

Воздействие плазменных струй слаботочного искрового разряда на микроорганизмы (на примере *Escherichia coli*)

© Б.Б. Балданов,¹ А.П. Семенов,¹ Ц.В. Ранжуров,¹ Э.О. Николаев,¹ С.В. Гомбоева²

¹ Институт физического материаловедения СО РАН,
670047 Улан-Удэ, Россия

² Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления,
670013 Улан-Удэ, Россия
e-mail: baibat@mail.ru

(Поступило в Редакцию 1 июля 2014 г.)

Показана высокая эффективность бактерицидного действия холодной аргоновой плазмы генерируемой плазменными струями слаботочного искрового разряда при атмосферном давлении. Установлено, что увеличение времени обработки плазменными струями слаботочной искры позволяет проводить эффективную инактивацию микроорганизмов на значительно большей площади.

В настоящее время все большую актуальность приобретают работы, направленные на исследование свойств газоразрядных процессов, определяющих возможности их применения для стерилизационной и обеззараживающей обработок в области защиты промышленных материалов, оборудования, электроники от биоповреждений и микробиологически индуцированной коррозии [1,2]. Обработка живых тканей в плазме оказывает желаемый терапевтический эффект при стерилизации и заживлении ран, остановке кровотечения, а также при лечении ряда кожных заболеваний [3,4]. Это направление приобретает особое значение в последние годы, что связано с возрастающей потребностью человечества в новых, не требующих высоких температур технологиях стерилизации и обеззараживания с высокой производительностью, простотой эксплуатации, эффективностью и надежностью.

Особое место среди плазменных методов занимают исследования разрядов, генерирующих низкотемпературную (холодную) неравновесную плазму при атмосферном давлении [5–11]. В качестве источников низкотемпературной неравновесной плазмы атмосферного давления рассматриваются различные типы газовых разрядов, среди которых можно отметить скользящий, коронный, барьерный и импульсные разряды атмосферного давления. Несмотря на широкий круг работ (см., например, [8,9]), посвященных исследованиям различных характеристик разрядов, и доказанную высокую эффективность использования разрядов в биомедицинских целях в лабораторном масштабе, обработка холодной плазмой при атмосферном давлении с целью уничтожения микроорганизмов не получила широкого применения. Это связано, во-первых, с тем, что источники холодной плазмы в настоящее время представляют собой технически сложное оборудование с низкой экономической эффективностью. Во-вторых, для обработки биологических объектов, живых тканей животных и человека используются разряды атмосферного давления при высоком напряжении (10–40 кВ), что требует обеспечения высокого уровня безопасности. Поэтому

выбор параметров разряда, при которых осуществляется безопасное и неразрушающее воздействие, одна из основных физических задач плазменной медицины.

Целью настоящей работы является изучение воздействия плазменных струй, генерируемых слаботочным искровым разрядом, на инактивацию микроорганизмов на примере *Escherichia coli*.

Для генерации низкотемпературной (холодной) аргоновой плазмы разработан источник неравновесной плазмы на основе плазменных струй слаботочного искрового разряда [10–12] при атмосферном давлении (рис. 1).

Катод — острие 1 с радиусом закругления $r = 30 \mu\text{m}$ размещен в диэлектрическом корпусе, имеющем форму трубы радиусом $R = 2 \text{ cm}$. Анод представляет собой металлический цилиндр длиной 1.5 см и диаметром 2 см. Для стабилизации разряда острие нагружалось регулируемым большим сопротивлением $R_b (> 1 \text{ M}\Omega)$. Корпус имеет входные отверстия для подачи аргона, расположенные таким образом, что холодная аргоновая плазма, производимая системой плазменных струй слаботочной искры, распространяется в направлении от пространства

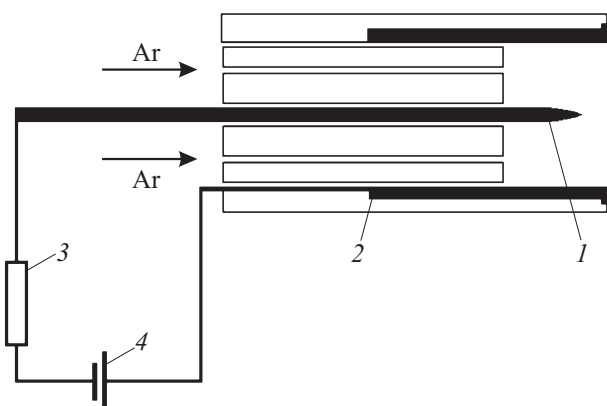


Рис. 1. Схема экспериментальной установки: 1 — острый катод, 2 — цилиндрический анод, 3 — балластное сопротивление, 4 — источник питания.

