, а також порушенню структури води поблизу гідратованих іонів [16, 17]. Водночас інші роботи не виявляють статистично значущих змін [18, 19].

Складність взаємодії електромагнітного випромінювання мікрохвильового діапазону з водою зумовлює необхідність проведення додаткових експериментальних і теоретичних досліджень для всебічного вивчення механізмів, що лежать в основі можливих нетеплових біологічних ефектів.

Наші попередні дослідження [20–24], проведені з використанням флуоресцентної спектроскопії та органічного барвника родаміну 6G (Р6G) у водних розчинах, виявили високу чутливість цієї методики до впливу електромагнітного випромінювання. Зокрема, нам вдалося розрізнити ефекти мікрохвильового випромінювання побутової частоти від чисто теплового впливу, що вказує на наявність додаткових, нетеплових механізмів взаємодії випромінювання з молекулами середовища. Аналіз динаміки змін спектральних характеристик флуоресценції Р6G під час термічного циклювання, а також диспропорції між дозою випромінювання та інтенсивністю флуоресценції підтверджують гіпотезу про існування нетеплових ефектів при мікрохвильовому опроміненні.

У даній статті представлено експериментальне підтвердження прямої реєстрації нетеплових ефектів, індукованих ММВ, з використанням флуоресцентної спектроскопії.

2. Вплив температури на флуоресценцію розчинів

Підвищення температури розчинів зазвичай призводить до посилення теплового руху молекул, що проявляється у збільшенні частоти та енергії молекулярних зіткнень, а також у зростанні амплітуди внутрішньомолекулярних коливань. Ці фактори

сприяють підвищенню ймовірності безвипромінювальних процесів дезактивації електронного збудження, таких як внутрішня конверсія і міжмолекулярна передача енергії. У результаті спостерігається зниження квантового виходу флуоресценції.

Водночас було виявлено нестандартну температурну поведінку інтенсивності флуоресценції, що виражається в її збільшенні зі зростанням температури [25]. Це явище може бути пояснене процесами молекулярної асоціації. Так, для деяких органічних молекул, таких як родамін 6G, характерне утворення нековалентних комплексів (димерів, тримерів тощо) у розчині. Квантовий вихід флуоресценції асоціатів, як правило, нижчий, ніж в ізованих молекул. Сумарна інтенсивність флуоресценції системи визначається рівновагою між мономерною та асоційованою формами. При підвищенні температури спостерігається дисоціація комплексів, що призводить до збільшення концентрації флуоресцентних мономерів і, як наслідок, до зростання інтенсивності флуоресценції.

Пропонований метод дослідження заснований на створенні умов, за яких температурні ефекти, що призводять до гасіння флуоресценції, компенсуються протилежно спрямованими процесами, пов'язаними з температурною дисоціацією молекулярних агрегатів. Оптимізацією концентрації розчину передбачається досягти температурної незалежності інтенсивності флуоресценції в певному діапазоні. Таким чином, будь-які зміни інтенсивності світіння, викликані зовнішніми впливами, можуть бути інтерпретовані як результат нетеплових ефектів.

3. Прилади та матеріали

На попередньому етапі було досліджено температурну залежність спектральних параметрів флуоресценції водного розчину Р6G за різних концентрацій. Спектри реєстрували за допомогою швидкодійного спектрометра з відеореєстрацією за різних температур у діапазоні (20–30) °С. Концентрація барвника в розчині варіювалася від 10^{-3} до 10^{-2} г/л. Збудження флуоресценції здійснювали на довжині хвилі 405 нм. Детальний опис приготування зразків, методики та обладнання, а також алгоритмів обробки спектрів наведено в [24]. Отримані залежності апроксимували лінійною функцією $\Delta I/I_0 = k(t - t_0)$, де $\Delta I/I_0$ – від-

носна зміна інтенсивності, t_0 – початкова температура, k – температурний коефіцієнт (ТК). Було виявлено, що ТК розчину Р6Г залежить від його концентрації. При концентрації $C_0 \approx 0,004$ г/л ТК близький до нуля (рис. 1). При відхиленні концентрації від C_0 (як у бік збільшення, так і в бік зменшення) ТК змінює знак з позитивного на негативний. Для температурного калібрування було використано водний розчин родаміну С (РС), ТК якого слабо залежить від концентрації, що робить його популярним маркером у флуоресцентній термометрії.

