

БАКТЕРИЦИДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ В ГЕЛИЕВОЙ И ВОЗДУШНОЙ ПЛАЗМЕННЫХ СТРУЯХ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКОГО БАРЬЕРНОГО РАЗРЯДА

А. В. Казак^{1*}, А. А. Кириллов¹, Л. В. Симончик¹, Е. Н. Вабищевич¹,
М. М. Кураица², Б. М. Обрадович², Г. Б. Сретенович²,
А. И. Жабровская³, О. А. Емельянова³, Н. В. Дудчик³

УДК 543.42:576.8.094

¹ Институт физики НАН Беларуси,

Минск, 220072, Беларусь; e-mail: a.pavlova@ifanbel.bas-net.by

² Белградский университет, Белград, Сербия

³ Республиканское унитарное предприятие “Научно-практический центр гигиены”, Минск, Беларусь

(Поступила 3 ноября 2020)

Методами эмиссионной и абсорбционной спектроскопии исследован компонентный состав плазменных струй, генерируемых диэлектрическим барьерным разрядом в гелии и воздухе при атмосферном давлении. Концентрация основного бактерицидного компонента воздушной плазменной струи (озона) определялась с помощью ИК- и УФ-абсорбционной спектроскопии, что повышает достоверность измерений. При изучении воздействия плазменных струй на бактерии *Staphylococcus aureus* установлено, что воздушная струя обладает лучшим инактивационным эффектом по сравнению с гелиевой.

Ключевые слова: эмиссионная и абсорбционная спектроскопия, диэлектрический барьерный разряд, плазменная струя, инаktivация микроорганизмов.

*A study of the component composition of plasma jets generated by a dielectric barrier discharge in helium and air at atmospheric pressure was carried out by the methods of emission and absorption spectroscopy. The concentration of the main bactericidal component of the air plasma jet (ozone) was determined using both IR and UV absorption spectroscopy that increases the reliability of measurements. When studying an effect of plasma jets on *Staphylococcus aureus* bacteria it was established that an air jet has a better inactivating effect compared to a helium one.*

Keywords: emission and absorption spectroscopy, dielectric barrier discharge, plasma jet, inactivation of microorganisms.

Введение. Одно из многообещающих применений неравновесной плазмы атмосферного давления — медицина, которая включает в себя биодеконтаминацию и модификацию поверхностей, а также ряд терапевтических приложений (обеззараживание хронических ран, стимуляцию регенерации тканей, лечение ряда кожных заболеваний, селективное разрушение раковых клеток и др.) [1, 2]. Основными факторами плазменного воздействия на биологические объекты являются заряженные частицы, возбужденные нейтральные частицы, нейтральные кислород- и азотсодержащие химически активные частицы и УФ-излучение [3]. Среди плазменных источников для биомедицинских приложений наиболее перспективны плазменные струи, позволяющие проводить обработку объектов различных форм и размеров вне замкнутого разрядного объема [4].

К настоящему времени выполнено огромное количество исследований как по определению бактерицидных компонентов плазменных струй, генерируемых газовыми разрядами разного типа [5],

BACTERICIDE COMPONENTS IN HELIUM AND AIR PLASMA JETS OF A DIELECTRIC BARRIER DISCHARGE

A. V. Kazak^{1*}, A. A. Kirillov¹, L. V. Simonchik¹, A. M. Vabishchevich¹, M. M. Kuraica²,
B. M. Obradovich², G. B. Sretenovich², A. I. Jabrouskaya³, O. A. Emeliyanova³, N. V. Dudchik³

(¹ B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220072, Belarus; e-mail: a.pavlova@ifanbel.bas-net.by; ² University of Belgrade, Belgrade, 11001, Serbia;

³ Republican Unitary Enterprise Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Belarus)

так и по выявлению механизмов воздействия на разнообразные микроорганизмы [6]. Однако недостаточно работ, в которых определение концентраций бактерицидных компонентов струй сочетается с исследованием эффективности инактивации бактерий, что представляет интерес для развития плазменной медицины, особенно на этапе создания медицинского плазменного оборудования, отличающегося малогабаритностью и простотой в использовании.