между электродами потоком аргона, подобно пламени. Расход аргона G измеряется с помощью ротаметра РМ-А-0.16 ГУЗ до 5×10^{-5} kg/s.

Бактерицидные свойства плазменных струй слаботочного искрового разряда исследовались по воздействию на вегетативную форму штаммов *Escherichia coli*. На рис. 2 представлена фотография генератора холодной аргоновой плазмы на основе плазменных струй слаботочного искрового разряда. Время обработки чашек плазменными струями слаботочного искрового разряда варьировалось от 5 до 60 с. Расстояние от источника плазмы до поверхности, на которой росли микроорганизмы, составляло от 0.5 до 3 см.

Для оценки чувствительности микроорганизмов к холодной аргоновой плазме, генерируемой плазменными струями слаботочного искрового разряда, использовали методику, основанную на измерении диаметров зон поражения засеянного газона. Для этого засеивали газон тест-микроорганизма: 100 μ l рабочей суспензии вносили на чашку Петри с агаризованной средой РПА и тщательно растирали шпателем. Чашки с засеянным газоном помещали в газоразрядную камеру под плазменные струи. Обработанные плазмой чашки инкубировали в термостате в течение суток при температуре 37°C, после чего измеряли диаметр образовавшихся зон поражения.

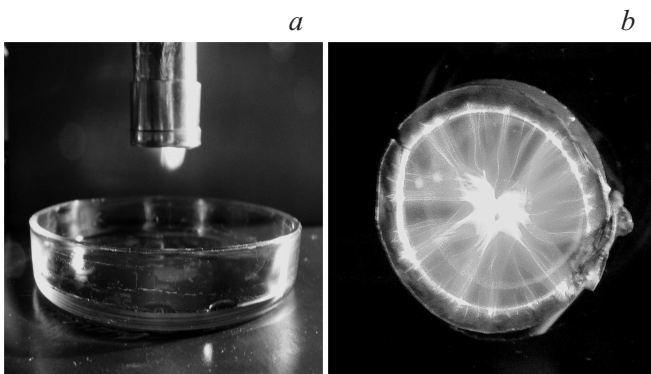


Рис. 2. Генератор холодной аргоновой плазмы на основе плазменных струй ТРАД: *a* — инаktivация микроорганизмов в чашке Петри; *b* — вид разряда с торца.

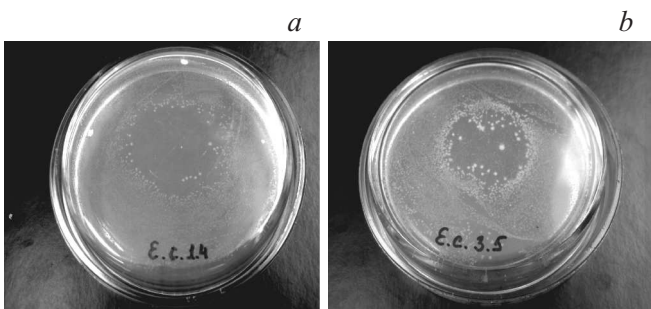


Рис. 3. Зоны инаktivации бактериального роста *E. coli* в зависимости от расстояния от сопла h генератора плазменных струй: *a* — $h = 0.5$ cm, $t = 30$ s; *b* — $h = 3$ cm, $t = 40$ s.

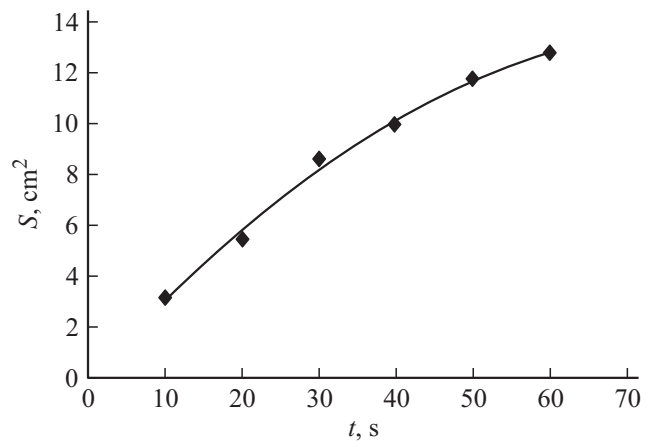


Рис. 4. Зависимость площади зоны инаktivации от времени воздействия. Расстояние от сопла генератора $h = 0.5$ cm.