На основному етапі вимірювань використовували спеціальний хвелеводний модуль (рис. 2, а). Склоаний капіляр діаметром 1 мм, що містив досліджувану розчин, поміщали в прямокутний хвелевод із поперечним перерізом (5,20–2,60) мм, паралельно до широких стінок. Випромінювання фіолетового лазера (405 нм, 60 мВт) спрямовували на капіляр через отвір у широкій стінці для збудження флуоресценції. Через співвісний отвір у протилежній стінці на капіляр подавалося випромінювання інфрачервоного лазера (808 нм, 100 мВт) для нагрівання розчину. Для посилення температурного відгуку на ділянку зовнішньої поверхні капіляра наносили спеціальне поглинаюче покриття, що забезпечувало контактний нагрів. Температурний режим регулювався варіюванням стуму інфрачервоного лазера.

Генератор міліметрових хвиль Г-141, з робочим діапазоном частот (37,50–53,57) ГГц, був підключений до одного кінця секції хвелеводу. Частота випромінювання 49,80 ГГц підбиралася експериментально і відповідала резонансу даної конфігурації хвелеводної лінії з поглинаючим елементом [22] (рис. 2, б). Вихідна потужність генератора становила 20 мВт. Поглинену потужність хвиль у капілярі розраховували, як різницю між падаючою, відбитою і переданою потужністю. Вона становила 10 мВт, що призводило до локального нагрівання водного розчину на 3–4 градуси [20]. З урахуванням розміру нагрітої області капіляра, постійна часу теплової релаксації оцінювалася в кілька секунд [20]. Спектри флуоресценції реєстрували через відкритий кінець хвелеводу з інтервалом в 1 секунду.

Флуоресценцію розчинів Р6Г з концентраціями, близькими до критичної, вивчали під час впливу міліметрових хвиль і контактного нагрівання.

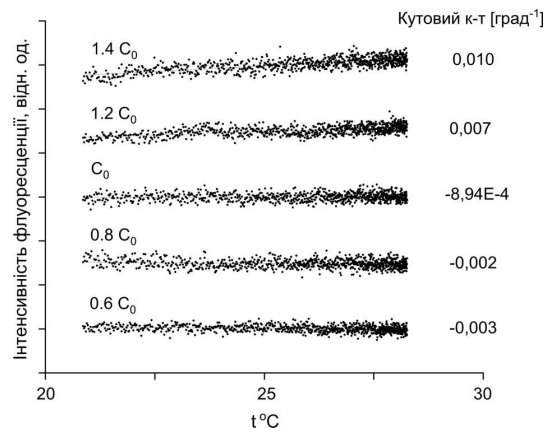


Рис. 1. Залежність інтенсивності флуоресценції розчину Р6Г від температури при різних концентраціях, близьких до критичної

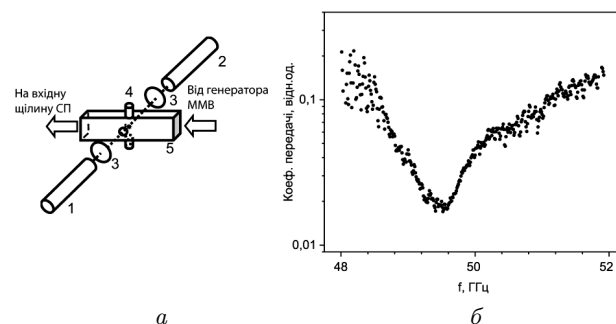


Рис. 2. Вимірювальний модуль: 1 – фіолетовий лазер, 2 – інфрачервоний лазер, 3 – фокусувальні лінзи, 4 – капіляр з розчином, 5 – секція хвелеводу (а). Передавальна характеристика хвелеводної секції з капіляром (б)

Експерименти проводилися з використанням послідовного впливу трьох чинників: інфрачервоного нагріву, мікрохвильового опромінювання і повторного інфрачервоного нагріву. Тривалість кожного впливу становила 60 секунд, між впливами витримувалася однаковий інтервал тієї ж тривалості. Для порівняння аналогічному впливу піддавався водний розчин РС з концентрацією, близькою до C_0 .

