

УДК 533.9.03, 533.9.082.5, 543.422; 537.523/527

*В. И. АРХИПЕНКО¹, А. А. КИРИЛЛОВ¹, А. В. ПАВЛОВА¹, Л. В. СИМОНЧИК¹,
Н. В. ДУДЧИК², М. М. КУРАЙЦА³, Б. М. ОБРАДОВИЧ³*

БАКТЕРИЦИДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ В ВОЗДУШНОЙ ПЛАЗМЕННОЙ СТРУЕ ПРИ ПОСТОЯННОМ И ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКОМ ТОКОВЫХ РЕЖИМАХ

¹*Институт физики им. Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: a.kirillov@dragon.bas-net.by*

²*Республиканский научно-практический центр гигиены, Минск, Беларусь,
e-mail: n_dudchik@tut.by*

³*Белградский университет, физический факультет, Белград, Сербия,
e-mail: kuki@ff.bg.ac.rs*

Получены воздушные плазменные струи атмосферного давления на постоянном, импульсно-периодическом и автоколебательном токовых режимах. Показано, что основным механизмом инактивации бактерий *Staphylococcus aureus* является воздействие химически активных молекул NO, NO₂ и HNO₂. Методом ИК-абсорбционной спектроскопии определены их концентрации. Выявлен оптимальный режим разряда, индуцирующий плазменные струи, наиболее подходящий для получения бактерицидных компонентов.

Ключевые слова: плазменная струя, тлеющий разряд, ИК-абсорбционная спектроскопия, инактивация микроорганизмов, импульсно-периодический режим.

*V. I. ARKHIPENKO¹, A. A. KIRILLOV¹, A. V. PAULAVA¹, L. V. SIMONCHIK¹, N. V. DUDCHIK²,
M. M. KURAIČA³, B. M. OBRADOVIĆ³*

BACTERICIDAL COMPONENTS IN AN AIR PLASMA JET WITHIN DC AND RIPPLE CURRENT REGIMES

¹*B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: a.kirillov@dragon.bas-net.by*

²*Republican unitary enterprise Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Belarus,
e-mail: n_dudchik@tut.by*

³*University of Belgrade, Faculty of Physics, Belgrade, Serbia,
e-mail: kuki@ff.bg.ac.rs*

Atmospheric pressure air plasma jets within dc, pulsed and self-oscillatory current regimes are realized. It is shown that the main mechanism of inactivation of bacteria *Staphylococcus aureus* is the effect of chemically active molecules of NO, NO₂ and HNO₂. The method of IR absorption spectroscopy is used to investigate chemical active component concentrations. The optimal regime of discharge inducing plasma jets, which is more suitable for production of bactericidal components, is found.

Keywords: plasma jet, glow discharge, IR absorption spectroscopy, inactivation of microorganisms, ripple regime.

Введение. Неравновесная плазма является уникальным инструментом, позволяющим осуществлять химические процессы в объеме или на поверхности без существенного нагрева обрабатываемых объектов. Одним из весьма многообещающих применений является плазменная медицина, включающая в себя биодеконтаминацию, модификацию поверхностей, а также ряд терапевтических плазменных приложений (обеззараживание хронических ран, стимуляция регенерации тканей, лечение ряда кожных заболеваний, селективное разрушение раковых клеток и др.) [1, 2], что требует создания источников холодной плазмы при атмосферном давлении.

К настоящему времени разработаны различные источники неравновесной плазмы атмосферного давления, перспективные для биомедицинских приложений [3–5], среди которых особое место занимают плазменные струи, позволяющие проводить обработку объектов различных форм

и размеров вне замкнутого разрядного объема. Плазменные источники струй отличаются типом газового разряда, конфигурацией электродов и составом рабочего газа. Большинство плазменных струй атмосферного давления в различных конфигурациях поддерживаются переменным либо импульсно-периодическим напряжением с частотами от килогерц до гигагерц в инертных газах, что сопряжено в первую очередь с трудностью генерации разряда в молекулярном газе, либо используется инертный рабочий газ с малыми добавками активных молекулярных газов [6, 7]. Для их питания требуются высоковольтные источники, что накладывает определенные требования по их безопасной эксплуатации. Существующие низкотемпературные плазменные струи молекулярных газов основаны на самопульсирующем искровом разряде либо на микроразряде с полым катодом [8, 9] и имеют существенным недостатком большое содержание в плазменной струе материала электродов, что ограничивает их использование в медицине.