В настоящей работе приведены результаты исследований гелиевой и воздушной плазменных струй диэлектрического барьерного разряда (ДБР) и определения их основных бактерицидных компонентов. Эффективность воздействия плазменных струй исследуется на бактерии *Staphylococcus aureus*.

Экспериментальная установка. Схема разрядной камеры ДБР представлена на рис. 1. Подобная разрядная камера применялась в работах [7, 8]. Высоковольтный трубчатый электрод помещен в кварцевую трубку внутренним диаметром 2 мм и внешним 4 мм, которая выполняет роль барьерного диэлектрика. Второй электрод заземлен и находится вблизи торца трубки. Через кварцевую трубку продувается газ гелий (чистота 99.99%) с расходом 2 л/мин либо атмосферный воздух с расходом 5 л/мин. Для генерации разряда использован лабораторный импульсный высоковольтный источник питания с повышающим трансформатором, обеспечивающий выходное напряжение до 4.5 кВ. Генерируемая в ДБР плазма выносятся в окружающую среду потоком плазмообразующего газа, что приводит к образованию плазменной струи.

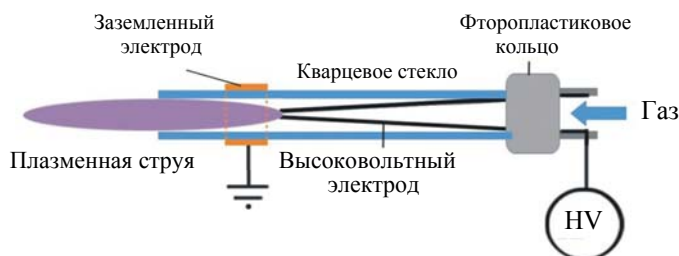


Рис. 1. Схема разрядной камеры плазменной струи ДБР

Оптическая диагностика плазменных струй. Для регистрации эмиссионных спектров использован спектрометр Ocean Optics USB4000 с разрешением 0.2 нм/пиксель в диапазоне 200—900 нм. Регистрация проводилась перпендикулярно оси плазменной струи непосредственно у среза кварцевой трубки. Как видно, в спектре гелиевой плазменной струи (рис. 2) помимо линий гелия 587 и 706 нм присутствуют интенсивные колебательно-вращательные полосы второй положительной системы азота $N_2(C-B)$ и первой отрицательной системы азота $N_2^+(B-X)$, а также линия кислорода O I 777 нм. Наличие компонентов в спектре, не относящихся к гелию, по-видимому, объясняется подмешиванием в струю окружающего воздуха. Воздушная плазменная струя имеет очень слабое свечение уже на срезе разрядной трубки, что не позволяет зарегистрировать ее эмиссионный спектр.