Воздействие плазменных струй слаботочной искры на микроорганизмы регистрируется в виде круглых прозрачных областей, которые являются зонами инаktivации роста микроорганизмов (рис. 3).

Полученные данные показывают, что обработка чашек плазменными струями слаботочной искры в течение 30 с приводит к гибели практически всех микроорганизмов в радиусе 1.5 см (рис. 3, *a*). Минимальное время, необходимое для плазменной инаktivации клеток *E. coli* на поверхности чашек, составляет 5 с на расстоянии 0.5 см от сопла генератора, при увеличении расстояния от сопла генератора до 3 см число выживших макроколоний микроорганизмов значительно возрастает. Увеличение времени плазменной обработки чашек до 40 с на расстоянии 3 см от сопла позволяет значительно снизить (на 74%) число выживших микроорганизмов (рис. 3, *b*). Определение инаktivационной способности аргоновой плазмы, проведенное методом счета колоний, показывает, что после минутной обработки остаются лишь единичные выросшие макроколонии микроорганизмов.

Отметим, что зона инаktivации не ограничивается диаметром сопла генератора, в пределах которого формируются плазменные струи слаботочной искры. Как видно из рис. 4, увеличение времени обработки чашек плазменными струями слаботочной искры позволяет проводить эффективную инаktivацию на значительно большей площади. При этом диаметр зоны инаktivации значительно увеличивается при прямом контакте плазменных струй с поверхностью чашек, чем при удаленном воздействии.

Показана высокая эффективность бактерицидного действия холодной аргоновой плазмы, генерируемой плазменными струями слаботочного искрового разряда при атмосферном давлении. Установлено, что прямой контакт плазменных струй слаботочной искры с поверхностью чашек позволяет проводить эффективную инаktivацию микроорганизмов на значительно большей площади.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-44-04209 p_сибирь_a).

Список литературы

- [1] *Heinlin J., Isbary G., Stolz W.* et al. // J. European Academy of Dermatology and Venereology. 2011. Vol. 25. P. 1–11.
- [2] *Sohbatzadeh F., Hossienzadeh Colagar A., Mirzanejhad S.* et al. // Appl. Biochem. and Biotech. 2010. Vol. 160. P. 1978–1984.
- [3] *Fridman G., Vasilets V., Gutsol A.* et al. // Plasma Processes and Polymers. 2008. Vol. 5. P. 503–533.
- [4] *Kalghatgi S.U., Fridman G., Cooper M.* et al. // IEEE Transactions on plasma science. 2007. Vol. 35. P. 1559–1556.
- [5] *Weltmann K.D., Kindell E., Woedtke T.* et al. // Pure Appl. Chem. 2010. Vol. 82. N 6. P. 1223.
- [6] *Lu X., Laroussi M., Puech V.* // Plasma Sources Sci. Technol. 2012. Vol. 21. N 3. P. 034005.
- [7] *Arkhipenko V.I., Kirillov A.A., Safronau Ya.A.* et al. // Eur. Phys. J. D. 2010. Vol. 60. P. 455.
- [8] *Morent R., De Geyter N.* Biomedical Engineering—Frontiers and Challenges. Chapter 2. Inactivation of Bacteria by Non-Thermal Plasmas / InTech, 2011. P. 374.
- [9] *Machala Z., Hensel K., Akishev Yu.* Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security / NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. 2012. Vol. XVII. P. 479.
- [10] *Балданов Б.Б.* // Физика плазмы, 2009. Т. 81. Вып. 4. С. 135.
- [11] *Кириллов А.А., Павлова А.В., Сафронов Е.А.* и др. // Прикладная физика. 2013. № 5. С. 52–55.
- [12] *Семенов А.П., Балданов Б.Б., Ранжуров Ц.В.* и др. // Прикладная физика. 2014. № 3. С. 47–49.