В работе [10] представлены результаты воздействия He/O_2 , Ar/O_2 , воздушной и азотной плазменных струй на основе тлеющего разряда атмосферного давления (ТРАД) на постоянном токе на бактерии *Staphylococcus aureus* и определены концентрации основных бактерицидных компонент. Показано, что наибольшим инактивационным эффектом обладает воздушная струя, вследствие наличия в ней оксида азота, диоксида азота и азотистой кислоты. Используемые в [10] для генерации плазмы тлеющие разряды атмосферного давления [11, 12] обладают рядом преимуществ: возможностью использования как инертных, так и молекулярных рабочих газов; простотой устройства; малой эрозией электродов. В данной работе получены и сопоставлены плазменные струи как на постоянном, так и импульсно-периодическом токовом режиме генерации плазмы в воздухе, и в них определены концентрации бактерицидных компонент.

Экспериментальная установка. Схема электрической цепи генерации плазменной струи и диагностической системы приведена на рис. 1. Разрядное устройство представляет собой цилиндрическую кварцевую разрядную камеру со внутренним диаметром 8 мм, внутри которой соосно расположены закругленный катод (стержень диаметром 6 мм) и плоский анод толщиной 4 мм из нержавеющей стали. Межэлектродный промежуток составляет 0,7 мм. Расход рабочего газа устанавливается равным 5 л/мин. Генерируемая в ТРАД плазма выносится вместе с потоком газа через центральное отверстие в аноде диаметром 1,5 мм в окружающий воздух на расстояние до нескольких сантиметров (видимое свечение плазмы), при этом диаметр струи составляет 2–3 мм.

Газовый разряд генерируется двумя источниками питания U_1 и U_2 , развязка которых осуществляется при помощи диодов D_1 и D_2 . Один из источников U_1 является источником постоянного тока с выходным напряжением до 3 кВ. Данное значение напряжения больше пробойного

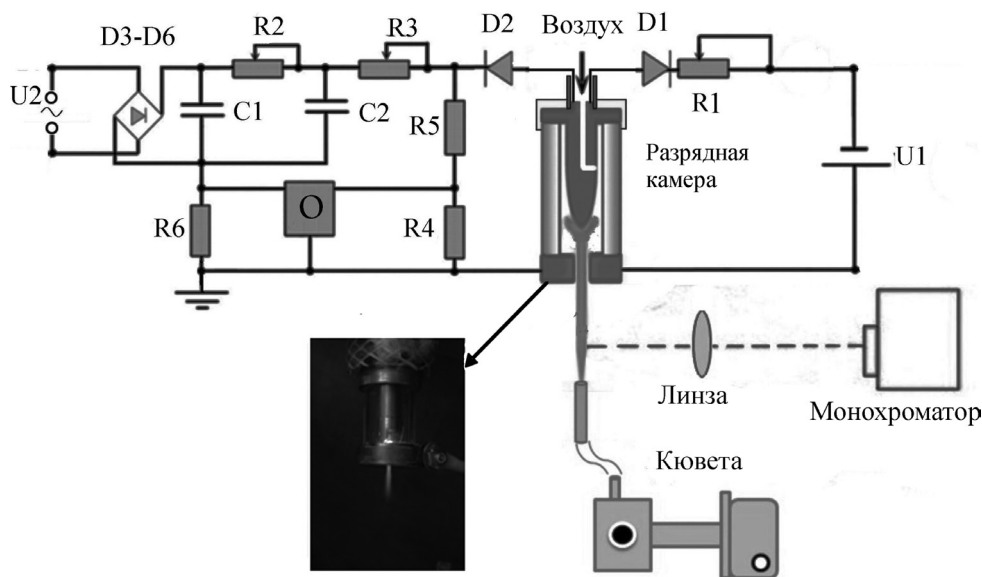


Рис. 1. Схема генерации и регистрации воздушной плазменной струи

напряжения, необходимого для пробоя воздуха при атмосферном давлении в промежутке в 0,7 мм. Задачей этого источника питания является поджигание и продолжительное поддержание микро-разряда в воздушном потоке. Балластное сопротивление R1 выбирается таким образом, чтобы ток разряда находился в области 5–30 мА. Для реализации импульсно-периодического режима используется высоковольтный источник переменного тока U2 с напряжением 1,5–4 кВ с частотой сети или на частоте 400 Гц, который позволяет повышать ток разряда до нескольких сотен миллиампер и менять форму импульса тока (постоянный, пульсирующий, самопульсирующий и т. д.).

Для реализации автоколебательного режима используется RC-контур с переменными емкостями C1 и C2 и сопротивление R2 и R3. Резисторы R4 и R5 используются в качестве делителя напряжения с соотношением 100:1. Резистор R6 применяется для регистрации формы тока разряда. Для регистрации соответствующих форм напряжения и тока используется осциллограф С8-40 (Белвар).

Регистрация оптических спектров излучения плазменных струй осуществлялась с применением сканирующего 0,5-метрового монохроматора высокого разрешения МДД-500×2. В качестве преобразователя интенсивности светового излучения в электрический сигнал использовался фотоэлектронный умножитель ФЭУ-171. Концентрация бактерицидных компонент плазменных струй определялась методом абсорбционной ИК-спектроскопии. Спектры поглощения регистрировались с помощью ИК Фурье-спектрометра Nexus (Thermo-Nicolet) с газовой кюветой 186-0305 (Perkin-Elmer). Регистрация спектров производилась с помощью DTGS-детектора в спектральном диапазоне 600–4000 см⁻¹ с разрешением 2 см⁻¹ после 128 сканов. Оптический путь газовой кюветы составлял 135 см. Забор газа в кювету проводился с помощью трубки диаметром 3,5 мм, которая помещалась на ось струи параллельно газовому потоку. Вычисление спектров поглощения осуществлялось с использованием базы спектральных данных HITRAN [13].

Плазменная обработка микроорганизмов. Бактерицидная эффективность разработанных плазменных струй была исследована на грам-положительных *Staphylococcus aureus*. *Staphylococci* – чрезвычайно широко распространенные представители микрофлоры кожи и слизистых оболочек человека. Они являются причиной многих заболеваний, в том числе поверхностных и глубоких абсцессов, отравлений, инфекций мочевыводящих путей. Наиболее важным патогенным микроорганизмом является *Staphylococcus aureus*, обладающий высокой вирулентностью и способностью приобретать устойчивость к антибиотикам. Используемый в работе штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 имеет типичные биохимические характеристики вида, обладает высокой устойчивостью к высушиванию и воздействию других факторов окружающей среды. Посеянные поверхностным способом на недифференцированные плотные питательные среды колонии характеризуются типичной желтоватой окраской, что в условиях модельного эксперимента позволяет выявить количество жизнеспособных клеток целевого микроорганизма.

На поверхность агара, содержащую недифференцированную плотную питательную среду, помещались 100 мкл суспензии с исходной концентрацией *S. aureus* 10⁵–10⁶ КОЕ/мл и распределялись по ней с помощью шпателя. После приготовления образцов центральная зона каждого из четырех секторов 90 мм чашки Петри обрабатывалась плазменной струей ТРАД с различным временем экспозиции. Температура струи в точке воздействия на бактерии контролировалась с помощью термомпары, а расстояние между краем анода и поверхностью агара было выбрано 4 см для воздушной струи таким образом, чтобы температура не превышала 45 °С. Определение инактивационной способности плазмы производилось методом счета колоний. Для этого после плазменной обработки пластины агара культивировались в течение 18 ч при температуре 37 °С. Количество выросших макроколоний давало число выживших микроорганизмов на образце.

Результаты обработки *S. aureus* воздушной плазменной струей на постоянном токе 30 мА представлены на рис. 2. Следует отметить, что, несмотря на малый диаметр струи, инактивация происходит по всей площади секторов. При времени экспозиции 2 мин видимая область инактивации располагается в центре обрабатываемого сектора чашки Петри. При 5-минутной экспозиции выживали всего несколько бактерий на периферии сектора, а при 10-минутной плазменной обработке почти во всем секторе происходила полная деконтаминация бактерий.

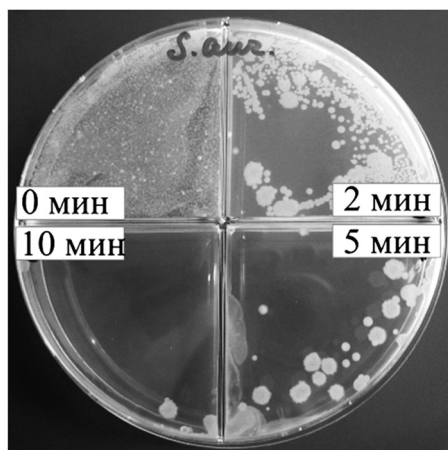


Рис. 2. Результаты инактивации *S. aureus* воздушной плазменной струей

В процессах инактивации микроорганизмов с помощью плазмы важную роль могут играть электрическое поле, заряженные частицы, тепловое воздействие, ультрафиолетовое излучение и нейтральные кислород- и азотсодержащие химически активные частицы (NO , NO_2 , OH и др.) [1]. В нашем случае заведомо отсутствует влияние полей и заряженных частиц. Ограничение на температуру струи в точке воздействия на бактерии 45°C позволяет исключить тепловой механизм. Для выяснения значимости УФ-излучения были проведены эксперименты, в которых между чашками Петри и анодом помещались плоскопараллельные пластины из LiF , CaF_2 и кварцевого стекла. Пластины пропускали УФ-излучение ТРАД в бактерицидном диапазоне 200–315 нм, исходящее из отверстия в аноде и от плазменных струй, но ограждали микроорганизмы от газовых потоков. Одинаковое число выросших колоний микроорганизмов в чашках Петри, не подвергшихся обработке, и в чашках Петри, защищенных пластинами, позволяет сделать вывод о незначительной роли УФ-излучения при инактивации микроорганизмов воздушной плазменной струей. Таким образом, основной вклад в инактивационную способность воздушной плазменной струи, по-видимому, вносят нейтральные химически активные частицы, определение концентрации которых в струе дает возможность прогнозировать ее инактивационный эффект.

Воздушные плазменные струи. Концентрации бактерицидных компонент воздушной плазменной струи на постоянном токе 30 мА на расстоянии 4 см от анода, где располагается чашка Петри, составляют 40, 20 и 10 ppm для, соответственно, оксида азота, диоксида азота и азотистой кислоты [10]. Используемые для биомедицинских приложений плазменные струи должны иметь низкую температуру, которая при фиксированной скорости прокачки рабочего газа определяется мощностью электрического разряда. В рассмотренном выше инактивационном процессе мощность равна 22 Вт. При ее увеличении до 36 Вт в струях наблюдается приблизительно линейный рост концентраций бактерицидных компонент с одновременным повышением температуры. Поэтому в случае снижения температуры в плазменных струях на постоянном токе при удалении от анода, что обусловлено подмешиванием холодного окружающего воздуха, отличие концентраций при заданной температуре для различных мощностей разряда будет незначительным.

В работах [14, 15] отмечается, что переход от режима на постоянном токе к пульсирующему токовому режиму позволяет создать более благоприятные условия для генерации химически активных частиц вследствие повышения эффективности ионизации и уменьшения температуры из-за отсутствия нагревания газа между импульсами. Рассмотрим плазменные струи для различных импульсно-периодических разрядов.

Пульсирующий режим генерации плазменной струи был реализован при подаче переменного напряжения U2 частотой 400 Гц на диодный мост D3–D6 (рис. 3, а). В начале каждого полупериода происходит зажигание тлеющего разряда, при этом напряжение на электродах падает до напряжения, соответствующего силе тока тлеющего разряда при данном значении межэлектродного промежутка. Ток разряда возрастает до величины, определяемой напряжением источника

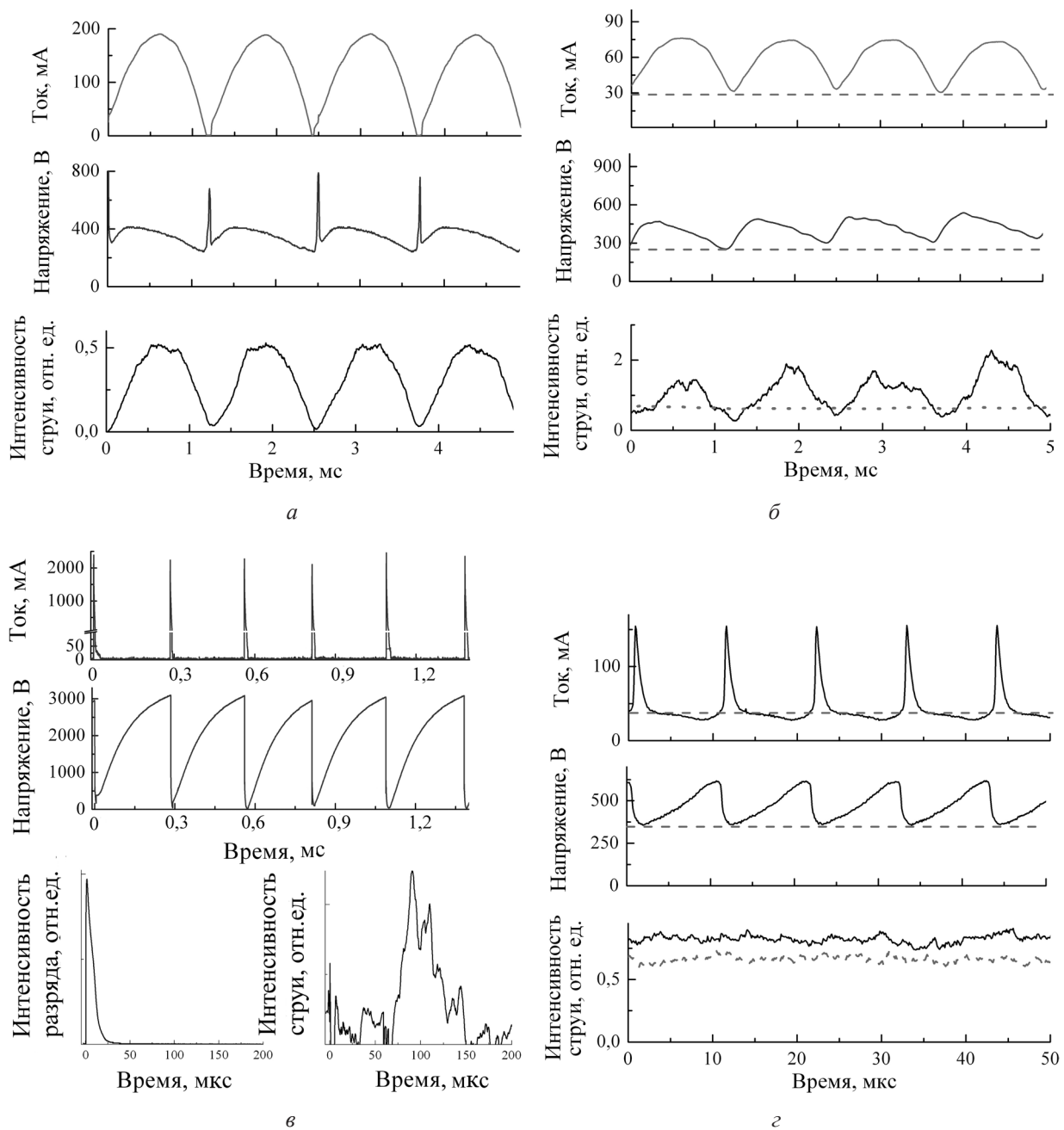


Рис. 3. Формы сигнала разрядного тока, напряжения на электродах и свечения плазменной струи: *а* – импульсно-периодический разряд; *б* – импульсно-периодический разряд совместно с разрядом на постоянном токе; *в* – автоколебательный разряд; *г* – автоколебательный разряд совместно с разрядом на постоянном токе

питания и балластным сопротивлением, т. е. фактически в каждой точке реализуется самостоятельный тлеющий разряд с характеристиками разряда на постоянном токе [11, 12]. Излучение плазменной струи, зарегистрированное вне разрядной камеры, в целом повторяет импульсы тока, однако имеет задержку порядка 100–200 мкс, которая определяется временем прохождения воздуха со скоростью 40–50 м/с между активной областью разряда и точкой наблюдения в струе. Средняя за период мощность, вкладываемая в разряд, равна 40 Вт.

Пробойные пики напряжения могут приводить к эрозии электродов. Для их устранения используем режим питания от двух источников – высоковольтного источника постоянного тока U_1 при силе тока 30 мА и пульсирующее напряжение с частотой 800 Гц (рис. 3, *б*). На осциллограммах видно, что в отличие от пульсирующего разряда пробойные пики напряжения в данном случае отсутствуют. Средняя за период мощность составляет 52 Вт.

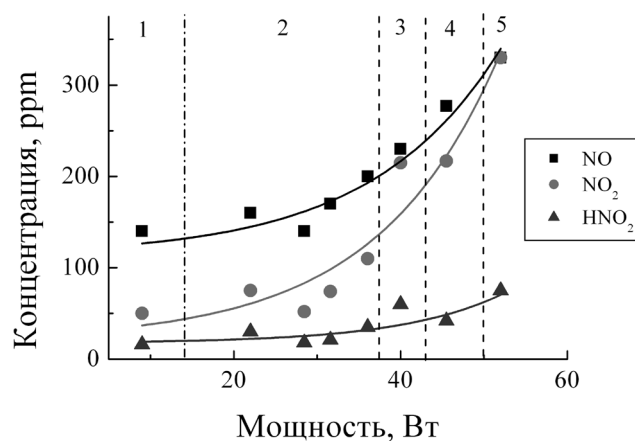


Рис. 4. Зависимость от электрической мощности концентраций бактерицидных компонент воздушных плазменных струй при различных режимах горения разряда: 1 – автоколебательном; 2 – на постоянном токе; 3 – импульсно-периодическом; 4 – автоколебательном, совместно с непрерывным режимом на постоянном токе; 5 – импульсно-периодическом совместно с непрерывным режимом на постоянном токе

Автоколебательный режим (рис. 3, в) реализуется с использованием RC-контура, индуцирующего релаксационные колебания с частотами до 100 кГц. В данном случае практически вся энергия вкладывается в короткие импульсы тока амплитудой в несколько ампер. Длительность импульсов тока составляет 5–10 мкс. Импульс свечения разряда совпадает с импульсом тока, а свечение струи появляется спустя примерно 100 мкс после разрядного импульса, так же как и в случае импульсно-периодического режима. Средняя за период мощность равна 9 Вт.

Автоколебательный режим, наложенный на постоянный ток 30 мА, приведен на рис. 3, г. В отличие от предыдущего, в данном режиме наблюдаются значительно меньшие импульсы тока на фоне тлеющего разряда. Средняя за период мощность составляет 45,5 Вт, 80 % которой приходится на тлеющий разряд на постоянном токе.

Мольные доли бактерицидных компонент плазменных струй на расстоянии 1 см от анода при различных режимах разряда представлены на рис. 4. Прослеживается тенденция роста концентраций бактерицидных компонент с увеличением вкладываемой мощности. Однако, с точки зрения создания холодных плазменных струй, следует оценивать рассмотренные режимы горения разряда, сопоставляя концентрации, отнесенные к единице вкладываемой мощности. Оптимальным по этому критерию является автоколебательный режим. Кроме того, при данном режиме наблюдается максимальное отношение концентраций NO к NO₂, что важно при использовании плазменных струй в медицине, в частности для NO-терапии. Подобный вывод был также сделан в работе [16], где сопоставлялись автоколебательный режим и режим на постоянном токе генерации плазменной струи.

Заключение. Получены холодные воздушные плазменные струи при генерации разряда на постоянном, пульсирующем и импульсно-периодическом токе. Показано, что основным механизмом инактивации бактерий *Staphylococcus aureus* плазменными струями являются нейтральные химически активные частицы NO, NO₂ и HNO₂, концентрации которых возрастают с увеличением электрической мощности. Наиболее эффективным по наработке бактерицидных компонент на единицу вкладываемой мощности является автоколебательный режим, при котором также наблюдается максимальное отношение концентраций NO к NO₂, важное для использования плазменных струй в медицине.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (гранты № Ф14СРБ-001 и № Ф15РМ-032).

Список использованной литературы

1. Fridman, A. Plasma Medicine / A. Fridman, G. Friedman. – New York: Wiley, 2013.
2. Plasma Medicine: Applications of Low-Temperature Gas Plasmas in Medicine and Biology / M. Laroussi [et. al.]. – Cambridge: Cambridge University Press, 2012.

3. Plasma medicine: an introductory review / M. G. Kong [et. al.] // *New J. Phys.* – 2009. – No. 11. – 115012, 35 p.
4. Plasma-Based Pollutant Degradation in Gas Streams: Status, Examples and Outlook / R. Brandenburg [et. al.] // *Contrib. Plasma Phys.* – 2014. – Vol. 54, no. 2. – P. 202–214.
5. Lu, X. On atmospheric-pressure non-equilibrium plasma jets and plasma bullets / X. Lu, M. Laroussi, V. Puech // *Plasma Sources Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 21. – 034005, 17 p.
6. Characterization of microwave plasma torch for decontamination / T. Shimizu [et al.] // *Plasma Process Polym.* – 2008. – Vol. 5. – P. 577–582.
7. Escherichia coli deactivation study controlling the atmospheric pressure plasma discharge conditions / Gweon Bomi [et al.] // *Curr. Appl. Phys.* – 2009. – Vol. 9. – P. 625–628.
8. Förster, S. Investigations of an atmospheric pressure plasma jet by optical emission spectroscopy / S. Förster, C. Mohr, W. Viöl // *Surf. Coat. Technol.* – 2005. – No. 200. – P. 827–830.
9. Inactivation of Bacteria in an Aqueous Environment by a Direct-Current, Cold-Atmospheric-Pressure Air Plasma Microjet / F. Liu [et. al.] // *Plasma Process. Polym.* – 2010. – Vol. 7. – P. 231–236.
10. Применение плазменной струи тлеющего разряда атмосферного давления на постоянном токе для инактивации *Staphylococcus aureus* / А. А. Кириллов [и др.] / *Приклад. физика.* – 2013. – № 5. – С. 52–55.
11. DC atmospheric pressure glow microdischarges in the current range from microamps up to amperes / V. I. Arkhipenko [et al.] // *Eur. Phys. J. D.* – 2010. – No. 60. – P. 455–463.
12. Plasma non-equilibrium of the DC normal glow discharges in atmospheric pressure atomic and molecular gases / V. I. Arkhipenko [et. al.] // *Eur. Phys. J. D.* – 2012. – No. 66. – P. 252, 11 p.
13. The HITRAN Database [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.cfa.harvard.edu/HITRAN/>. – Date of access: 03.02.2015.
14. Walsh, J. L. Portable nanosecond pulsed air plasma jet / J. L. Walsh, M. G. Kong // *Appl. Phys. Lett.* – 2011. – No. 99. – 081501.
15. Nanosecond repetitively pulsed discharges in air at atmospheric pressure – the glow regime / D. Z. Pai [et. al.] // *Plasma Sources Sci. Technol.* – 2009. – Vol. 18. – 045030.
16. Direct current plasma jet at atmospheric pressure operating in nitrogen and air / X. L. Deng. [et. al.] // *J. Appl. Phys.* – 2013. – No. 113. – 023305.

Поступила в редакцию 12.03.2015