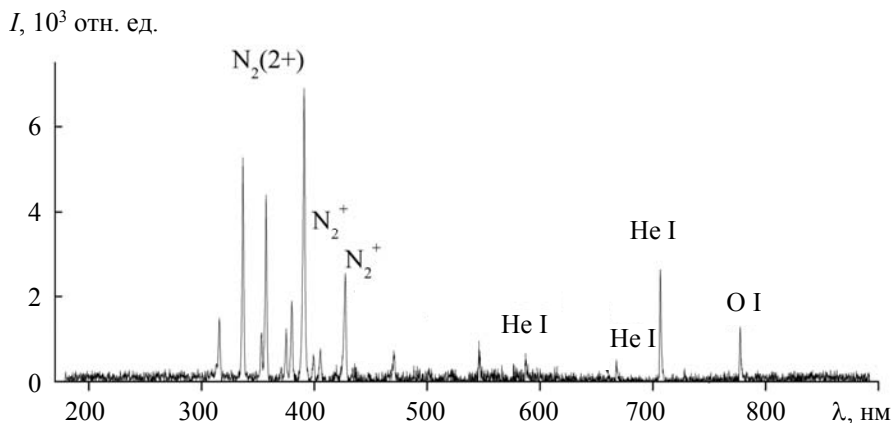


Рис. 2. Эмиссионный спектр гелиевой плазменной струи ДБР

Концентрация долгоживущих химически активных частиц в плазменных струях определена методами ИК- и УФ-абсорбционной спектроскопии. В случае ИК-спектроскопии использован ИК-Фурье-спектрометр Cary 600 Series FTIR Spectrometer (AgilentTech) с газовой кюветой Pike 163-4100230 и окнами из германия. Оптический путь газовой кюветы $L_{\text{IR}} = 10$ м. Регистрация спектров проведена с помощью DTGS-детектора в диапазоне $500\text{—}4000\text{ см}^{-1}$ с гауссовой аппаратной функцией с разрешением 1 см^{-1} после 128 сканов. Для УФ-абсорбционной спектроскопии использованы дейтериевая лампа NS-617831 (Shimadzu, Япония), кювета с кварцевыми окнами длиной $L_{\text{UV}} = 50$ см и спектрометр Ocean Optics Inc QE65000. Спектр поглощения зарегистрирован в диапазоне $200\text{—}370$ нм с разрешением 0.2 нм.

В обоих случаях забор газа проводился с помощью продолговатой диэлектрической трубки внутренним диаметром 4 мм, которая соединялась с газовым входом кюветы с помощью силиконовой трубки. Диэлектрическая трубка помещалась на ось струи на различных расстояниях от среза разрядной трубки. Таким образом часть потока струи, определяемая внутренним сечением трубки, попадала в кювету и затем выходила через выходное отверстие кюветы. Через 20 мин протока продуктов струи через кювету регистрируемый спектр поглощения перестает изменяться и можно предположить, что состав атмосферы в ней соответствует области струи, в которой находится торец собирающей трубки.

Мольные доли ИК-активных газовых компонентов определены сопоставлением экспериментальных спектров поглощения и вычисленных с использованием базы Hitran [9], содержащей данные, позволяющие рассчитывать коэффициент поглощения в изолированных линиях для различных изотопических модификаций молекул атмосферных газов. Коэффициент поглощения в колебательно-вращательных полосах при расчете методом line-by-line представляется в виде

$$k(\nu) = n \sum_i \alpha_i \sum_j S_{ij} F_{ij}(\nu_{ij} - \nu), \quad (1)$$

где n — концентрация молекул газа в кювете; α_i — мольная доля i -го газа; S_{ij} — интенсивность j -й линии i -го газа; ν_{ij} — волновое число центра линии; F_{ij} — фойгтовский контур спектральной линии. Применяя закон Бугера и выполняя свертку с аппаратной функцией, получаем предназначенную для сравнения с экспериментом функцию пропускания

$$T(\nu) = \int \exp[-k(\nu') L_{\text{IR}}] G(\nu - \nu') d\nu'. \quad (2)$$

Воздушная плазменная струя исследована при потоке воздуха через разрядную трубку ~ 5 л/мин. В спектрах поглощения воздушной струи наблюдаются колебательно-вращательные полосы воды, углекислого газа и озона. Определенные с использованием колебательно-вращательных полос H_2O (1600 см^{-1}) и CO_2 (2350 см^{-1}) мольные доли воды и диоксида углерода составляют ~ 4000 и 380 ppm, что попадает в диапазоны концентраций для стандартной атмосферы [10]. Полоса озона $\nu_2 = 700\text{ см}^{-1}$ перекрывается с полосой диоксида углерода $\nu_2 = 667\text{ см}^{-1}$. Интенсивность полос ν_1 и ν_2 составляет несколько процентов интенсивности полосы ν_3 . Для определения мольной доли озона наиболее важен диапазон $950\text{—}1150\text{ см}^{-1}$, содержащий две фундаментальные полосы $\nu_1 = 1110\text{ см}^{-1}$ и $\nu_3 = 1043\text{ см}^{-1}$. Рассчитанная мольная доля O_3 убывает с увеличением расстояния от сопла разрядной камеры до входной трубки кюветы, что связано с подмешиванием в струю окружающего атмосферного воздуха.

В случае гелиевой плазменной струи выбран режим с максимальным потоком 2 л/мин, поскольку при больших потоках разряд переходил в режим пробоя снаружи камеры. В ИК-спектрах гелиевой плазменной струи наблюдаются только колебательно-вращательные полосы H_2O и CO_2 , мольные доли которых возрастают с увеличением расстояния от разрядной камеры, приближаясь к параметрам окружающей атмосферы.