4. Результати та їх обговорення

Аналіз реакції розчину Р6Г на комбінований вплив контактного нагріву та ММВ залежно від концентрації дав змогу ідентифікувати п'ять різних поведінкових моделей (рис. 3, а). Експериментальні дані (рис. 3, б) демонструють, що за концентрацій, які суттєво відрізняються від критичної

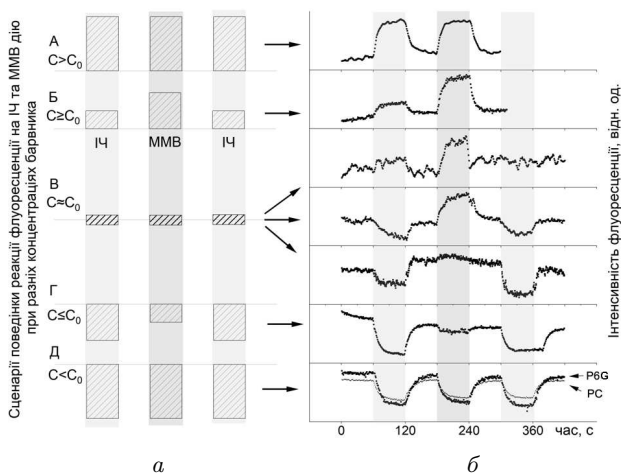


Рис. 3. Сценарії реакції флуоресценції розчину Р6Г на дію ІЧ та ММВ (а). Приклади відповідних сигналів флуоресценції (б)

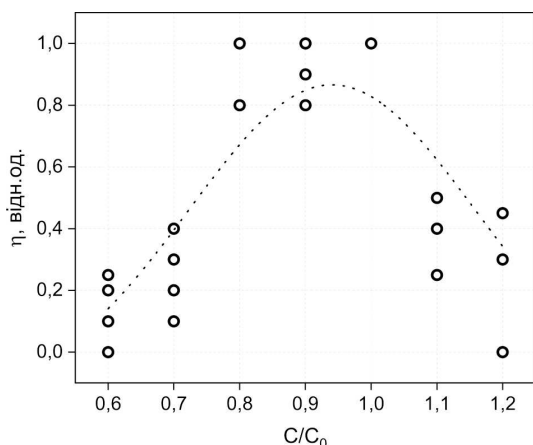


Рис. 4. Прояв нетеплового ефекту для різних концентрацій барвника

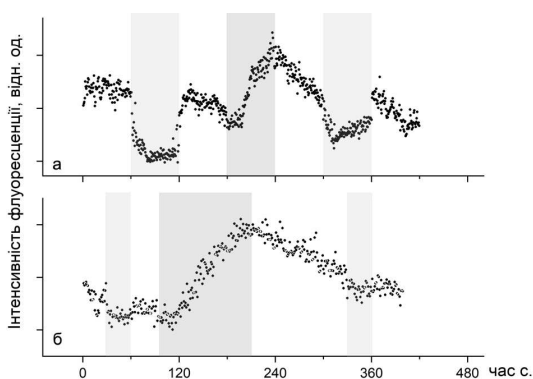


Рис. 5. Репрезентативні реалізації експериментів з проявами нетеплового впливу ММВ

(сценарії А і Д), домінує тепловий механізм взаємодії, за якого ММВ не робить додаткового внеску в спостережувані ефекти. Оцінка величини нагрівання, проведена з використанням температурного калібрування, дає значення $(3 \pm 1)^\circ\text{C}$. Сценарій (Д) виявився характерним для всіх досліджених концентрацій барвника РС (рис. 2, б, нижня діаграма).

