

Bactericide Effect of Atmospheric Plasma of Flat and Comb Electrodes on *Escherichia coli*

S. Mirzanejad, Ph.D.¹, F. Sohbatzadeh, Ph.D.¹, A. Hosseinzadeh Colagar, Ph.D.²,
N. Asadian, M.Sc.¹

1. Physics Department, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran

2. Biology Department, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran

: Corresponding Address: P.O.Box: 453, Biology Department, Faculty of Basic Science,
University of Mazandaran, Babolsar, Iran
Email: ahcolagar@umz.ac.ir

Abstract

Received: 16/Aug/2007, Accepted: 17/Nov/2007

Objective: The current study was undertaken to examine the bactericide effects of atmospheric plasma produced by flat and comb electrodes on *E.coli*.

Materials and Methods: DC (20 W) and AC (500 W) power supplies, flat and comb electrodes, insulator and oxygen gas were used to produce atmospheric plasma. Bactericide effects of the atmospheric plasma were studied on *E.coli* on sterilized plate placed on ice powder, at 3 McFarland concentration.

Results: Flow of the atmospheric plasma produced by flat electrodes and AC power supply reduced *E.coli* population by 100% during 15 minutes. But the flow of the atmospheric plasma produced by comb electrodes reduced *E.coli* population by 12% in 15 minutes and 51% in 30 minutes. In addition, the flow of atmospheric plasma produced with DC power supply with flat and comb electrodes reduced *E.coli* population about 50% and 17%, respectively in 30 minutes. Statistical analysis indicated significant differences ($p < 0.005$) between bactericide effects of atmospheric plasma from DC and AC power supply in 15 and 30 minutes.

Conclusion: Flat electrode structures in both down and high plasma atmospheric sterilize and control *E.coli* populations. We recommend further studies on examining the bactericide properties of atmospheric plasma on other bacteria, especially staphylococcus aureus and bacillus subtilis.

Keywords: Bactericide, Atmospheric Plasma, Electrode Structure, *Escherichia coli*

Yakhteh Medical Journal, Vol 9, No 4, Winter 2008, Pages: 248-253

اثر پلاسمای اتمسفری تولید شده با الکترودهای تخت و شانه‌ای بر حیات باکتری *Escherichia coli*

سعید میرزائزاد^۱، فرشاد صحبت‌زاده^۱، ابصالت حسین زاده کلاگر^۲، Ph.D.، ناهید اسدیان^۱، M.Sc.

۱. دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیک
۲. دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

آدرس مکاتبه: پابلسر، صندوق پستی: ۴۵۳، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی
پست الکترونیک: Email: ahcolagar@umz.ac.ir

چکیده

دریافت مقاله: ۸۶/۵/۲۵، پذیرش مقاله: ۸۶/۸/۲۶

* **هدف:** بررسی اثر شارش پلاسمای اتمسفری تولید شده با دو الکتروده تخت و شانه‌ای بر حیات باکتری *Escherichia coli*

* **مواد و روش‌ها:** گاز پلازما با استفاده از منبع‌های تغذیه (Direct Current: DC) (با توان ۲۰ وات) و (Alternative Current: AC) (با توان ۵۰۰ وات)، الکترودهای آلومینیومی در دو آرایش تخت و شانه‌ای، عایق‌ها و اکسیژن تولید شد. سپس اثرات کشندگی شارش گاز پلاسمای تولید شده در رقت ۳ مک فارلند باکتری *E. coli* در پلیت‌های استریلی که روی یخ قرار داشت، مورد بررسی قرار گرفت.

* **یافته‌ها:** شارش ۱۵ دقیقه‌ای پلاسمای تولید شده با الکتروده تخت و منبع AC سبب کاهش ۱۰۰ درصدی جمعیت باکتری‌های *E. coli* شد. اما اثر باکتری‌سایدی شارش پلاسمای الکتروده شانه‌ای بعد از ۱۵ دقیقه به ۱۲ درصد و ۳۰ دقیقه به ۵۱ درصد رسید. همچنین اثر باکتری‌سایدی شارش ۳۰ دقیقه‌ای پلاسمای کم‌توان تولید شده با منبع DC و الکترودهای تخت و شانه‌ای به ترتیب سبب کاهش ۵۰ و ۱۷ درصدی در رشد توده باکتریایی شد. نتایج آنالیز آماری با آزمون *t-test*، اختلاف معنی‌داری ($p < 0.005$) را بین اثر باکتری‌سایدی با شارش پلاسمای الکتروده شانه‌ای و تخت هنگامی که از منبع‌های DC و AC در دو زمان ۱۵ و ۳۰ دقیقه استفاده شد، نشان داد.

* **نتیجه‌گیری:** آرایش الکتروده تخت در هر دو توان پلاسمای پایین و بالا نقش موثری در استریل کردن و کنترل جمعیت *E. coli* دارد. استفاده از طیف جذبی به روش اسپکتروفتومتری می‌تواند یک روش مناسب و سریع برای تعیین جمعیت باکتری‌ها باشد. پیشنهاد می‌شود در مدیریت استفاده از خاصیت باکتری‌سایدی پلازما، بررسی پارامترهای تاثیرگذار در تولید پلاسمای اتمسفری از جمله توان منبع تغذیه، ساختار هندسی الکترودها و اثر باکتری‌سایدی آنها بر دیگر باکتری‌ها از جمله *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* نیز مورد توجه قرار گیرد.

کلید واژگان: باکتری‌ساید، پلاسمای اتمسفری، آرایش و ساختار الکتروده، باکتری *E. coli*

فصلنامه پزشکی یاخته، سال نهم، شماره ۴، زمستان ۸۶، صفحات: ۲۵۳-۲۴۸

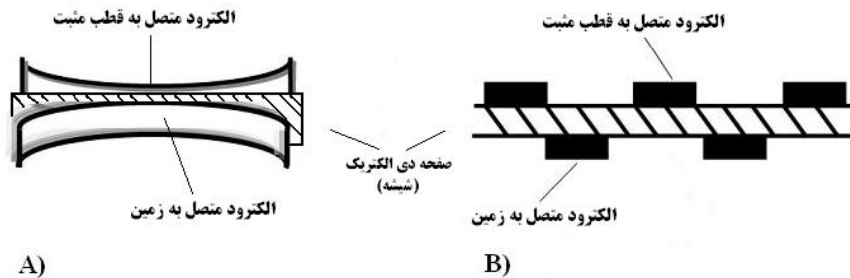
مقدمه

میکروبی‌زدایی به صورت مختلف فیزیکی و یا شیمیایی صورت می‌گیرد که از آن جمله می‌توان استفاده از کوره، اتوکلاو، گرمای خشک، اکسید ایتیلن و تابش گاما و غیره را نام برد. هر یک از این روش‌ها به واسطه داشتن برخی معایب مثل دما، رطوبت زیاد و تخریب و حتی به جا گذاشتن ضایعات سمی، محدودیت‌های خاصی دارند. به عنوان مثال استفاده از اکسید ایتیلن اگرچه در دما و رطوبت پایین انجام می‌شود، ولی به علت به جا گذاشتن ضایعات سمی نمی‌تواند روشی مناسب و عمومی باشد. همچنین ضد عفونی کردن با تابش گاما یا پرتو الکترونی علیرغم عملکرد سریع در میکروبی‌زدایی و سادگی کاربرد آن، به واسطه پرهزینه بودن، خطرات ایمنی و به جای گذاشتن ترکیبات سمی ناشی از تخریب، نمی‌تواند روش مناسبی باشد (۱، ۲). در سال‌های اخیر از پلازما برای تصفیه هوا، کشتن باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود و نتایج آن بسیار قابل توجه بوده است، به طوری که نظر محققان زیادی را به خود جلب نموده است (۲، ۳).

پلازما در حقیقت مجموعه‌ای از ذرات باردار است که توسط یک منبع انرژی مانند منبع تغذیه الکترونیکی در یک محیط تولید می‌شود. این محیط عموماً به صورت گاز یونیزه است. همچنین محیط پلازما،

منشا انرژی تابشی ستارگان و خورشید، صاعقه و رعد و برق، دستگاه جوش فلز، لامپ‌های گازی و مهتابی، لامپ فلاش دوربین عکاسی و بسیاری دیگر است. در آزمایشگاه، محیط پلازما با روش‌های مختلفی تولید می‌شود که کاربرد خاص آن، روش تولید را مشخص می‌کند. در روش‌های متداول تولید پلازما از جریان الکترونیکی (Direct Current: DC) و (Alternative Current: AC)، امواج رادیویی، امواج مایکروویو و امواج نوری لیزر استفاده می‌شود (۲). یکی از انواع پلازما، پلاسمای سرد یا پلاسمای غیرحرارتی (Non-thermal plasme) است که برای میکروبی‌زدایی استفاده می‌شود (۴).

در این گونه پلازماها درجه یونیزاسیون یا نسبت الکترون‌ها به ذرات خنثی از مرتبه ۱۰-۹ است در نتیجه دمای محیط پلازما توسط دو پارامتر جداگانه بیان می‌شود. این دو پارامتر بیانگر دمای الکترونی، دمای یون‌ها و ذرات خنثی هستند. دمای الکترونی تقریباً ۱۰۰ الی ۲۰۰ برابر دمای مولکول‌های خنثی است. اگرچه دمای الکترونی در حدود ۵۰۰۰۰-۲۰۰۰۰ درجه کلون است ولی دمای محیط پلازما همان دمای اتاق است و الکترون‌ها سهمی در افزایش دمای پلازما نخواهند داشت (۵).



شکل ۱: نمای الکترودهای تخت آلومینیومی (A) و سطح مقطع الکترود شانه‌ای (B) با دی‌الکترونیک شیشه

استفاده از هیدروکسید سدیم یک نرمال به ۷/۵ تنظیم شد و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسید. برای تهیه محیط کشت جامد مقدار ۱۵ گرم آگار به مخلوط فوق، قبل از اتوکلاو اضافه شد (۹).

تهیه، کشت و آماده‌سازی باکتری

مقدار یک لوپ باکتری (*Escherichia coli* (ATCC 5002) تهیه شده از آزمایشگاه سلولی و مولکولی دانشگاه مازندران) از روی محیط کشت جامد LB به ۲۰ میلی‌لیتر محیط مایع LB تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت حدود ۱۲ ساعت (Over/night) گرم‌خانه‌گذاری شد. بعد از این بازه زمانی، یک میلی‌لیتر از محیط رشد یافته در ۲۰ میلی‌لیتر محیط تازه دوباره تلقیح و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد تا باکتری‌ها به فاز لگاریتمی رشد وارد شوند (کدورت محیط حاوی باکتری با کدورت استاندارد شماره ۳ مک فارلند برابر شود). لازم به ذکر است فرآیند آماده‌سازی باکتری به طور مشابه برای همه آزمایش‌ها تکرار می‌شد.

شارش گاز پلاسمای اتمسفری بر روی باکتری *E. coli*

مخلوطی از محیط رشد یافته باکتری با محیط LB به نسبت ۱ به ۳ تهیه شد (تا کدورتی برابر کدورت ۳ مک فارلند به دست آید) و تحت شرایط استریل به داخل پلیت شیشه‌ای استریل منتقل شد. سپس به منظور مطالعه اثر پلاسمای تولید شده توسط هر دو ساختار الکترودی، جریان گاز اکسیژن برقرار شد و گاز پلاسمای اتمسفری به سمت پلیت حاوی نمونه (که به طور جداگانه در داخل محفظه استریل، روی یخ قرار گرفت) مطابق شکل ۲A سوق داده شد. پس از گذشت زمان مورد نظر، یک میلی‌لیتر از این محیط که در تماس با پلاسمای ۲۰ میلی‌لیتر محیط مایع LB تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت انکوبه شد. پلیت شاهد (یا در اصطلاح زمان صفر) در این آزمایش نمونه‌ای است که فقط تحت تماس با اکسیژن در زیر هود بیولوژیک قرار گرفته است.

برای اندازه‌گیری میزان باکتری‌های تخریب شده با استفاده از کدورت سنجی به روش اسکن اسپکتروسکوپی در طول موج‌های متفاوت استفاده شد. برای این منظور با طیف سنج UV، طیف جذبی نمونه تحت تابش اتمسفری قرار گرفته (محیط کشت حاوی باکتری که ۱۵ و ۳۰ دقیقه تحت تابش قرار گرفتند) و محیط کشت واجد باکتری (زمان صفر) و محیط کشت بدون باکتری (Blank) که تحت تابش قرار نگرفته است بلافاصله در پودر یخ قرار گرفتند و جذب آنها در طول موج ۱۹۰ نانومتر تا ۸۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. باتوجه به اینکه سطح زیر منحنی، میزان رشد توده‌های باکتری زنده را با توجه به نمایی بودن رشد این گونه از باکتری‌ها نشان می‌دهد، تعداد باکتری رشد یافته بر اساس نمودار استاندارد مک فارلند (McFarland) رسم شده (شکل ۲B) محاسبه شد.

اساساً پلاسماهای غیرحرارتی زمانی به کار می‌روند که نیاز به گاز یونیزه‌ای با دمای پایین در حد دمای اتاق باشد (۶). پلاسمای غیرحرارتی برای میکروبی‌زدایی، در فشار پایین و در فشار اتمسفری می‌تواند تولید شود، ولی به علت اینکه تولید حجم زیادی از پلاسمای در فشارهای پایین پرهزینه است توجه بیشتری به سمت تولید پلاسماهایی در حد فشار اتمسفر جلب شده است (۷، ۸). هدف این تحقیق، مطالعه اثر باکتری‌سایدی شارش پلاسمای اتمسفری تولید شده توسط الکترودهای آلومینیومی تخت و شانه‌ای با استفاده از دو منبع DC و AC بر حیات *E. coli* است.

مواد و روش‌ها

منبع تغذیه

برای تولید پلاسمای اتمسفری دو منبع تغذیه DC ۲۰ وات (که اختلاف پتانسیل ۲۰ کیلوولت تولید می‌کند) و AC ۵۰۰ وات (که اختلاف پتانسیل ۱۰ کیلو وات تولید می‌کند) استفاده شد.

آرایش الکترودی با ساختار شانه‌ای

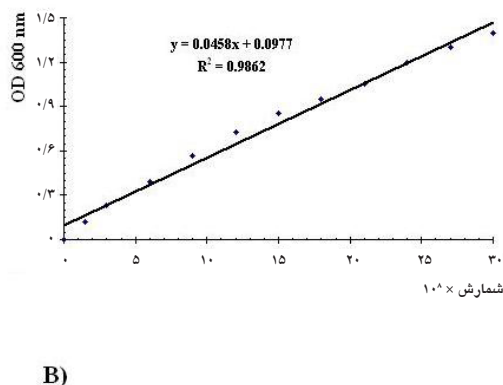
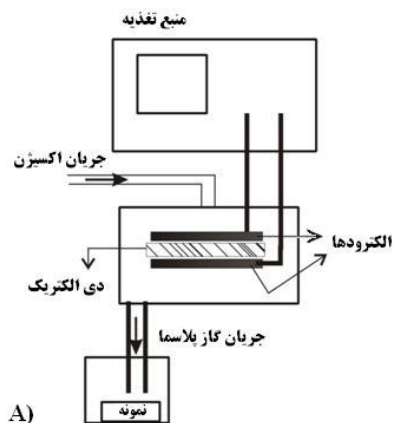
الکترودی با ساختار شانه‌ای از جنس ورقه آلومینیوم (Aluminum-comb electrode: Al-CE) با فواصل دندان‌های الکترودی ۴ میلی‌لیتر در شش دندان و ابعاد ۱×۴۵×۰/۰۵ میلی‌متر تهیه شد (شکل ۱). دو الکترود شانه‌ای در دو طرف یک عایق ۱×۶۰×۸۰ میلی‌متر قرار داده شد تا مجموعه الکترودها را تشکیل دهد و به منبع تغذیه متصل شد. پلاسمایی که با این ساختار ایجاد می‌شود تخلیه الکتریکی سطحی با سد دی‌الکترونیک نامیده می‌شود.

آرایش الکترودی با ساختار صفحه‌ای

الکترودهایی از صفحات آلومینیومی صاف (Aluminum-flat electrode: Al-FE) به ابعاد ۱×۳۰×۵۰ میلی‌متر با دی‌الکترونیک شیشه به ابعاد ۱×۶۰×۸۰ میلی‌متر تهیه شد. این دی‌الکترونیک از یک طرف کاملاً به الکترود چسبیده و از طرف دیگر به اندازه یک میلی‌متر از الکترود دیگر فاصله داشت. به طوری که هوا بین فضای دی‌الکترونیک و این الکترود قرار داشت. اندازه صفحات آلومینیومی و دی‌الکترونیک طوری انتخاب شده که الکترودها نتوانند از طریق محیط اطراف شیشه با یکدیگر ارتباط الکتریکی داشته باشند و تخلیه الکتریکی فقط از طریق محیط شیشه صورت پذیرد (۲، ۵). همچنین برای جلوگیری از ایجاد جرقه از طریق هوا، الکترود تخت آلومینیومی خمیده شد (شکل ۱).

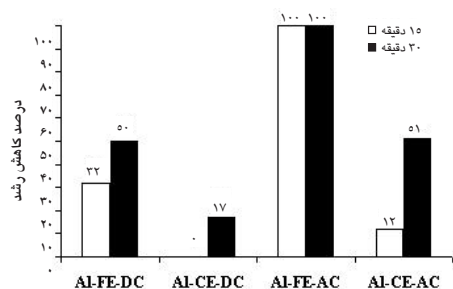
محیط کشت LB

برای تهیه یک لیتر محیط کشت (Luria Bertini: LB) مقدار ۱۰ گرم باکتوتریپتون، ۵ گرم عصاره مخمر و ۱۰ گرم کلرید سدیم را در ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و سپس pH محلول با



شکل ۲: شماتیک کلی شارش گاز پلاسمای اتمسفری بر باکتری (A) *E. coli* نمودار استاندارد مک فارلند (B)

ساییدی با شارش پلاسمای الکتروود شانه‌ای و تخت در دو زمان ۱۵ (۰/۰۰۰۶۳) و ۳۰ دقیقه ($p < 0/0007$) نشان می‌دهد. همچنین نتایج نشان داد تحت شارش پلاسمای الکتروود تخت، تعداد باکتری به ۳۲ درصد بعد از ۱۵ دقیقه و ۵۰ درصد بعد از ۳۰ دقیقه کاهش یافت. این در حالی است که اثر باکتری ساییدی الکتروود شانه‌ای بعد از ۳۰ دقیقه و ۴۵ دقیقه به ۱۷ درصد رسید (شکل‌های ۳A و ۴).

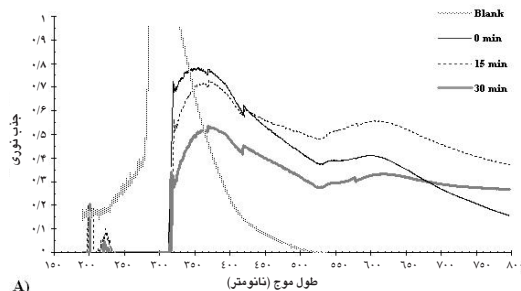


شکل ۴: اثر شارش گاز پلاسمای اتمسفری در آهنگ کاهش تعداد درصد رشد باکتری *E. coli*

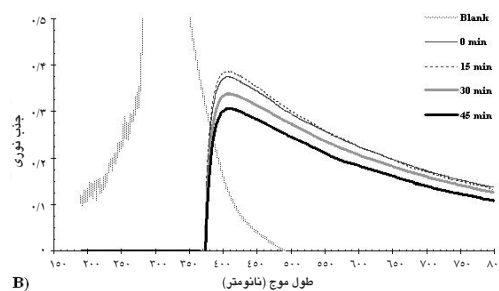
یافته‌ها

در این تحقیق، پلاسمای اتمسفری با مدل تخلیه تابان توسط منبع تغذیه‌های DC و AC در دمای اتاق با آرایش‌های مختلف الکتروودهای آلومینیومی ایجاد شد. به منظور تولید حجم بیشتر پلاسما و تابش فرابنفش و آزن (که در ضدعفونی نقش مهمی را بازی می‌کنند) آرایش الکتروودی مختلف طراحی و اثرات باکتری ساییدی جریان گاز پلاسمای اتمسفری تولید شده، بر باکتری *E. coli* در زمان‌های مختلف صفر (بدون تابش پلاسما)، ۱۵ دقیقه و ۳۰ دقیقه به شرح فوق مطالعه شد.

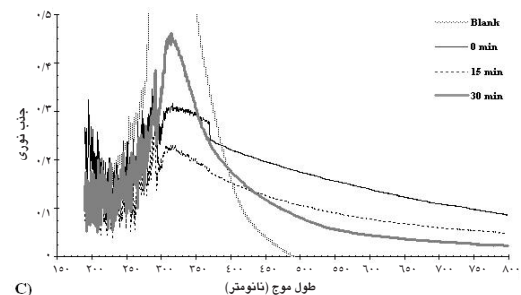
مطالعه شارش گاز پلاسمای اتمسفری تولید شده با منبع DC بر روی باکتری انجام شد. نتایج نشان می‌دهد در استفاده از الکتروود تخت و شانه‌ای، طیف جذبی در طول موج محاط شده در طیف جذبی محیط شاهد (یعنی محدوده ۳۲۰-۴۰۰ نانومتر) برای زمان صفر بیشتر از ۱۵ دقیقه شارش با الکتروود تخت (شکل ۳A) و ۳۰ دقیقه شارش با الکتروود شانه‌ای است (شکل ۳B). به منظور یکسان‌سازی اثرات محیط کشت، تعداد باکتری‌ها در طول موج مک فارلند (۳۰۰ نانومتر) با استفاده از نمودار استاندارد مک فارلند (شکل ۲A) محاسبه شد. آنالیز آماری با استفاده از آزمون t -test اختلاف معنی‌داری بین اثر باکتری



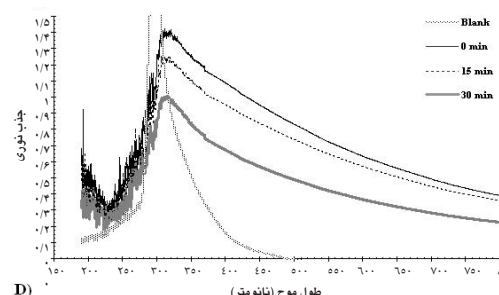
A)



B)



C)



D)

شکل ۳: اثر پلاسمای تولید شده توسط الکتروود تخت (A) و شانه‌ای (B) آلومینیومی با منبع تغذیه DC و الکتروود تخت (C) و شانه‌ای (D) آلومینیومی با منبع تغذیه AC بر باکتری *E. coli* در زمان‌های متفاوت

برعهده دارد، مواد ژنتیکی با جذب اشعه فرابنفش تخریب می‌شوند. این تخریب در ثانیه‌های اولیه آزمایش روی می‌دهد و زمانی بیشترین نقش را دارد که نمونه آزمایش یا در داخل پلاسمای اتمسفری قرار گرفته باشد و یا پلاسما، غیراتم‌سفری و از نوع پلاسمای کم فشار باشد. در همین مرحله آهنگ از میان بردن باکتری‌ها بسیار بالا است. در مرحله دوم، تابش فرابنفش توسط باکتری جذب می‌شود و پیوندهای شیمیایی دیواره باکتری‌ها تجزیه می‌شود و ترکیبات جدیدی مانند H_2 ، CO_2 ، CO ، $COOH$ و CHX ایجاد می‌شود و از باکتری به صورت بخار خارج می‌شود که تجزیه باکتری را به دنبال دارد. همچنین در همین مرحله رادیکال‌های فعال مانند O_3 ، O ، OH از طریق برخورد با باکتری و ایجاد بخارات جدید مانند H_2O ، CO ، CO_2 باعث آگلوتینه شدن باکتری‌ها و اجساد آنها می‌شوند. زمان تأثیر هر یک از مراحل بالا علاوه بر ویژگی پلاسمای تابشی به میزان شارش گاز پلاسما به باکتری، نوع گاز پلاسما، نوع پلاسما، محل قرارگیری نمونه آزمایش و توان پلاسما بستگی دارد. پس از گذشت زمان مشخصی ضایعات میکروارگانیسم‌های مرده که به صورت کپه‌ای پدید آمدند مانع از رسیدن تابش فرابنفش به عمق نمونه می‌شوند که با ادامه شارش گاز پلاسما و تولید ترکیبات شیمیایی و رادیکال‌های فعال، باکتری‌های زنده باقی مانده و یا آسیب دیده، دوباره در اثر تابش فرابنفش مغلوب می‌شوند. این مرحله همان مرحله سوم است (۱۶).

نظر به اینکه توان تزریقی پلاسمای AC و DC استفاده شده در این تحقیق یکسان نیست بنابراین پیشنهاد می‌شود برای مطالعه کیفیت و برتری آنها نسبت به یکدیگر، توان تزریقی پلاسمای یکسانی از دو منبع تغذیه استفاده شود. مطالعه اثر باکتری‌سایدی پلاسمای کم توان DC (با توان ۲۰ وات) با آرایش‌های متفاوت الکترونی نشان داد نحوه آرایش الکترودها در تولید پلاسما و کشتن باکتری‌ها نقش بسیار مهمی دارد. به عنوان مثال پلاسمای الکترونی‌شده‌ای بعد از ۱۵ دقیقه هیچ اثری بر روی باکتری نداشته است در حالی که پلاسمای الکترونی صفحه‌ای اثر باکتری‌سایدی آن ۳۲ درصد و بعد از شارش ۳۰ دقیقه‌ای حدود ۵۰ درصد است. مطالعه اثر باکتری‌سایدی پلاسمای پرتوان AC با آرایش‌های متفاوت الکترونی نیز نشان داد نحوه آرایش الکترودها در تولید پلاسما و کشتن باکتری‌ها نقش بسیار مهمی دارد. همچنین نشان داد هنگامی که از الکترونی تخت و شانه‌ای برای تولید پلاسما استفاده شود، طیف جذبی در طول موج محاط شده در طیف جذبی محیط شاهد برای زمان صفر کمتر از دقیقه ۱۵ و بیشتر از دقیقه ۳۰ در الکترونی تخت است. دلیل احتمالی را می‌توان به بیان پروتئین‌های شرایط ناگوار (SOS: save our ship) یا بیان ژن‌های شوک حرارتی (HSP: Heat shock proteins) دانست (شکل ۳C). در حالی که طیف‌های جذبی در طول موج محاط شده در طیف جذبی محیط شاهد الکترونی شانه‌ای (شکل ۳D) مشابه جریان DC مشاهده شده در شکل ۳A است.

با مقایسه نتایج این آزمایش و نتایج دیگر محققان (۱۱)، ۱۳، ۱۵، ۱۶) می‌توان دریافت که در این تحقیق تا حدودی پارامترها و همچنین روش اندازه‌گیری باکتری‌های زنده بهینه شده است. اگر چه نوع و توان پلاسمای آزمایش و مرجع فوق یکسان نیست، ولی نتایج از نظر زمانی با یکدیگر قابل مقایسه‌اند. لذا پیشنهاد می‌شود استفاده از طیف جذبی به روش اسپکتروفتومتری می‌تواند یک روش مناسب و سریع برای تعیین میزان آسیب وارده به جمعیت باکتری‌ها باشد.

مقایسه ساختار شانه‌ای و صفحه‌ای الکترودها در پلاسمای تولید شده با منبع‌های تغذیه DC و AC نشان می‌دهد حجم پلاسمای تولید شده با الکترونی صفحه‌ای بیشتر است که می‌تواند به خاطر توزیع میدان الکتریکی برای شکست هوا در صفحه و یا لبه‌ها برای این

در مطالعه مشابه، شارش گاز پلاسمای اتمسفری تولید شده با منبع AC بر روی باکتری نیز انجام شد. آنالیز آماری با استفاده از آزمون t اختلاف معنی‌داری بین اثر باکتری‌سایدی با شارش پلاسمای الکترونی‌شده‌ای و تخت در دو زمان ۱۵ ($p=0/0054$) و ۳۰ دقیقه ($p<0/0036$) نشان داد. آنالیز تعداد درصد باکتری‌های رشد یافته با استفاده از استاندارد مک فارلند نشان داد تعداد باکتری‌های زمانی که از الکترونی تخت استفاده شد بعد از شارش ۱۵ دقیقه ۱۰۰ درصد کاهش یافت. اما اثر باکتری‌سایدی الکترونی‌شده‌ای بعد از ۱۵ دقیقه به ۱۲ درصد و ۳۰ دقیقه به ۵۱ درصد رسید (شکل ۴).

بحث

استفاده از پلاسمای اتمسفری به خاطر کم‌هزینه بودن (۱۰) و داشتن آلودگی و آسیب‌های زیست محیطی کمتر، در استریل کردن و کشتن میکروب‌ها (۱۱) و همچنین استریل کردن بافت‌های زنده حیوانی و انسانی در محل به منظور حذف آلودگی‌ها و عفونت‌های بافتی (۱۲) یکی از تکنیک‌هایی است که در دهه اخیر به سرعت در جهان رو به افزایش است و نظر محققان زیادی را به سوی خود جلب نمود. به طوری که می‌توان از پلاسماهای گازی برای زدودن اشکال رویشی از قبیل باکتری‌ها، قارچ‌ها و حتی از بین بردن ویروس‌ها استفاده کرد (۱۳، ۱۴). ترومپیترو و همکاران نشان داده‌اند شارش پلاسمای غیرحرارتی اتمسفری باعث کاهش شدید رشد *Bacillus subtilis* و *Aspergillus niger* می‌شود (۱۴). روث و همکاران نشان داده‌اند استفاده از چشمه‌های شارش ۲۵ دقیقه‌ای پلاسمای اتمسفری در دمای اتاق می‌تواند جمعیت باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* را کاهش دهد (۱۳). زینگمین و همکاران اثر شارش پلاسمای غیرحرارتی روی باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* در زمان‌های متفاوت ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بررسی کردند. سپس باکتری‌های آسیب دیده را روی محیط کشت جامد رشد دادند و با شمارش کلونی‌ها به این نتیجه رسیدند در زمان‌های مورد مطالعه، تعداد کلنی‌های رشد یافته *E.coli* < *S.aureus* است (۱۱). ویلگر و همکاران اثر باکتری‌سایدی شارش پلاسمای غیرحرارتی تولید شده با استفاده از مخلوط گازی N_2-O_2 بر باکتری *E.coli* را بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد بعد از شارش ۲۵ دقیقه‌ای تقریباً ۱۰۰ درصد باکتری‌ها کشته شدند. که با روش شمارش کلونی در محیط کشت جامد انجام دادند (۱۵).

موسان و همکاران نشان داده‌اند حدود ۳۰ دقیقه طول می‌کشد تا اثر باکتری‌سایدی شارش گاز پلاسما به ۹۰ درصد برسد در حالی که توان پلاسمای آنها ۱۰۰ وات و نوع آن پلاسمای مایکروویو است (۱۶).

محققان در خصوص مکانیسم میکروب‌زدایی پلاسما پیشنهاد کردند هرگاه نمونه مورد آزمایش در داخل محیط پلاسمای اتمسفری قرار داده شود تابش فرابنفش و رادیکال‌های فعال نقش اصلی را در میکروب‌زدایی ایفا خواهند کرد (۳). از طرف دیگر اگر نمونه آزمایش خارج از محیط پلاسمای اتمسفری قرار داده شود، به طوری که تحت اثر شارش گاز پلاسما قرار گیرد، در این صورت رادیکال‌های فعال نقش اصلی را به عهده می‌گیرند (۱۶) که اساس باکتری‌سایدی تحقیق فعلی را تشکیل می‌دهد. براین اساس، مکانیسم‌های اصلی گندزدایی توسط پلاسما بر حسب زمان در سه مرحله خلاصه می‌گردد.

در مرحله اول که تابش فرابنفش وظیفه اصلی گندزدایی را

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می دهد ساختار هندسی الکترودها در تولید پلاسما و اثر باکتری کشی آن بسیار مهم است. به طوری که آرایش الکتروود تخت در هر دو توان پلاسما پایین و بالا نقش موثری در باکتری سایدی *E. coli* دارد. استفاده از طیف جذبی به روش اسپکتروفتومتری می تواند یک روش مناسب و سریع برای تعیین میزان آسیب وارده به جمعیت باکتری ها باشد. همچنین تولید پلاسما امسفری کم هزینه و دارای آلودگی و آسیب های زیست محیطی کمتری است. پیشنهاد می شود خاصیت باکتری سایدی پلاسما امسفری در مدیریت کنترل آلودگی و ضدهفونی بیمارستان ها، رستوران ها و دیگر اماکن عمومی و بهداشتی به عنوان یک روش موثر مورد استفاده قرار گیرد. لذا بررسی پارامترهای تاثیر گذار در تولید پلاسما امسفری از جمله توان منبع تغذیه، ساختار هندسی الکترودها و اثر باکتری سایدی آنها بر دیگر باکتری ها از جمله *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* نیز حائز اهمیت است.

دو آرایش الکتروودی باشد و سطح موثر کمتری در شانه ای دارد. به همین خاطر حجم پلاسما و احتمالاً رادیکال های فعال تولید شده با الکتروود صفحه ای در پلاسما DC و AC نسبت به الکتروود شانه ای افزایش یافته است. این در حالی است که مويسان و همکاران (۱۶) اثر تخریبی UV روی DNA را یکی از فاکتورهای اصلی تاثیر گذار در کشندگی شارش باکتریایی می دانند. مطابق شکل ۴، استفاده از منبع تغذیه AC (با توان ۵۰۰ وات) برای تولید پلاسما پیروتوان جهت میکروب زدایی، بسیار بارزتر است. به عنوان مثال در آرایش الکتروود تخت و شانه ای، بعد از ۳۰ دقیقه شارش، به ترتیب حدود ۱۰۰ و ۵۰ درصد باکتری ها از بین رفته اند که می تواند به خاطر تولید رادیکال های بیشتر در پلاسما پیروتوان باشد. این رادیکال های تولیدی سبب تخریب ساختار DNA و اختلالات شدید در سیستم های همانندسازی و رونویسی پروتئین های باکتریایی می شوند و در نتیجه مرگ باکتری ها را به همراه دارد. بنابراین با توجه به جدید بودن این تکنیک، بهینه سازی فاکتورهای تاثیر گذار در تولید پلاسما و باکتری سایدی و همچنین مکانیسم های تخریب سلول زنده نیاز به تحقیق بیشتر دارد.

References

- Kogelschatz U. Atmospheric-pressure plasma technology. Plasma Phys. Control. Fusion, 2004; 46: B63-B75
- Roth JR. Potential industrial applications of the one atmosphere uniform glow discharge plasma operating in ambient air. Physics of Plasmas, 2005; 12(5): 057103-9
- Laroussi M, LU X. Initiation phase and steady-state structures of a non-thermal air plasma. J. Phys. D: Appl. Phys, 2003; 36: 661-665
- Napartovich AP. Overview of atmospheric pressure discharges producing nonthermal plasma. Plasmas and Polymers, 2001; 6(1): 1-14
- Raizer Yu P. Gas discharge physics. 2nd ed, Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag, 1997; 167-213
- Laroussi M. Non-thermal decontamination of biological media by atmospheric pressure plasmas: Review, Analysis, and Prospects, IEEE Trans. Plasma Sci, 2002; 30 (4): 1409-1415
- Roth JR. Industrial plasma engineering. First ed, Bristol, Institute of physics published, 1995; pp: 37-73
- Roth JR. Industrial plasma engineering. Journal of Plasma Physics, 2001; 68 (3) 237-240
- Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Press, New York, 2001; A2.2-A2.12
- Lei X, Rui Z, Peng L, Li-Li D, Ru-Juan Z. Sterilization of *E. coli* bacterium with an atmospheric pressure surface barrier discharge. Chin. Phys, 2004; 13: 913-917
- Xingmin S, Yukang Y, Yanzhou S, Wang Y, Fengling P, Yuchang Q. Experimental research of inactivation effect of low-temperature plasma on bacteria. Plasma Science and Technology, 2006; 8 (5): 569-572
- Fridman G, Peddinghaus M, Ayan H, Fridman A, Balasubramanian M, Gutsol A, Brooks A, Friedman G. Blood coagulation and living tissue sterilization by floating-electrode dielectric barrier discharge in air. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2006; 2: 425-442
- Roth JR, Sherman DM, Ben Gadri R, Karakaya F, Chen ZY, Montie TC, Kelly-Wintenberg K, Tsai PPY. A remote exposure reactor (RER) for plasma processing and sterilization by plasma active species at one atmosphere. IEEE Transactions on Plasma Science, 2000; 28(1): 56-63
- Trompeter FJ, Neff W, Franken O, Heise M, Neiger M, Liu S, Pietsch GJ. Reduction of *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger* spores using nonthermal atmospheric gas discharges. IEEE Transactions on Plasma Science, 2002; 30(4): 1416-1423
- Villegier S, Cousty S, Ricard A, Sixou M. Sterilization of *E. coli* bacterium in a flowing N₂-O₂ post-discharge reactor. J. Phys. D: Appl. Phys, 2003; 36: L60-L62
- Moisan M, Barbeau J, Crevier MC, Pelletier J, Philip N, Saoudi B. Plasma sterilization methods and mechanisms, Pure Appl. Chem, 2002; 74(3): 349-358