Регистрация УФ-спектров проведена в диапазоне $200\text{—}370$ нм. Поглощение в гелиевой плазменной струе в данном диапазоне отсутствует. В случае воздушной струи наблюдается поглощение озона в полосе Хартли ($200\text{—}300$ нм), в которой фотовозбуждение молекулы озона сопровождается диссоциацией $\text{O}_3 + h\nu \rightarrow \text{O}_2(^1\Delta) + \text{O}(^1D)$. Поскольку время жизни молекулы озона в возбужденном состоянии $\sim 10^{-13}$ с, она диссоциирует до столкновения. Квантовый выход диссоциации озона равен единице. Спектр пропускания рассчитывается как

$$T(\lambda) = \exp[-\sigma(\lambda)\alpha(\text{O}_3)nL_{\text{UV}}], \quad (3)$$

где $\alpha(\text{O}_3)$ — мольная доля озона; $\sigma(\lambda)$ — сечение поглощения в полосе Хартли [11—13].

Наблюдается хорошее соответствие между экспериментальными и теоретическими спектрами поглощения озона в ИК- и УФ-диапазонах (рис. 3, а и б). Определение мольной доли молекул O_3

в воздушной струе одновременно методами ИК- и УФ-абсорбционной спектроскопии значительно повышает достоверность измерений. Различие результатов измерений данными методами на небольших расстояниях от среза сопла не превышает нескольких процентов (рис. 3, в). С увеличением расстояния <2 см мольная концентрация озона, определяемая с помощью ИК-метода, ниже, чем УФ-спектроскопией, что, по-видимому, связано с трудностью достижения в многоходовой кювете концентрации O_3 , равной концентрации в струе, в силу низкой скорости газового потока и большого объема кюветы.

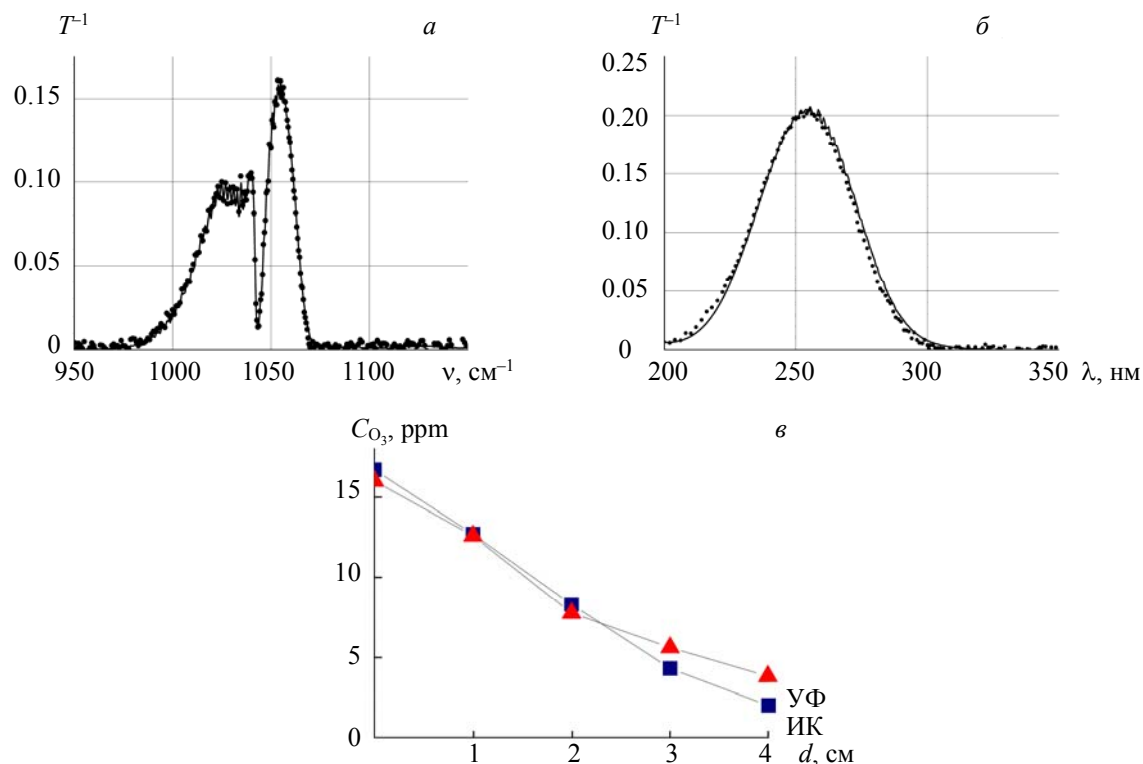


Рис. 3. Спектры поглощения озона в ИК- (а) и УФ-областях (б) вблизи среза разрядной камеры и аксиальное распределение мольной доли озона (в); эксперимент (точки) и расчет (линия)

