

بررسی اثر مشخصه های پلاسمایی بر عملکرد باکتری زدایی جت پلاسمای سرد آرگون

پاشاییگی زاده^۱، عسل^۱؛ سیاهپوش^۱، وحید^۱؛ زرینی^۲، غلامرضا^۲^۱ دانشکده فیزیک، دانشگاه تبریز^۲ دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز*آدرس رایانامه نویسنده مسئول: v_siahpoush@tabrizu.ac.ir

کلید واژه: پلاسما، پلاسما جت، باکتری زدایی.

چکیده

در این مقاله اثر مشخصه های پلاسما بر عملکرد جت پلاسمای سرد اتمسفری آرگون در باکتری زدایی اسیتو باکتر بصورت تجربی مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور، با استفاده از روش های مبتنی بر کشت در محیط مایع و شمارش کلنی، تاثیر زمان پلاسمادهی، ولتاژ اعمالی پلاسما و شارش گاز آرگون بر میزان کاهش باکتری، تعیین شد. هدف از این مقاله، دستیابی به مشخصه های پلاسمایی مناسب برای غیر فعال سازی موثر این باکتری است.

Investigation of the effect of plasma characteristics on the performance of bacterial decontamination of cold argon plasma jet

Pashabeigi Zadeh, Asal¹; Siahpoush, Vahid¹; Zarrini, Gholamreza².¹ Faculty of physics, University of Tabriz² Faculty of Natural Science, University of Tabriz*corresponding e-mail: v_siahpoush@tabrizu.ac.ir

Abstract

In this paper, the effect of plasma characteristics on the performance of atmospheric argon plasma jet in Acinetobacter bacteria deactivation is experimentally investigated. For this purpose, the effects of the time of plasma treatment, plasma voltage and the argon gas flow on bacteria reduction were determined using culture-based methods in a liquid medium and colony count. The purpose of this paper is to achieve the proper plasma characteristics for the inactivation of this bacterium.

مقدمه

این گونه های واکنش پذیر در اثر واکنش با میکروارگانیسم ها با تخریب دیواره سلولی یا تخریب DNA و یا تغییر در متابولیسم سلول منجر به غیر فعال شدن میکرو ارگانیسم ها میگردد این پدیده منشا کاربرد های بسیاری در علوم پزشکی و صنایع غذایی شده است. به همین دلیل در سال های اخیر مطالعات زیادی جهت بررسی برهمکنش انواع پلاسما با بافت های زنده برای ریشه کن

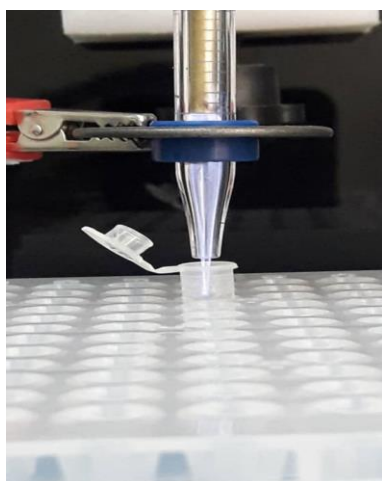
پلاسما به عنوان یک محیط فعال شیمیایی، حاوی الکترون ها، اتم ها و یون های برانگیخته و رادیکال های آزاد شناخته می شود. از این گونه های واکنش پذیر می توان به اکسیژن اتمی، ازن، رادیکال های فعال نیتروژن و اکسیژن (RONS) و گونه های نظیر هیدروکسیل ها و هیدروژن پراکسید اشاره کرد [1].

پارامترهای مهم آزمایشی مانند زمان پلاسما دهی، آهنگ شارش گاز و ولتاژ پلاسمای تولید شده می توان شرایط بهینه را جهت باکتری زدایی موثرتر این نوع جت پلاسما تعیین کرد.

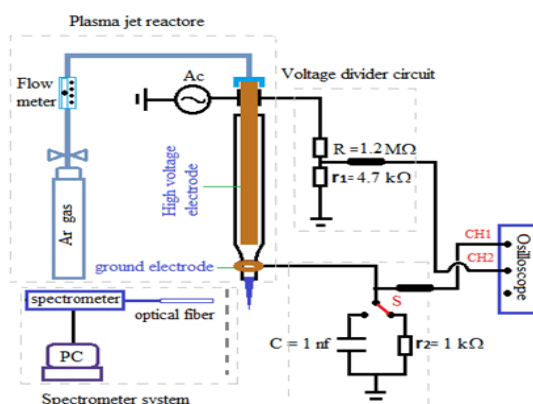
هدف این مقاله نیز بررسی تغییر مشخصه های پلاسمایی (زمان پلاسما دهی و ولتاژ اعمالی و شارش گاز آرگون) بر میزان عملکرد پلاسما در غیر فعال سازی اسپیتوباکتر است.

روش تجربی

شکل (1)، تصویری از پلاسما دهی نمونه توسط جت پلاسما را نشان می دهد و طرحواره ای از چیدمان آزمایش شامل راکتور پلاسما، مدار تقسیم ولتاژ، مدار تعیین جریان تخلیه و توان پلاسما و سیستم طیف سنجی نثری نیز در شکل (2)، نشان داده شده است [6].



شکل (1): تصویری از پلاسما دهی نمونه توسط جت پلاسما.



شکل (2): طرحواره ای از چیدمان آزمایش.

کردن عوامل بیماری زا، انعقاد خون، استرلیزاسیون انواع باکتری های مقاوم در برابر چند دارو و نابودی سلول های سرطانی انجام گرفته است.

پلاسما فشار اتمسفری، یکی از روش های تولید پلاسما غیر حرارتی می باشد. تاکنون انواع مختلفی از سیستم های پلاسما فشار اتمسفری توسعه داده شده که در این میان جت پلاسما به دلیل قابل حمل بودن، مصرف پایین انرژی، دمای پایین در محدوده دمای اتاق، توانایی شارش نقطه ای در پردازش سطوح مختلف از جمله مواد حساس به گرما به ویژه بافت های زیستی مورد توجه قرار گرفته است [2].

اولین تحقیقات باکتری زدایی توسط انواع متعددی از پلاسما و روی گونه های مختلف باکتری های مقاوم به چند دارو نظیر اشرشیا کلی، سودوموناس و استافیلوکوکوس از سال 1990 انجام گرفت که همه نتایج منتشر شده از این مقالات نشان دهنده توانایی بالای پلاسما در از بین بردن باکتری های مقاوم به چند دارو هستند. یک بررسی کلی از تاثیرات منابع پلاسمای فشار اتمسفری بر ضد عفونی میکروبی توسط Ehlbek و همکارانش منتشر شد [3]، همچنین Schlitz و همکارانش در محیط مایع تحت درمان به مدت 5 دقیقه به خاصیت غیرفعال سازی باکتری ها توسط کرونا DC پی بردند [4]. در حال حاضر نیز پژوهش های متنوعی در راستای بهبود طراحی سیستم ها و همچنین سرعت بخشیدن به روند درمان توسط محققان در حال انجام است.

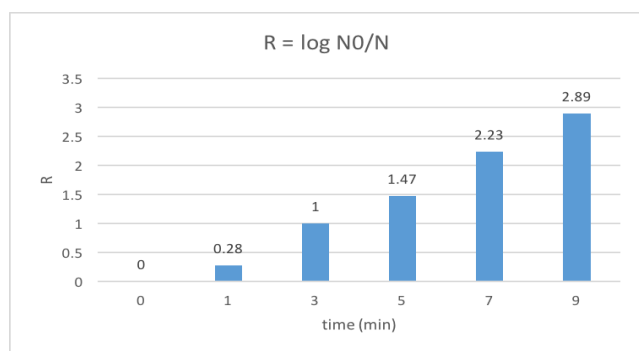
در این مقاله جت پلاسمای آرگون جهت غیر فعال کردن نوع خاصی از باکتری گرم منفی به نام اسپیتوباکتر، مقاوم به چند دارو مورد استفاده قرار گرفته است که امروزه برای بیماران بستری در بخش های مراقبت های ویژه تبدیل به مشکلی جدی شده و نیز در حال گسترش است [5].

از آنجایی که میزان عملکرد پلاسما در کاربرد های مختلف به پارامترهای متفاوتی بستگی دارد، با بررسی تاثیر تغییرات برخی

نتایج آزمایش

بررسی اثر زمان پلاسمادهی

با ثابت نگه داشتن فرکانس اعمالی ($f = 70 \text{ kHz}$)، فلوی گاز آرگون ($F = 1 \text{ SLM}$) و دامنه ولتاژ اعمالی بر پلاسما که برابر است با ($V = 5.6 \text{ kV}$) تاثیر زمان پلاسمادهی بر باکتری زدایی بررسی گردید.



شکل (3): میزان کاهش باکتری در اثر تغییر زمان پلاسمادهی.

با توجه به شکل (3) که بر اساس مقایسه ها و نتایج حاصل از شمارش واحد تشکیل دهنده کلنی بین نمونه شاهد و نمونه های پلاسمادهی شده در زمان های مختلف بدست آمده است، می توان متوجه رابطه بین زمان پلاسما دهی و کاهش باکتری ها شد، به طوریکه با افزایش زمان پلاسما دهی کاهش بیشتری از باکتری ها مشاهده می شود.

بررسی اثر ولتاژ اعمالی به پلاسما

با ثابت نگه داشتن سه کمیت فرکانس ($f = 70 \text{ kHz}$)، شار گاز آرگون ($F = 1 \text{ SLM}$) و زمان پلاسما دهی ($t = 4 \text{ min}$)، با تغییر دامنه ولتاژ اعمالی به پلاسما میزان تاثیرگذاری پایین پارامتر بر باکتری اسپیتو باکتر را در شکل (4) مشاهده می کنیم.

جهت آماده سازی باکتری ها ابتدا از باکتری اسپیتو باکتر در محیط کشت نوترینت براث به مدت 18 ساعت و در دمای 37°C در انکوباتور شیکردار، کشت تازه و خالص تهیه شد. پس از رشد مناسب، محیط کشت در 6000 rpm و به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شده، سپس کدورت محیط نوترینت براث را به $\text{OD}_{600\text{nm}} = 1$ رسانده شد، که متناظر با وجود $0.8 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$ اسپیتو باکتر است، لذا شمارش را بر این مبنا قرار داده و رسوب سلولی حاصل توسط بافر سرم فیزیولوژی (NaCl) (0.9%) به رقت 10^6 کاهش داده شد. در نهایت از سوسپانسیون به دست آمده، جهت انجام آزمایشات استفاده گردید.

جهت بررسی تاثیرات ضد عفونی کننده پلاسما، $200 \mu\text{l}$ از سوسپانسیون تهیه شده در تیوب های 0.2 ml ریخته شد و در فاصله های مشابه و در شرایط مختلف نظیر توان، فرکانس و زمان های مختلف در معرض تیمار توسط پلاسما جت آرگون قرار گرفت. سپس $50 \mu\text{l}$ از نمونه های پلاسما تراپی شده، به لوله آزمایش حاوی 5 ml بافر سرم فیزیولوژی اضافه گردید. در زمان های تیمار بالا به دلیل جلوگیری از کاهش بیش از حد جمعیت میکروبی و همچنین جهت کاهش خطای شمارش، رقت سازی کمتری انجام گرفت و به جای تهیه سوسپانسیون، با رقت 10^{-2} ، از سوسپانسیون با رقت 10^{-1} استفاده شد.

پس از یکنواخت شدن نمونه در بافر، مقدار $100 \mu\text{l}$ از آن روی محیط کشت جامد نوترینت آگار به صورت سطحی، توسط میله ی شیشه ای کشت داده شد و نمونه ای بدون پلاسما دهی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

پلیت نمونه های پلاسما دهی شده به مدت 18 ساعت و در دمای 37°C انکوبه گردید و بعد از آماده شدن، تعداد کلنی پلیت ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

با توجه به مشخصه یابی الکتریکی تغییر شارش گاز، تغییری در توان مصرفی پلاسما ایجاد نکرد، اما با بررسی طیف نشری پلاسما، مشاهده شد که غلظت رادیکال های اکسیژن اتمی با افزایش فلوی گاز، افزایش می یابد.

نتیجه گیری

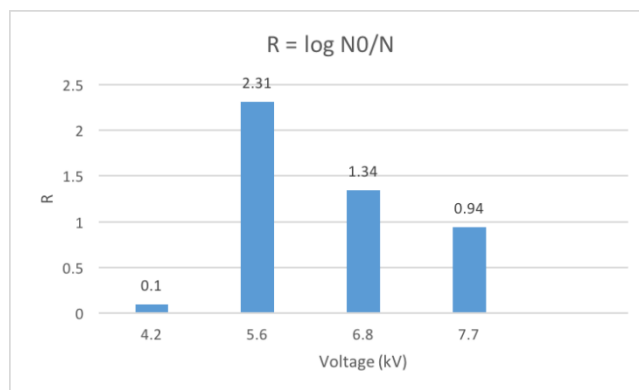
با توجه به نتایج، با افزایش زمان پلاسمادهی و همچنین میزان شارش گاز آرگون می توان کاهش بیشتری از باکتری ها و بهبود روند عملکرد جت پلاسما را مشاهده کرد، این در حالی است که پس از یک ولتاژ بهینه، دامنه ولتاژ اعمالی به پلاسما با میزان باکتری زدایی رابطه عکس دارد، با این حال هنوز درک روشنی از رفتار پلاسمای سرد بعنوان محیط باکتری زدا مشخص نیست و نیاز به بررسی های بیشتر و دقیق تری است.

مرجع ها

- [1] Chau, The Tu, Kwan Chi Kao, Gregory Blank, and Francisco Madrid. "Microwave plasmas for low-temperature dry sterilization." *Biomaterials* 17, no. 13 (1996): 1273-1277.
- [2] Boudam, M. K., M. Moisan, B. Saoudi, C. Popovici, N. Gherardi, and F. Massines. "Bacterial spore inactivation by atmospheric-pressure plasmas in the presence or absence of UV photons as obtained with the same gas mixture." *Journal of Physics D: Applied Physics* 39, no. 16 (2006): 3494
- [3] Ehlbeck, J., U. Schnabel, M. Polak, J. Winter, Th Von Woedtke, R. Brandenburg, T. Von dem Hagen, and K. D. Weltmann. "Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination." *Journal of Physics D: Applied Physics* 44, no. 1 (2010): 013002.
- [4] Scholtz, Vladimir, Jarmila Pazlarova, Hana Souskova, Josef Khun, and Jaroslav Julak. "Nonthermal plasma—a tool for decontamination and disinfection." *Biotechnology advances* 33, no. 6 (2015): 1108-1119
- [5] ZHU, Demei, Fu WANG, Fupin HU, Xiaofei JIANG, Yuxing NI, Jingyong SUN, Yingchun XU et al. "CHINET 2009 surveillance of bacterial resistance in China [J]." *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy* 5 (2011).
- [6] وحید، سیاهپوش؛ بابک، صادقی؛ زهرا، رضایی؛ «ساخت و مشخصه

یابی جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری»؛ ششمین کنفرانس مهندسی و

فیزیک پلاسما تیر ۱۳۹۷، دانشگاه قزوین، قزوین، ایران

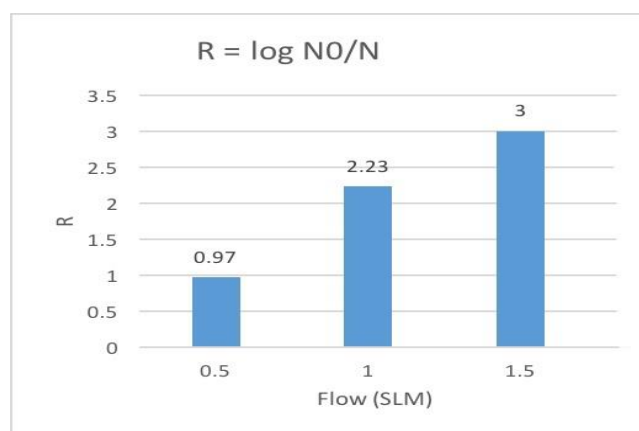


شکل (4): میزان کاهش باکتری در اثر تغییر ولتاژ پلاسمادهی.

با توجه به شکل (4)، می توان به وجود آستانه ولتاژی برای اثر بخشی پلاسما (ولتاژهای بالاتر از 4.2 kV) اشاره کرد به عبارتی ولتاژ بهینه ای برای باکتری زدایی وجود دارد، ولی با افزایش بیشتر ولتاژ عملکرد پلاسما در باکتری زدایی کمتر می شود، با این حال هنوز درک روشنی از این رفتار پلاسمای سرد بیان نشده است و بررسی بیشتری برای توضیح این رفتار پلاسما نیاز است.

بررسی اثر اهنگ شارش گاز

با ثابت نگه داشتن سه کمیت فرکانس ($f = 70 \text{ kHz}$)، دامنه ولتاژ اعمالی ($V = 5.6 \text{ kV}$)، زمان پلاسمادهی ($t = 4 \text{ min}$) و با تغییر شارش گاز آرگون در جت پلاسما میزان اثر بخشی پلاسما بر باکتری زدایی در شکل (5) نشان داده شده است.



شکل (5): میزان کاهش باکتری در اثر تغییر شار عبوری گاز آرگون.