

میکروب زدایی باکتریها با استفاده از پلاسما DBD در فشار جو

*ولی اله صبا، خرد رضائی^۱، حامد هاشمی^۲

تاریخ اعلام وصول: ۹۲/۲/۴

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۹۲/۶/۲

چکیده

مقدمه و هدف: میکروب زدایی سطوح موضوع مهمی در حوزه‌های مختلف مثل پزشکی و صنعت غذایی می‌باشد. روش‌های سنتی میکروب‌زدایی دارای اثرات گرمایی و اثرات جانبی مضر مثل تولید پسماندهای شیمیایی سمی می‌باشند. استفاده از پلاسما سرد برای میکروب زدایی روشی است که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. پارامترهای مختلفی که در تولید پلاسما سرد تاثیر دارند می‌توانند میزان اثر گذاری این روش در میکروب زدایی را تغییر دهند. در این مقاله اثر دو تا از پارامترهای تاثیر گذار مهم، (۱) مدت زمان تابش موج (۲) ظرفیت خازن‌های ذخیره کننده، بر عملکرد پلاسما سرد مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی مولد پلاسما سرد (DBD (dielectric barrier discharge ساخته شده و اثر دو عامل موثر مذکور بر میکروب زدایی در نتایج خروجی دستگاه بررسی شد. باکتری E.coli در محیط آزمایشگاهی کشت داده شده و سپس تحت تابش پلاسما سرد در بازه‌های زمانی و ظرفیت‌های خازنی مختلف قرار گرفت. در هر مطالعه میزان میکروب‌زدایی پلاسما با اندازه‌گیری مساحت نمونه فعال ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از میکروب زدایی باکتریهای E.coli با دستگاه DBD در ولتاژ ۱۰ کیلو ولت و فرکانس ۲۰ کیلو هرتز نشان داد که این دستگاه در مدت ۲ ثانیه بدون ایجاد اثرات گرمایی تمام نمونه‌ها را بطور کامل استریلیزه کرد. همچنین افزایش زمان تابش باعث افزایش میزان قدرت میکروب زدایی پلاسما سرد شد. افزایش ظرفیت خازنی باعث تشدید قدرت میکروب‌زدایی DBD گردید.

بحث و نتیجه‌گیری: پلاسما سرد یک روش غیر گرمایی و غیر مخرب بوده که قابلیت میکروب زدایی بالایی دارد. با افزایش زمان تابش و ظرفیت خازنی این دستگاه میزان اثر بخشی آن بیشتر می‌گردد.

کلمات کلیدی: میکروب زدایی سطوح، باکتری E.coli، تخلیه سد دی الکتریک

مقدمه

اعتمادترین روش‌هایی است که به عنوان منبع غیر گرمایی برای استریلیزاسیون استفاده شده و کاربردهای زیادی در پزشکی دارد از جمله: درمان بافت زنده، استریلیزاسیون سطوح، میکروب‌زدایی با کتری‌ها. مطالعات زیادی برای ارتقا روش و فرایند میکروب زدایی باکتری‌ها

تحقیق در مورد استریلیزاسیون پلاسما از سال ۱۹۶۰ شروع شد. پلاسما گرمایی و غیر گرمایی دو نوع از پلاسما می‌باشد که بطور گسترده برای استریلیزاسیون بیولوژیکی استفاده شده است (۱). تخلیه حامل‌های دی الکتریک (DBD) یکی از سریعترین و قابل

۱- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، دانشکده پیراپزشکی، گروه رادیولوژی (*نویسنده مسئول) آدرس الکترونیک: vsaba@aut.ac.ir

۲- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، دانشکده پیراپزشکی، گروه رادیولوژی

۳- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، دانشکده پیراپزشکی، گروه رادیولوژی

ضخامت ۱ میلی متر عایق بندی شده است. یک الکتروود دیگر که به زمین وصل می شود به فاصله ۱ میلی متر از الکتروود ولتاژ بالا قرار می گیرد. نمونه بر روی الکتروود پایینی برای استریلیزاسیون قرار گرفت.

فرکانس ولتاژ اعمالی قابل تنظیم در بازه ۱۰-۲۰ کیلوهرتز می باشد. ولتاژ پالسی با طول پالسهای نانو ثانیه ای با استفاده از تجهیزاتی شامل منبع توان dc، خازن های ذخیره کننده انرژی، کلیدهای سرعت بالا و مبدل ولتاژ فریت تولید می شود. انرژی در خازن ها انباشته می شود و سپس انرژی ذخیره شده در خازن در مدت زمان اندکی و با فرکانس بالایی به پلاسمای DBD تبدیل می شود. طول پالس بسیار کم و فرکانس بالایی ولتاژ اعمالی باعث می شود که پلاسمای یکنواختی در بین دو الکتروود ایجاد شود که این پلاسمای اثرات گرمایی بر نمونه ها و بافت ندارد. نمونه ای از این پلاسمای تولید شده در شکل ۲ نشان داده شده است.