Инактивация микроорганизмов плазменными струями. Инактивационная способность исследуемых плазменных струй оценена на тест-штаммах *Staphylococcus aureus* с начальной концентрацией 10^4 КОЕ/мл, равномерно осажденной на поверхности плотной питательной среды агар-агара в чашках Петри [14]. Чашки размещались на 1 см от среза сопла и обрабатывались плазменными струями при различных временах. Температура чашки Петри в зоне воздействия плазменной струи, определяемая с помощью тепловизора FLIR E4, не превышала 20 °С.

После плазменной обработки чашки культивировались в течение 18 ч при температуре 37 °С. Эффективность инактивации микроорганизмов плазменными струями оценивалась по образовавшимся на чашках Петри зонам ингибирования (рис. 4). В случае гелиевой плазменной струи области ингибирования образуются с первой минуты (рис. 4, а, темная область в центре чашки). С увеличением времени обработки диаметр зоны ингибирования изменяется незначительно, температура в области воздействия струи ~20 °С. Однако наблюдается деструкция поверхности питательной среды. В случае воздушной плазменной струи инактивация также происходит с первой минуты обработки, после 10 мин воздействия на поверхности чашки остаются считанные колонии (рис. 4, б, светлые точки), при этом температура в области воздействия на образец ~10 °С. Следует отметить, что деструкции поверхности питательной среды в этом случае не наблюдается.

Результаты и их обсуждение. В плазменных струях ДБР в качестве плазмообразующего газа, как правило, используются инертные газы либо инертные газы с малой добавкой молекулярного газа [15]. При большом количестве примеси молекулярного газа существенно увеличивается вкладываемая

мощность в разряд и усложняется его поджиг. Так, при перенасыщении гелия кислородом >5 % токоперенос в разряде обеспечивается не гелием как основным рабочим газом, а примесью. Особенностью рассматриваемого устройства является возможность генерировать барьерные разряды как в инертных, так и в молекулярных газах.

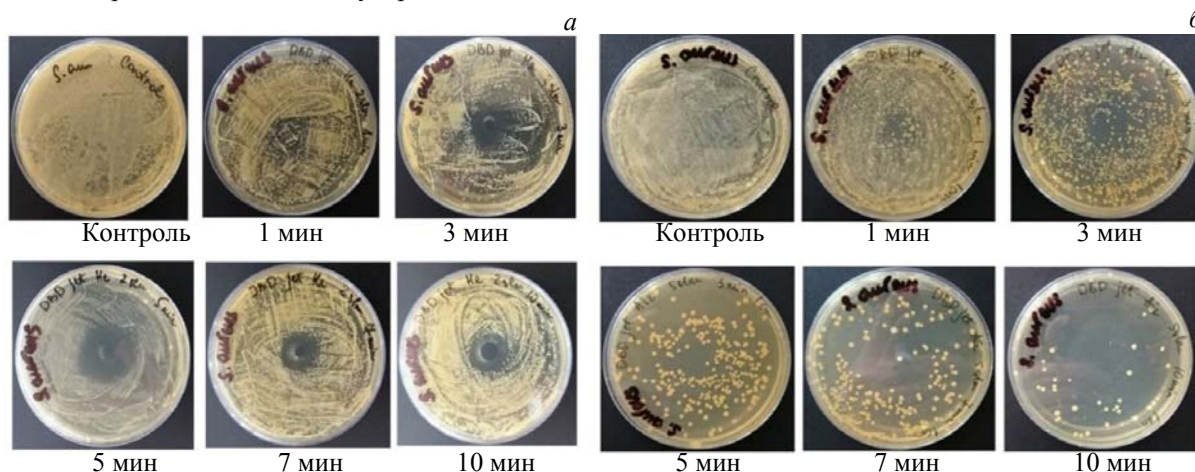
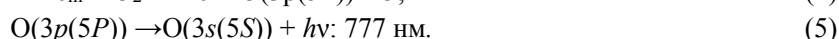