У безпосередній близькості від критичної концентрації (сценарії Б і Г) виявлено певні відмінності у динаміці системи, а саме, спостерігались реакції одного знаку, але з різною амплітудою, що може вважатись ознакою прояву нетеплових ефектів. У нашому попередньому дослідженні [22] реакція флуоресценції розчину на вплив ММВ відповідала саме сценарію Б. Експериментально визначений температурний еквівалент виявився вищим за розрахований, що дало підстави припустити наявність додаткових нетеплових процесів.

Сценарій В, для якого $C \approx C_0$, характеризується незвичайною поведінкою системи, проявляючись або відсутністю реакції на один із впливів, при наявності її на другий вплив, або реакціями протилежних знаків. Така контрастність реакцій суперечить очікуванам тепловим ефектам та вказує на існування складних, потенційно нетеплових механізмів взаємодії ММВ з розчином. Для кількісної оцінки сукупності експериментальних даних було введено безрозмірну величину $\eta = \left| \frac{\Delta I_{IR} - \Delta I_{MW}}{\Delta I_{IR} + \Delta I_{MW}} \right|$. Коефіцієнт η виступає як параметр, що характеризує амплітуду нетеплової компоненти відгуку системи на мікрохвильове збурення, аналогічно тому, як коефіцієнт контрастності визначає амплітуду модуляції сигналу. Залежність коефіцієнта η від концентрації наведено на рис. 4. У сценарії В, та частково Б та Г сигнал виявився близьким до рівня шумових флуктуацій, що обмежує точність кількісної оцінки коефіцієнта η . Проте, загальна тенденція залежності є статистично значущою і вказує на наявність нетеплового ефекту.

Незважаючи на значний рівень шумових перешкод, детальний аналіз найбільш репрезентативних експериментальних даних дозволив виявити додаткові аспекти взаємодії ММВ з досліджуванним зразком.

Зокрема, наведені на рис. 5, а дані, що відповідають одній із реалізацій сценарію В, свідчать про наявність двостадійної реакції флуоресценції

на вплив ММВ. На початковому етапі спостерігається характерне для теплового гасіння зниження інтенсивності флуоресценції, проте в подальшому домінуючим стає нетепловий механізм, що призводить до зростання інтенсивності світіння. Аналогічна двофазна динаміка флуоресценції була зафіксована в експерименті з модифікованим часовим профілем впливу, результати якого наведено на рис. 5, *b*. У цьому випадку тривалість імпульсів ГЧ випромінювання і наступних пауз було скорочено до 30 секунд, а для ММВ відповідні інтервали було збільшено до 120 секунд. Отримані дані демонструють, що початкова реакція флуоресценції на вплив ММВ має переважно тепловий характер, про що свідчить зниження інтенсивності світіння в перші кілька секунд. Однак потім спостерігається зміна знаку реакції, що призводить до збільшення інтенсивності з ознаками насичення. Після вимкнення ММВ інтенсивність флуоресценції повільно знижується, на тлі цього загасання проявляється більш швидкий процес температурного гасіння. Слід зазначити, що характерна часова шкала релаксації флуоресценції у відповідь на вплив ММВ значно перевищує відповідну величину для ГЧ випромінювання і може бути грубо оцінена в кілька десятків секунд.

Для пояснення спостережуваного явища можуть бути запропоновані два альтернативні механізми. Перший передбачає безпосередній каталітичний вплив ММВ на енергію активації реакції димеризації, що узгоджується з даними мікрохвильової хімії [15]. Проте, з огляду на низьку інтенсивність застосованого в експерименті мікрохвильового поля, такий механізм видається менш імовірним. Другий механізм полягає в опосередкованому впливі ММВ на флуоресценцію через водне середовище. Аналіз попередніх досліджень вказує на наявність значущих структурних змін у воді та водних розчинах під впливом мікрохвильового випромінювання. Механізм цих змін полягає у взаємодії змінного електромагнітного поля з постійними дипольними моментами молекул води, що супроводжується переорієнтацією диполів та модифікацією мережі водневих зв'язків. Згідно з перколяційною моделлю структури води [26], низькоінтенсивне мікрохвильове випромінювання індукує кумулятивне накопичення енергії в системі, що призводить до поступової перебудови структури перколяційного кластера [27]. При цьому