آماده سازی نمونه: فرایند میکروب زدایی بر روی نمونه ای از باکتری گرم منفی، اشرشیا کلای (E.coli) در یک ظرف استریل شده انجام شد. باکتری طی فرایند مشخصی تهیه شده و سپس غلظت مشخصی از آن بر روی پتری دیش بطور یکنواخت پخش می شود. پس از این مرحله باکتریها آماده پرتو دهی می شوند. پس از پرتو دهی توسط پلاسمای پتری دیش ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفته تا با رشد باکتری های فعال نتایج آزمایش مشخص شود. قابل ذکر است که همه مراحل در زیر هود انجام می شود. نکته دیگر آن که در همه آزمایشات انجام شده یک پتری دیش تحت عنوان نمونه کنترل بدون پرتو دهی برای بررسی اثرات محیطی در نظر گرفته می شود. غلظت نمونه های استفاده شده در این مقاله برابر 10^4 ، 10^7 و 10^8 CFU/ml می باشد.

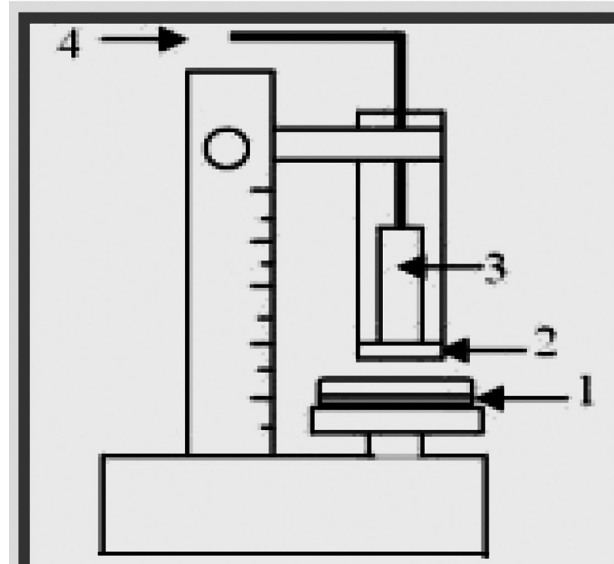


شکل ۲- تصویر پلاسمای DBD تولید شده

انجام شده است (۲، ۳). مکانیسم استریلیزاسیون با DBD تابحال کاملاً مشخص نشده است. میدان الکتریکی و ذرات ری اکتیو به عنوان عامل های موثری در میکروب زدایی باکتریها در نظر گرفته شده است (۴). ذرات ری اکتیو شامل فوتون های مرئی و فرابنفش، ذرات باردار مثل الکترون ها، یونها، رادیکال های آزاد و ذرات ری اکتیو خنثی مثل اتم های ری اکتیو (اکسیژن، فلورین، ازن، اکسید نیتروژن و غیره)، اتم های تحریک شده و پاره های مولکول های ری اکتیو می باشند (۵ و ۶). در این مقاله از ولتاژ پالسی بالا با طول پالس کم و فرکانس بالا برای تولید پلاسمای سرد در فشار جو استفاده شده است. اثر دو تا از عوامل موثر بر اثر گذاری پلاسمای مطالعه شده که در بخش های بعدی توضیح داده شده است.

مواد و روش ها

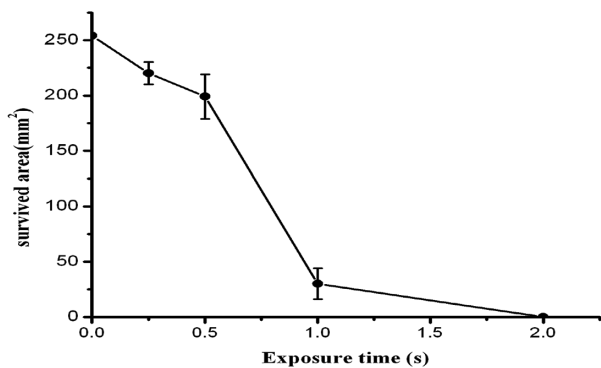
انرژی اعمال شده در DBD متناسب با $1/2cv^2ft$ می باشد که C ظرفیت خازن، v ولتاژ اعمال شده، f فرکانس و t مدت زمان تابش می باشد. در این مقاله اثر دو تا از این عوامل یعنی C و t در عملکرد DBD بصورت تجربی مطالعه شد. مولد پلاسمای DBD: شماتیک دستگاه مولد پلاسمای سرد طراحی شده در شکل ۱ نشان داده شده است. پلاسمای DBD با اعمال ولتاژ پالسی نانو ثانیه ای به الکتروود ولتاژ بالا تولید می شود. الکتروود استفاده شده میله آلومینیومی با قطر ۹ میلی متر می باشد که با استوانه تفلونی و دی الکتریک کوارتز با