Рис. 4. Результаты инактивации *Staphylococcus aureus* гелиевой (а) и воздушной (б) плазменными струями после различных времен обработки

Основной механизм инактивации микроорганизмов плазменными струями ДБР — воздействие химически активных частиц [16, 17]. В случае гелиевой струи в эмиссионном спектре присутствуют полосы электронно-возбужденных молекул азота $N_2(C)$, $N_2^+(B)$, а также атомов гелия и кислорода (рис. 2). Поскольку азотные плазменные струи менее эффективны в инактивации бактерий *Staphylococcus aureus* [18] по сравнению с гелиевыми, роль молекул азота незначительна. Наиболее важным из указанного набора активных частиц является атомарный кислород [1, 19], образующийся в струе в результате взаимодействия метастабильных атомов гелия He_m с молекулами кислорода окружающего воздуха [20]



В случае воздушных плазменных струй их химический состав зависит от температуры газа в области разряда [21]. Так, плазменные струи, генерируемые тлеющим разрядом, который характеризуется повышенной температурой, содержат азотные бактерицидные компоненты NO , NO_2 и HNO_2 [22, 23]. При близкой к комнатной температуре в ДБР основной бактерицидный компонент воздушной плазменной струи — озон, основной канал образования которого следующий [24, 25]:



где M — третий партнер по столкновению, который может быть O_2 , N_2 и т. д. В нашем случае концентрация озона на оси плазменной струи убывает при удалении от среза трубки разрядной камеры и на расстоянии 1 см, где располагаются обрабатываемые микроорганизмы, составляет 12 ppm (рис. 3, в). В [26] представлены результаты инактивации высеванных на чашки с агаром микроорганизмов *Staphylococcus aureus* под действием озона, образующегося в коронном разряде. При обработке бактерий газовым потоком с концентрацией O_3 12 ppm популяция жизнеспособных микроорганизмов уменьшается на порядок в течение 1 мин. Эти данные находятся в соответствии с изменением числа колоний на чашках в наших экспериментах (рис. 4, б). Так, из 10^4 бактерий, содержащихся в чашке Петри в начальный момент времени, после 3 мин обработки воздушной плазменной струей выжившими остаются единицы, а после 5 мин центр чашки освобождается от жизнеспособных бактерий и в дальнейшем происходит очистка периферийной зоны чашки потоком струи с меньшей, чем в приосевой зоне, концентрацией озона.

Инактивация грамположительных бактерий, к которым относится *Staphylococcus aureus*, активными частицами кислорода O и O_3 обусловлена в основном внутриклеточным повреждением компонентов клетки, таких как ДНК, и в меньшей степени повреждением оболочки [17, 27]. Как видно из рис. 4, воздушная плазменная струя обеспечивает существенно более эффективную инактивацию по

сравнению с гелиевой. Кроме того, использование воздуха в качестве рабочего газа значительно упрощает и удешевляет использование установки.

Заключение. Создано компактное устройство, позволяющее генерировать плазменные струи диэлектрического барьерного разряда с использованием в качестве плазмообразующего газа как гелия, так и воздуха. Исследован компонентный состав струй методами эмиссионной и абсорбционной спектроскопии. Показано, что для гелиевой плазменной струи основным биоактивным компонентом является атомарный кислород O I, для воздушной плазменной струи — молекула озона O₃. Концентрации озона, определенные с помощью УФ- и ИК-абсорбционной спектроскопии, различаются незначительно на небольших расстояниях от среза разрядной камеры. С увеличением дистанции метод ИК-спектроскопии приводит к заниженным результатам вследствие трудности достижения в многоходовой кювете большого объема концентрации O₃, равной концентрации в струе, в силу низкой скорости газового потока. С использованием в качестве тестовых микроорганизмов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* показано, что воздушная плазменная струя диэлектрического барьерного разряда обладает лучшей инактивационной способностью по сравнению с гелиевой.