характерний час релаксації системи виявляє значну залежність від геометрії зразка: спостерігається суттєве скорочення часу релаксації при переході від об'ємного зразка (стандартної кювети) до капілярів, що вказує на посилення ролі поверхневих ефектів та обмеження розмірності. Результати молекулярно-динамічного моделювання підтверджують можливість формування тривалих нерівноважних станів, зумовлених колективними флуктуаціями перколяційного кластера [17].

5. Висновки

Експериментально доведено існування ефекту нетеплового впливу міліметрового випромінювання на флуоресценцію водного розчину родаміну 6G. При порівнянні дії контактного нагрівання та опромінення міліметровими хвилями на розчини з певною концентрацією флуорофора було виявлено протилежні за напрямком зміни флуоресценції. Кінетичний аналіз флуоресцентного відгуку на ММВ показав, що нетеплові ефекти розвиваються повільніше, ніж теплові, що свідчить про складні багатостадійні процеси, індуковані ММВ у водному середовищі. Отримані результати відкривають перспективи для розробки фізичних моделей нетеплової взаємодії ММВ з біологічними системами та ідентифікації молекулярних мішеней для такого впливу.

1. A. Yakunov, A. Nizhelska, L. Marinchenko, V. Marinchenko, V. Makara. Influence of processing of yeast *Saccharomyces cerevisiae* with millimeter waves on fermentation indices in technology of bioethanol production. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* **51**, 156 (2015).
2. M.T. Kubo, E.S. Siguemoto, E.S. Funcia, P.E. Augusto, S. Curet, L. Boillereaux, S.K. Sastry, J.A. Gut. Non-thermal effects of microwave and ohmic processing on microbial and enzyme inactivation: A critical review. *Current Opinion in Food Science* **35**, 36 (2020).
3. A.G. Markelz, D.M. Mittleman. Perspective on terahertz applications in bioscience and biotechnology. *Acs Photonics* **9**, 1117 (2022).
4. R. Habash. *BioElectroMagnetics: Human Safety and Biomedical Applications* (CRC Press, 2020).
5. J.-C. Chiao, C. Li, J. Lin, R.H. Caverly, J.C. Hwang, H. Rosen, A. Rosen. Applications of microwaves in medicine. *IEEE J. Microwaves* **3**, 134 (2022).
6. H. Wang, L. Lu, P. Liu, J. Zhang, S. Liu, Y. Xie, T. Huo, H. Zhou, M. Xue, Y. Fang. Millimeter waves in medical applications: status and prospects. *Intelligent Medicine*, (2023).

7. O.P. Gandhi. Electromagnetic fields: Human safety issues. *Ann. Rev. Biomed. Eng.* **4**, 211 (2002).
8. M. Shbanah, T.A. Kovacs. The effects of electromagnetic waves on Human health, security-related advanced technologies. *Critical Infrastructure Protection: Theoretical and Practical Approach* (Springer, 2022).
9. J. Moskowitz. 5G wireless technology: millimeter wave health effects. *Electromagnetic Radiation Safety* **3**, 3 (2017).
10. A. Wood, R. Mate, K. Karipidis. Meta-analysis of in vitro and in vivo studies of the biological effects of low-level millimetre waves. *J. Exposure Sci. & Environmental Epidemiology* **31**, 606 (2021).
11. I. Calvente, M.I. Nunez. Is the sustainability of exposure to non-ionizing electromagnetic radiation possible? *Medicina Clinica (English Edition)* **162**, 387 (2024).
12. B. Yemets. On mechanism of influence of low intense millimeter waves on air content in water. *Int. J. Infrared and Millimeter Waves* **22**, 639 (2001).
13. Y. Asakuma, T. Maeda, T. Takai, A. Hyde, C. Phan, S. Ito, S. Taue. Microwaves reduce water refractive index. *Scientific Reports* **12**, 11562 (2022).
14. G. Han, F. Liu, T. Zhang, W. Xu, Y. Zhang, N. Wu, S. Ouyang. Study of microwave non-thermal effects on hydrogen bonding in water by Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **285**, 121877 (2023).
15. N. Wang, W. Zou, X. Li, Y. Liang, P. Wang. Study and application status of the nonthermal effects of microwaves in chemistry and materials science—a brief review. *RSC advances* **12**, 17158 (2022).
16. J. Liu, G. Jia. Non-thermal effects of microwave in sodium chloride aqueous solution: Insights from molecular dynamics simulations. *J. Mol. Liq.* **227**, 31 (2017).
17. D. Gou, K. Huang, Y. Liu, H. Shi. Influence of weak microwaves on spatial collision and energy distribution of water molecules. *Chem. Phys.* **540**, 110977 (2021).
18. Y. Tao, B. Yan, N. Zhang, M. Wang, J. Zhao, H. Zhang, D. Fan. Do non-thermal effects exist in microwave heating of glucose aqueous solutions? Evidence from molecular dynamics simulations. *Food Chemistry* **375**, 131677 (2022).
19. Y. Tao, B. Yan, N. Zhang, J. Zhao, H. Zhang, W. Chen, D. Fan. Decoupling thermal effects and possible non-thermal effects of microwaves in vacuum evaporation of glucose solutions. *J. Food Engineering* **338**, 11257 (2023).
20. D. Babich, N. Kuzkova, O. Popenko, A. Yakunov. Temperature measurement in microwave-irradiated systems using a temperature-dependent fluorescent dye. *Вісник КНУ, "Радіофізика та електроніка"* **2**, 13 (2014).
21. N. Kuzkova, O. Popenko, A. Yakunov. Application of temperature-dependent fluorescent dyes to the measurement of millimeter wave absorption in water applied to biomedical experiments. *J. Biomedical Imaging* **2014**, 12 (2014).
22. D. Babich, A. Kyslyk, V. Pobiedina, A. Yakunov. Application of fluorescent dyes for some problems of bioelectromagnetics. *Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care* **V**, 324 (2016).
23. M. Redkin, N. Gaiduk, A. Yakunov. *Fluorescence-based technique to study the specific effects of microwaves*. *Frontiers in Optics* (Optica Publishing Group, 2020).
24. L. Bulavin, N. Gaiduk, M. Redkin, A. Yakunov. Specific effect of microwaves on the aqueous solution of rhodamine 6g according to fluorescence analysis *Ukr. Phys. J.* **66**, 256 (2021).
25. S. Viznyuk, P. Pashinin, A. Prokhorov, S. Rastopov, A. Sukhodolskii, Temperature-induced luminescence rise in aqueous solutions of rhodamine 6G. *JETP Lett.* **47**, (1988).
26. A. Geiger, F. Stillinger, A. Rahman. Aspects of the percolation process for hydrogen-bond networks in water. *J. Chem. Phys.* **70**, 4185 (1979).
27. A.V. Yakunov, M.M. Biliy, A.P. Naumenko. Long-term structural modification of water under microwave irradiation: Low-frequency raman spectroscopic measurements. *Adv. Opt. Techn.* **2017**, 1 (2017).

Одержано 08.08.24

A. V. Yakunov, D. T. Ilchuk

NON-THERMAL EFFECT OF MILLIMETER-WAVE RADIATION ON THE FLUORESCENCE OF THE RHODAMINE 6G AQUEOUS SOLUTIONS

With the help of fluorescence spectroscopy, the effect of millimeter-wave radiation on the aqueous solutions of the organic dye rhodamine 6G has been studied. By optimizing the dye concentration, the thermal effects are minimized, and the contribution of non-thermal mechanisms is identified. The results obtained indicate that millimeter-wave radiation induces structural changes in the aqueous medium, which, in turn, leads to changes in the fluorescent properties of the dye.

Keywords: millimeter waves, non-thermal effect, fluorescence, rhodamine 6G.