شکل ۱- شماتیک دستگاه ساخته شده برای تولید پلاسمای سرد (۱) نمونه (۲) دی الکتریک کوارتز (۳) الکتروود آلومینیومی (۴) منبع ولتاژ-بالا

یافته‌ها

عملکرد دستگاه، ظرفیت بانک خازنی استفاده شده می‌باشد. برای مطالعه اثر این عامل، ظرفیت‌های مختلفی از خازنها در مدار دستگاه مولد بهره گرفته شد. نمونه‌ای با غلظت 10^8 تهیه شده و میزان ناحیه زنده مانده از نمونه بعد از تابش به مدت ۰,۵ ثانیه محاسبه شد. ظرفیت خازنهای استفاده شده برابر بود با ۶۸۰، ۴۷۰، ۳۲۰ و ۲۲۰ میکرو فاراد. ولتاژ مولد برابر ۱۰ کیلو ولت و فرکانس آن ۱۹ کیلو هرتز بود. نتایج حاصل از این آزمایش در شکل ۵ نشان داده شده است و مشاهده می‌شود که با افزایش ظرفیت خازنی عملکرد دستگاه در میکروب زدایی افزایش می‌یابد. تصاویر نمونه‌ها بعد از تحت تابش قرار گرفتن آنها در مقابل مولد با ظرفیت‌های خازنی ۶۸۰، ۴۷۰، ۳۲۰، ۲۲۰ در شکل ۶ نشان داده شده است.

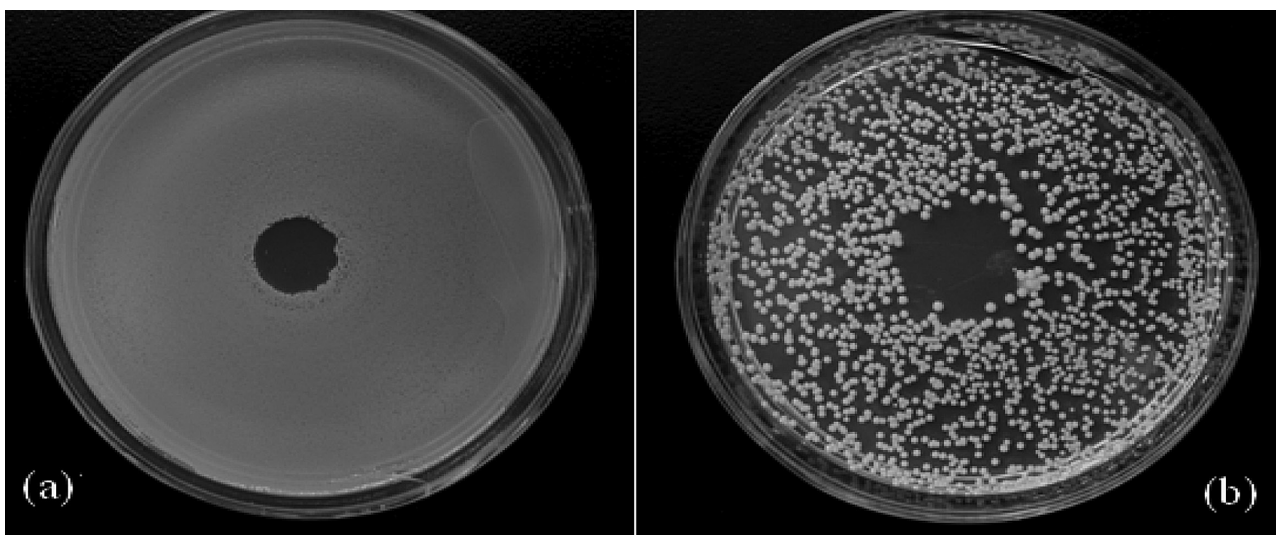


شکل ۴- ناحیه زنده مانده از نمونه با غلظت 10^8 بصورت تابعی از زمان، فرکانس ۱۹ کیلو هرتز، ولتاژ اعمال شده ۱۰ کیلو ولت