- [1] M. G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill, T. Nosenko, T. Shimizu, J. van Dijk, J. L. Zimmermann. *New J. Phys.*, **11** (2009) 115012
- [2] A. Fridman, G. Friedman. *Plasma Medicine*, Wiley, New Delhi (2013)
- [3] M. Laroussi. Cambridge: Cambridge University Press (2012)
- [4] K. D. Weltmann, R. Brandenburg, T. von Woedtke, J. Ehlbeck, R. Foest, M. Stieber, E. Kindel. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **41**, N 19 (2008) 194008
- [5] R. Ono. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **49** (2016) 34
- [6] I. Niedzwiedz, A. Wasko, J. Pawlat, M. Polak-Berecka. *Polish J. Microbiol.*, **68**, N 2 (2019) 153—164
- [7] G. B. Sretenovic, P. S. Iskrenovic, I. B. Krstic, V. V. Kovacevic, B. M. Obradovic, M. M. Kuraica. *Plasma Sour. Sci. Technol.*, **27** (2018) 07LT01
- [8] A. Sobota, O. Guaitella, G. B. Sretenovic, I. B. Krstic, V. V. Kovacevic, A. Obrusnik, Y. N. Nguyen, L. Zajickova, B. M. Obradovic, M. M. Kuraica. *Plasma Sour. Sci. Technol.*, **25** (2016) 065026
- [9] <http://www.cfa.harvard.edu/HITRAN/>
- [10] C. W. Allen. *Astrophysical Quantities*, The Athlone Press, London (1973)
- [11] L. T. Molina, M. J. Molina. *J. Geophys. Res.*, **91** (1986) 14501—14508
- [12] M. Petersen, J. Viallon, P. Moussay, R. Wielgosz. *J. Geophys. Res.*, **117** (2012) D05301
- [13] J. Viallon, S. Lee, P. Moussay, K. Tworek, M. Petersen, R. I. Wielgosz. *Atm. Meas. Techn.*, **8** (2015) 1245—1257
- [14] N. V. Dudchik, S. I. Sychik, V. V. Shevlyakov. *Theor. Appl. Ecol.*, **4** (2018) 5—12
- [15] J. Winter, R. Brandenburg, K.-D. Weltmann. *Plasma Sour. Sci. Technol.*, **24** (2015) 064001
- [16] A. F. Al-rawaf, F. K. Fulful, M. K. Khalaf, H. K. Oudah. *J. Theor. Appl. Phys.*, **12** (2018) 45—51
- [17] K. Lotfy, S. M. Khalil, H. Abd El-Raheem. *J. Theor. Appl. Phys.*, **14**, N 1 (2020) 37—45
- [18] H. Xu, C. Chen, D. Liu, W. Wang, W. Xia, Z. Liu, L. Guo, M. G. Kong. *Plasma Sci. Technol.*, **21** (2019) 11
- [19] X. P. Lu, T. Ye, Y. G. Cao, Z. Y. Sun, Q. Xiong, Z. Y. Tang, Z. L. Xiong, J. Hu, Z. H. Jiang, Y. Pan. *J. Appl. Phys.*, **104** (2008) 053309
- [20] G. Uchida, K. Takenaka, K. Kawabata, Y. Setsuhara. *IEEE Transact. Plasma Sci.*, **43**, N 3 (2015) 737—744
- [21] V. I. Arkhipenko, A. V. Kazak, A. A. Kirillov, L. V. Simonchik, V. V. Shkurko. *High Temperature Mater. Proc.*, **22**, N 4 (2018) 273—278
- [22] A. A. Kirillov, A. V. Paulava, Y. A. Safronau, L. V. Simonchik. *Appl. Phys.*, **5** (2013) 52—55
- [23] A. V. Kazak, A. A. Kirillov, L. V. Simonchik, O. E. Nezhvinskaya, N. V. Dudchik. *Plasma Med.*, **7**, N 2 (2017) 109—115
- [24] U. Kogelschatz. *Plasma Chem. Plasma Proc.*, **23** (2003) 1—46
- [25] M. A. Malik, K. H. Schoenbach, R. Heller. *Chem. Eng. J.*, **15** (2014) 222—229
- [26] I. Timoshkin, M. Maclean, M. Wilson, M. Given, S. MacGregor, T. Wang, J. Anderson. *IEEE Transact. Plasma Sci.*, **10** (2012) 2322—2333
- [27] L. Han, S. Patil, D. Boehm, V. Milosavljević, P. J. Cullen, P. Bourke. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2** (2016) 450—458