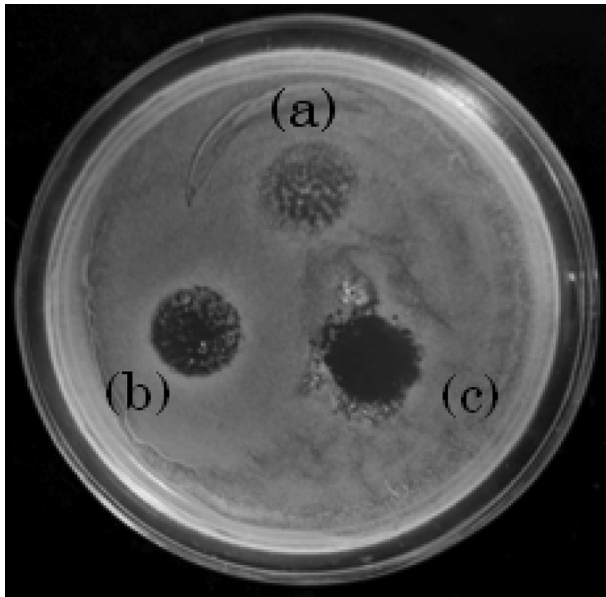
در ابتدا برای نشان دادن میزان کارایی پلاسمای سرد در فرایند میکروب زدایی، دو حجم متفاوت از نمونه باکتری *E.coli* با غلظت‌های 10^7 و 10^4 CFU/ml تهیه شده و قسمت مرکزی آنها توسط DBD به مدت‌های ۱ و ۰/۵ ثانیه به ترتیب تحت تابش قرار گرفتند. فرکانس اعمال شده برابر ۱۹ کیلو هرتز و ولتاژ اعمالی ۱۰ کیلو ولت می‌باشد. میزان اثرگذاری و میکروب زدایی پلاسمای سرد در شکل ۳ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که هیچ باکتری در قسمت مرکزی ظرف باقی نمانده است. نتایج مطالعات ما نشان داد که عمل استریلیزاسیون با سرعت بسیار بالایی اتفاق می‌افتد و باعث کاهش غلظت باکتریها به میزان $\log 8$ ~ در مدت ۲ ثانیه می‌شود.

برای بررسی اثر زمان تابش بر میکروب زدایی، نمونه‌هایی با غلظت 10^8 تهیه شده و تحت تابش پلاسمای مشخصات، فرکانس ۱۹ کیلو هرتز، ولتاژ اعمال شده ۱۰ کیلو ولت و ظرفیت خازنی ۳۲۰ پیکو فاراد در بازه‌های زمانی مختلف قرار گرفتند. سپس مساحت ناحیه فعال برای هر آزمایش اندازه گیری شد. در شکل ۴ ناحیه درمان شده با تابش پلاسمای سرد بصورت تابعی از زمان نشان داده شده است. اندازه گیری زمان با تایمر دیجیتالی انجام شد. همانطوری که مشاهده می‌شود با افزایش زمان مساحت ناحیه میکروب زدایی شده به سرعت افزایش می‌یابد.

از طرفی دیگر همانطوری که ذکر شد یکی از عوامل تاثیر گذار بر



شکل ۳- اثر تابش پلاسمای سرد با $V=10\text{ kV}$, $f=19\text{ kHz}$ در کاهش میزان باکتریهای *E.coli*. a) پتری دیش حاوی 10^7 CFU/ml که قسمت مرکزی آن به مدت ۱ ثانیه پرتو دهی شده است. b) پتری دیش حاوی 10^4 CFU/ml که قسمت مرکزی آن به مدت ۰,۵ ثانیه پرتو دهی شده است.

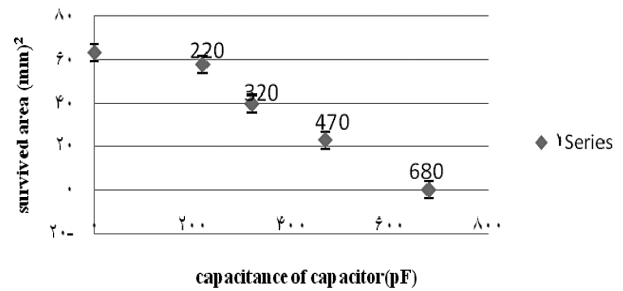


شکل ۶- سه نمونه درمان شده با مولد پلاسمای سرد با $V=10\text{ kV}$, $f=19\text{ kHz}$ ، $t=0/5\text{ s}$ که در آنها ظرفیت‌های خازنی متفاوت می‌باشد. غلظت باکتری 10^8 CFU/ml و ظرفیت‌های خازنی برابر: (a) $c=320\text{ pF}$, (b) $c=470\text{ pF}$, (c) $c=680\text{ pF}$

که افزایش مدت زمان تابش و ظرفیت بانک خازنی باعث افزایش عملکرد DBD در میکروب زدایی شد. هر چند نرخ افزایش اثر گذاری و رابطه دقیق برای این موضوع فعلاً بدست نیامده که این موضوع می‌تواند در تحقیقات بعدی مورد مطالعه و بررسی قرار بگیرد.

References

- 1- Kogelschatz U, Eliasson B, Egli W. Dielectric-barrier discharges. Principle and applications. Journal de Physique IV 1997; 7 (C4).
- 2- Cooper M, Fridman G, Staack D, Gutsol AF, Vasilets VN, Anandan S, et al. Decontamination of surfaces from extremophile organisms using nonthermal atmospheric-pressure plasmas. Plasma Science, IEEE Transactions on 2009; 37 (6): 866-71.
- 3- Ma Y, Zhang G-J, Shi X-M, Xu G-M, Yang Y. Chemical mechanisms of bacterial inactivation using dielectric barrier discharge plasma in atmospheric air. Plasma Science, IEEE Transactions on 2008; 36 (4): 1615-20.
- 4- Fridman G, Peddinghaus M, Balasubramanian M, Ayan H, Fridman A, Gutsol A, et al. Blood coagulation and living tissue sterilization by floating-electrode dielectric barrier discharge in air. Plasma Chemistry and Plasma Processing 2006; 26 (4): 425-42.
- 5- Moisan M, Barbeau J, Crevier M-C, Pelletier J, Philip N, Saoudi B. Plasma sterilization. Methods and mechanisms. Pure and Applied Chemistry 2002; 74 (3): 349-58.
- 6- Ghomi H, Navab Safa N, Ramezani K. Short time surface decontamination by nanosecond DBD plasma. Bulletin of the American Physical Society 2010; 55.



شکل ۵- ناحیه زنده مانده از باکتری E.coli با غلظت 10^8 CFU/ml بعد از $0/5$ ثانیه مواجهه با پلاسمای سرد تولید شده با فرکانس 19 kHz و ولتاژ 10 kV با ظرفیت‌های خازنی متفاوت

بحث و نتیجه گیری

استفاده از پلاسمای سرد برای میکروب زدایی سطوح روش غیر گرمایی و بدون عوارض جانبی است که می‌تواند جایگزین روشهای سنتی شود. این موضوع چند سالی است که بصورت خاص مورد توجه قرار گرفته و تحقیق و پژوهش جهت تکامل و بالغ شدن این تکنولوژی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. عوامل متعددی در نحوه و میزان اثرگذاری پلاسمای سرد تاثیر دارند. در این مقاله اثر دو عامل مهم و تاثیر گذار در میزان عملکرد DBD یعنی مدت زمان اکسپوزر و ظرفیت بانک خازنی مولد بررسی شدند. مشاهده شد

Bacterial sterilization using Dielectric barrier discharge plasma in atmospheric pressure

*Valiollah Saba¹, Kherad Ramzani², Hamed Hashemi³

Received: 24 Apr 2013

Accepted: 24 Aug 2013

Abstract

Background: Surface decontamination is an important issue in different areas like medicine and food industry. Traditional methods of sterilization have disadvantages as thermal effect and producing toxic chemical residues. Surface sterilization by cold plasma has been noticed recently. In this study the effect of exposure time and capacitance of storage capacitors on cold plasma was assessed.

Materials and Methods: In this experimental study an applicable and outstanding device for surface sterilization is presented. The dielectric barrier discharge (DBD) is a low temperature plasma source that is created between two conductive electrodes connected to an AC power supply and at least one of DBD electrodes is covered by dielectric layer.

Results: The results of DBD plasma treatment of *E. coli* show that complete sterilization is occurred only after 2 seconds of exposure time without any thermal effect and increasing the exposure time increases the inactivation effect of the cold plasma. On the other hand by increasing the capacitance of capacitors the sterilization effect is increased obviously. DBD plasma is generated at 10kV voltage and 20 kHz frequency.

Conclusion: This fast non-thermal and non-destructive method could be useful for inactivation of bacteria and hospital infection agents.

Keywords: Dielectric barrier discharge, Sterilization, *Escherichia coli*

-
1. (*Corresponding Author) Assistant Professor, Radiology group, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Tel: + 98 21 85952438 E-mail: vsaba@aut.ac.ir
 2. Researcher, Radiology group, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran
 3. Researcher, Radiology group, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran