

## طراحی و ساخت جت پلاسمای سه گانه سرد فشار اتمسفری و به کارگیری آن در استریزه کردن

فرشاد صحبت زاده<sup>۱</sup>، اباصلت حسین زاده کلاگر<sup>۲</sup>، سعید میرزائزاد<sup>۱</sup>، سمانه مطلبی<sup>۱</sup>، معصومه فرهادی<sup>۱</sup>، مولود باقری<sup>۱</sup>، حامد معماریانی<sup>۳</sup>، آزاده ولی نتاج عمران<sup>۱</sup> و محسن مرتضوی<sup>۳</sup>

۱. گروه فیزیک اتمی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر  
۲. گروه پژوهشی نانو و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر  
۳. گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر  
پست الکترونیکی: f.sohbat@umz.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۷/۲۳؛ دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۲/۸/۲۷)

### چکیده

در این مقاله ساخت جت پلاسمای سرد سه گانه فشار اتمسفری از گازهای آرگون، هوا، اکسیژن و نیتروژن گزارش می شود و همچنین اثر باکتری کشی آن بر روی باکتری های گرم منفی و مثبت مورد بررسی قرار می گیرد. برای این منظور یک ساختار طولی برای الکترودها انتخاب شد، تا طول جت پلاسمای افزایش یابد. خصوصیات الکتریکی، بیشینه طول جت، وابستگی طول جت به ولتاژ اعمالی و سرعت شارش گاز، غلظت گونه های فعال شیمیایی مانند ازن، اکسیژن اتمی و ترکیبات  $\text{NO}_x$  و هیدروکسیل، به وسیله بیناب نمایی گسیل نوری، اندازه گیری شد. مشاهدات ما نشان داد که غلظت های اکسیژن اتمی و ازن در جت پلاسمای سه گانه بیشتر از جت تکی است. همچنین از این جت پلاسمای، در استریزه کردن سطوح جامد و مایع برای زدودن باکتری های گرم-منفی و گرم-مثبت *Escherichia coli* و *Streptococcus pyogenes* استفاده شد و نتایج نشان دادند که دستگاه جت سه گانه در کشتن باکتری ها بسیار موثر است.

واژه های کلیدی: پلاسمای سرد فشار اتمسفری، جت سه گانه، استریزه کردن

### ۱. مقدمه

از نقطه نظر فشار، پلاسمای را به دو دسته کلی پلاسمای فشار پایین و پلاسمای فشار اتمسفری تقسیم می کند. در حال حاضر توجه بیشتر به پلاسمای فشار اتمسفری به دلیل سادگی و هزینه کم آن نسبت به پلاسمای فشار پایین است [۱]. این نوع پلاسمای غیر تعادلی است یعنی تعادل ترمودینامیکی محلی ندارد و محتوی الکترون های داغ تا  $10 \text{ eV}$ ، یون های سرد و گونه های خنثی است که دمای آن در محدوده دمای اتاق است [۲]. از نقطه نظر ماکروسکوپی، این یک پلاسمای سرد است. این

در آستانه آغاز یک قرن با انرژی های جدید و روش های نوین درمان قرار داریم. افزایش کارایی و کاهش هزینه های تولید انرژی و تکنولوژی اعم از پزشکی و غیر پزشکی موضوعات مورد توجه زمان ما هستند. امروزه علم پلاسمای راه حل جدیدی برای فائق آمدن به مشکلات پیش روی محققان در این زمینه ها است. خواص منحصر به فرد پلاسمای امکان استفاده از آن را به طور گسترده در صنعت و پزشکی مهیا ساخته است. طبقه بندی

اتمسفری هلیوم/اکسیژن را بر روی سلول‌های سرطانی بررسی کردند و نشان دادند که استفاده از این روش، می‌تواند روش بسیار مفیدی در درمان تومورها باشد [۱۱]، همچنین در مرجع [۱۲] شبیه‌سازی تخلیه الکتریکی بین دو الکترود هم محور و در فشار اتمسفری به همراه مشخصات ولتاژ و جریان و میدان الکتریکی بررسی شده است. ما نیز در کارهای قبلی نشان دادیم که یک منبع پستاب<sup>۴</sup> پلاسما سرد در فرکانس ۵۰ Hz با گاز اکسیژن و دی اکسید کربن، قادر به رفع آلودگی محیط‌های جامد و مایع است [۱۳]. در این مقاله، ابتدا، ساخت یک جت سه‌گانه سرد فشار اتمسفری در بخش ۲ گزارش می‌شود و سپس برخلاف روش پستاب، به طور مستقیم از آن در استرلیزه کردن باکتری‌ها استفاده می‌کنیم. در همین بخش، ساختار الکترودی و وابستگی طول جت به آهنگ شارش گاز و نوع گاز بررسی می‌شود و ویژگی‌های اپتیکی و الکتریکی آن گزارش می‌گردد. در انتها نیز نتایج به کارگیری این دستگاه در رفع آلودگی محیط جامد و مایع از باکتری‌های گرم منفی و مثبت مورد بحث قرار می‌گیرد.

## ۲. مواد و روش‌ها

۱. ۲. ساخت جت سه‌گانه و تولید پلاسما سرد فشار اتمسفری  
برای ساخت جت سه‌گانه، که متشکل از سه جت مجزا است، از یک الکترود استوانه‌ای تو خالی و یک حلقه استفاده شد. الکترود استوانه‌ای به یک منبع AC سینوسی با فرکانس ۱۸،۵۶ KHz متصل گردید و الکترود حلقوی نیز به زمین متصل شد. پلاسما، به دلیل تخلیه الکتریکی بین دو الکترود ایجاد شد و برای جلوگیری از ایجاد جرقه یک دی الکتریک شیشه‌ای در بین دو الکترود قرار گرفت (شکل ۱). در جت سه‌گانه الکترود زمین، یک صفحه تخت مسی با سه سوراخ است که در رئوس یک مثلث متساوی الاضلاع فرضی، قرار دارند. قسمت نازل دی الکتریک درون سوراخ‌های الکترود صفحه‌ای قرار می‌گیرد. کل ساختار، داخل یک پوشش سه قسمتی قرار دارد که در ابتدای این پوشش، ورودی شلنگ گاز و سیم‌های حامل جریان و در انتهای آن سه سوراخ برای خروج پلاسما است. در این تحقیق از ترکیب

خصوصیت مهم پلاسما سرد فشار اتمسفری این امکان را فراهم می‌سازد تا از آن در پردازش مواد حساس به گرما و بافت‌های زنده در صنعت و پزشکی استفاده شود [۳-۵]. یکی از انواع پلاسماهای سرد فشار اتمسفری، جت پلاسما است که بر پایه تخلیه سد دی‌الکتریک<sup>۱</sup> بنا نهاده شده است. جت پلاسما مورد استفاده در این مقاله شامل دو الکترود هم محور است که دست کم یکی از آنها توسط یک لایه دی الکتریک پوشیده شده است. جت پلاسماها در دو ساختار طولی و عرضی به کار می‌روند [۶]، در ساختار طولی که بیشتر مورد توجه ما است، میدان الکتریکی ایجاد شده در راستای شارش گاز می‌باشد و پلاسما در اثر تخلیه الکتریکی بین دو الکترود ایجاد می‌شود. یک منبع AC می‌تواند ولتاژ مورد نیاز برای تخلیه را ایجاد کند. از گازهای مختلفی همچون آرگون، نیتروژن، اکسیژن و ترکیب آنها در تولید جت پلاسما استفاده می‌شود. نوع گاز، میزان سرعت شارش گاز و ولتاژ اعمالی در ایجاد پلاسما و در طول جت بسیار مؤثر است [۷]. هنگامی که پلاسما در تماس با سطح ماده قرار می‌گیرد انرژی از پلاسما انتقال پیدا می‌کند و اجازه می‌دهد تا واکنش‌های ثانویه در سطح مواد رخ دهد. خصوصیات سطح تغییر یافته و در بیشتر موارد برای چاپ، نقاشی و کاربردهای نظیر آن در صنعت ایده‌آل است [۸]. در پاک سازی سطوح، سطح مورد نظر با گونه‌های واکنش پذیر موجود در پلاسما واکنش نشان می‌دهد، در نتیجه آلودگی‌های زیستی در یک دمای پایین از سطح مورد نظر جدا شده یا از بین می‌روند [۹]. از گونه‌های واکنش پذیر موجود در پلاسما می‌توان به اکسیژن اتمی OI، اکسیژن مولکولی منفرد  $O_2(b^1\Sigma_g^+)$ ، ازن  $O_3$ ، ArI، هیدروکسیل OH و ترکیبات ناکس  $NO_x$  اشاره کرد که بسته به نوع گاز مورد استفاده، میزان آنها متفاوت است [۱۰]. یکی از روش‌های موجود برای تشخیص این گونه‌ها روش طیف سنجی نوری<sup>۲</sup> می‌باشد.

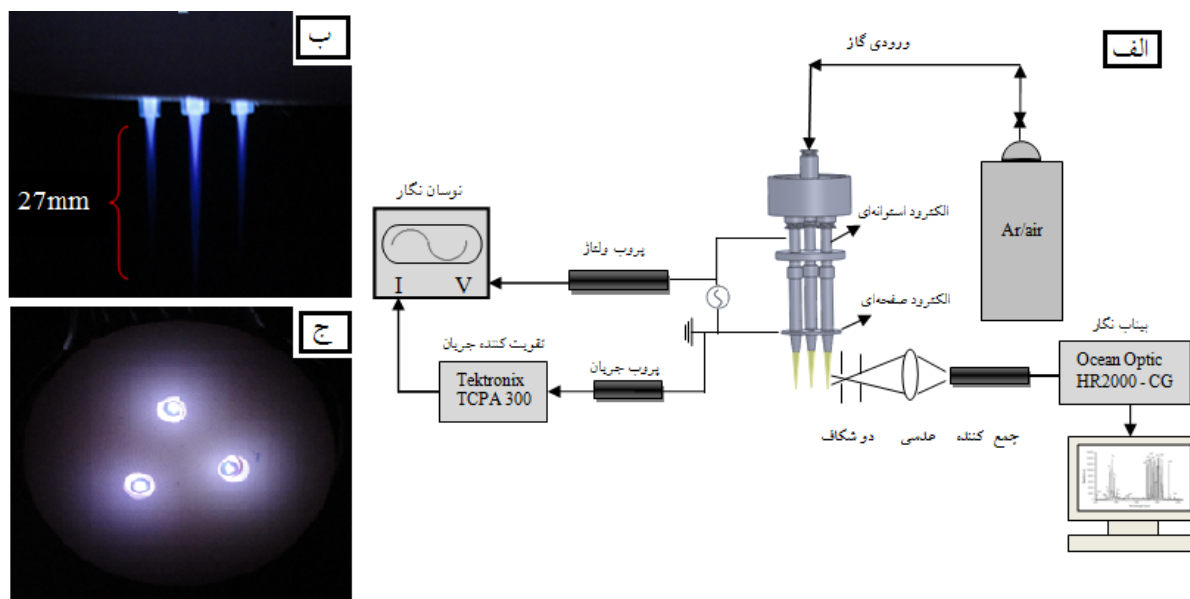
در سال ۲۰۱۲ آندریا لاپا<sup>۳</sup> و همکارش اثر جت پلاسما

۱. Dielectric barrier discharge

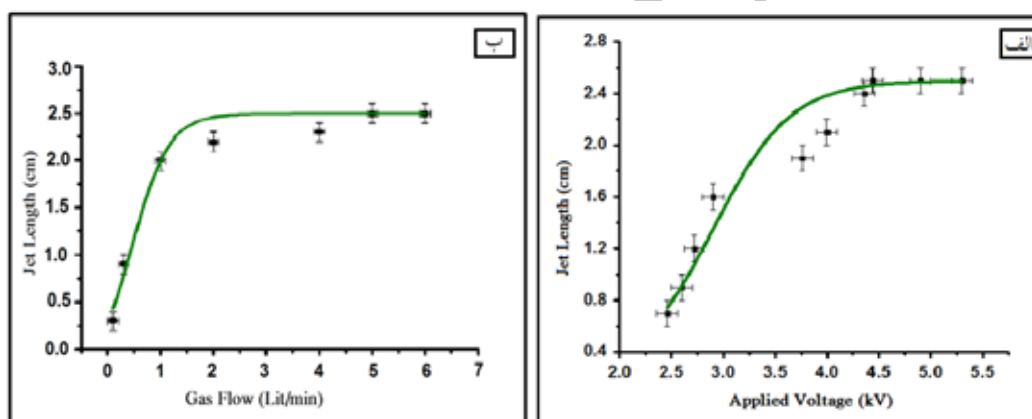
۲. Optical emission spectroscopy

۳. Andreea Lupu

۴. After glow



شکل ۱. طرح نمادین و آرایه‌های جت پلازما: (الف) طرح کلی چیدمان آزمایش جت پلاسمای سه گانه و مدار الکتریکی آن؛ (ب) نمایی از شعله پلاسمای سه گانه؛ (ج) نمای بیرونی از سطح مقطع عرضی جت سه گانه.



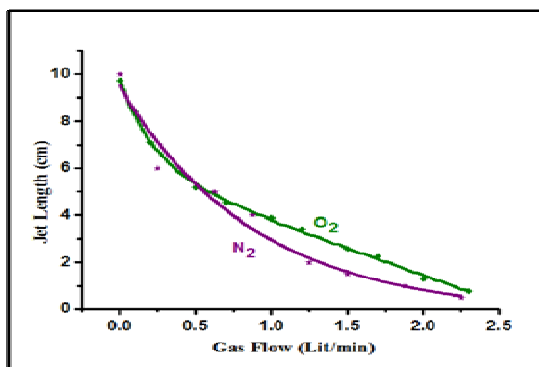
شکل ۲. نمودار وابستگی طول جت: (الف) برحسب ولتاژ اعمالی، (ب) برحسب سرعت شارش گاز آرگون.

وجود تقارن بین الکترودها و دی الکتریک شیشه‌ای و همچنین فاصله مناسب بین دو الکترودها، در این آزمایش فاصله دو الکترودها ۲ mm تا ۳ mm تنظیم شد. نازل‌های مورد استفاده نیز از جنس شیشه پیرکس با قطر ورودی ۸ mm و قطر خروجی ۲٫۵ mm در نظر گرفته شدند.

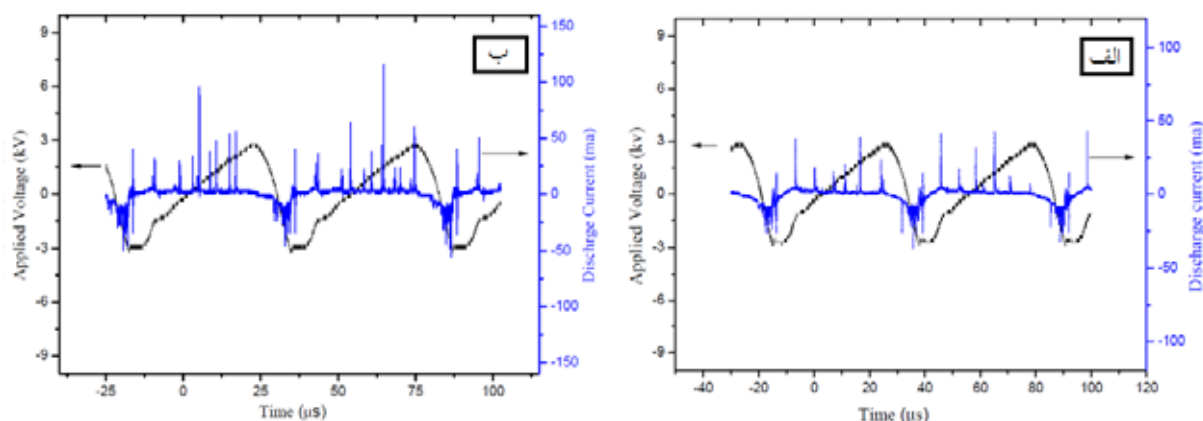
## ۲.۲. وابستگی طول جت به ولتاژ و سرعت شارش گاز

در این تحقیق وابستگی طول یک جت مجزا به ولتاژ اعمالی

گاز آرگون- هوا به عنوان گاز اصلی و با نسبت شارش ۹۹٪/۱٪ هوا استفاده کردیم و در حالت‌های دیگر مقدار اندکی اکسیژن یا نیتروژن به گاز آرگون افزودیم. ابتدا گاز وارد دستگاه شده و سپس توسط یک مقسم به طور مساوی وارد هر سه الکترودها می‌شود. با اعمال ولتاژ مناسب، در فضای بین الکترودها استوانه‌ای و الکترودهای صفحه‌ای و درون شیشه، پلازما شکل می‌گیرد و با افزایش ولتاژ، پلازما به تدریج به خارج از نازل شارش می‌یابد. نکته مهم در ایجاد پلاسمای یکنواخت



شکل ۳. نمودار طول جت بر حسب سرعت شارش گاز اکسیژن و نیتروژن در جت آرگون.



شکل ۴. نمودار ولتاژ و جریان بر حسب زمان: (الف) جت مجزا در ولتاژ ۶/۲ kV. (ب) جت سه گانه در ولتاژ ۶ kV.

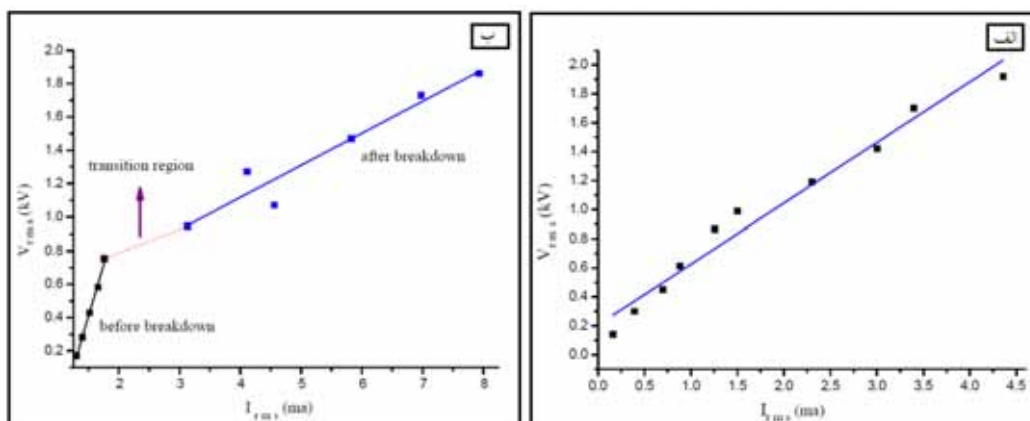
### ۲.۳. مشخصات الکتریکی جت پلاسمای سه گانه و مجزا

یکی از مشخصات الکتریکی مهم پلاسمای مشخصه ولتاژ-جریان آن می باشد. برای اندازه گیری ولتاژ و جریان از اسیلوسکوپ دیجیتالی مدل Tektronix-DPO 2012، پروب ولتاژ مدل Tektronix-P6015A، تقویت کننده جریان مدل Tektronix-TCPA 300 و پروب جریان مدل Tektronix-TCP 312 استفاده کردیم. در شکل ۴ (الف)، نمودار ولتاژ-زمان و جریان-زمان یک جت مجزا در ولتاژ ۶/۲ kV و در شکل ۴ (ب)، نمودار ولتاژ-زمان و جریان-زمان جت سه گانه در ولتاژ ۶ kV بر حسب زمان را نشان داده شده است.

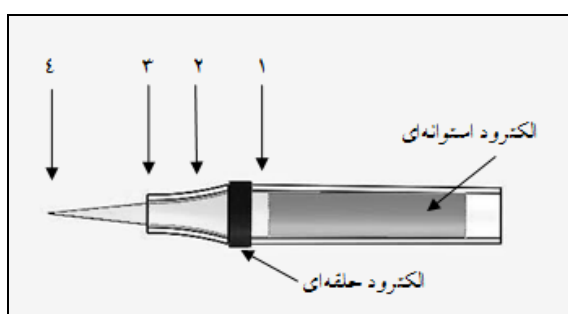
شکل ۵ (الف)، نمودار ولتاژ-جریان جت مجزا را با یک افزایش خطی و شکل ۵ (ب)، نمودار ولتاژ-جریان جت سه گانه را در نواحی قبل از شکست پلاسمای و بعد از آن و ناحیه گذار نشان می دهند. ناحیه گذار که در نمودار با نقطه چین

بررسی شد و همان طور که در شکل ۲ (الف) مشاهده می شود با افزایش ولتاژ ابتدا طول جت افزایش خطی دارد و سپس ثابت باقی می ماند. که اگر ولتاژ باز هم افزایش یابد، پلاسمای از حالت تابان به قوس تبدیل می گردد و پلاسمای سرد به پلاسمای متعادل و گرم گذار انجام می دهد، که مورد دلخواه نیست. در شکل ۲ (ب) وابستگی طول جت مجزا به آهنگ شارش گاز مشاهده می شود. همان طور که مشاهده می شود در شارش های کمتر از ۲ lit/min طول جت افزایش می یابد و در شارش های بزرگ تر از این مقدار طول جت تقریباً ثابت باقی ماند.

شکل ۳، وابستگی طول جت پلاسمای سرد اتمسفری آرگون به آهنگ شارش گازهای ترکیبی اکسیژن و نیتروژن را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود با افزایش آهنگ شارش گازهای نیتروژن و اکسیژن طول جت آرگون کاهش می یابد.



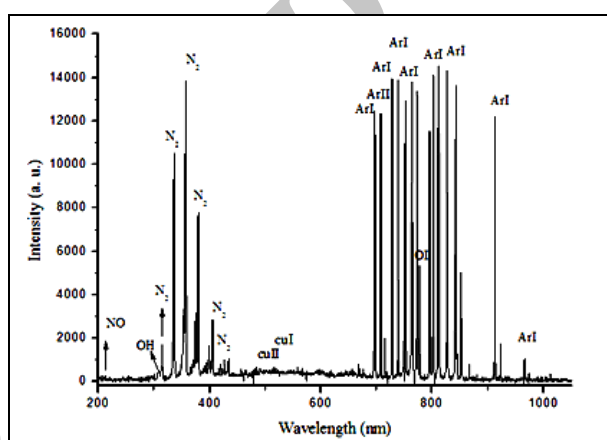
شکل ۵. نمودار ولتاژ- جریان: (الف) جت مجزا. (ب) جت سه گانه.



شکل ۷. طرح یک جت پلازما و مکان‌های مورد استفاده در طیف سنجی: (۱) فاصله بین دو الکترود، (۲) روی نازل شیشه‌ای، (۳) ابتدای نازل، (۴) انتهای جت پلازما.

خارجی سلول‌ها می‌باشند. برای بیناب سنجی ناحیه خاصی از شعله پلازما از دو شکاف موازی به عرض ۲ mm و فاصله ۲ cm از هم استفاده شد. شکل ۷ جت مجزا را بر حسب موقعیت‌های مکانی مورد نظر در بیناب سنجی نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مکان ۱، فاصله بین دو الکترود، مکان ۲، بعد از الکترود حلقوی روی نازل شیشه‌ای، مکان ۳، ابتدای نازل و مکان ۴، انتهای جت پلازما می‌باشند.

شکل‌های ۸ (الف) تا (ه)، نمودار برخی از عناصر موجود را بر حسب موقعیت مکانی بیناب سنجی، نشان می‌دهد. برای رسیدن به این هدف از دو شکاف به عرض ۲ mm و به صورت پشت سرهم و با فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر استفاده شد که در شکل ۱ قابل مشاهده است.

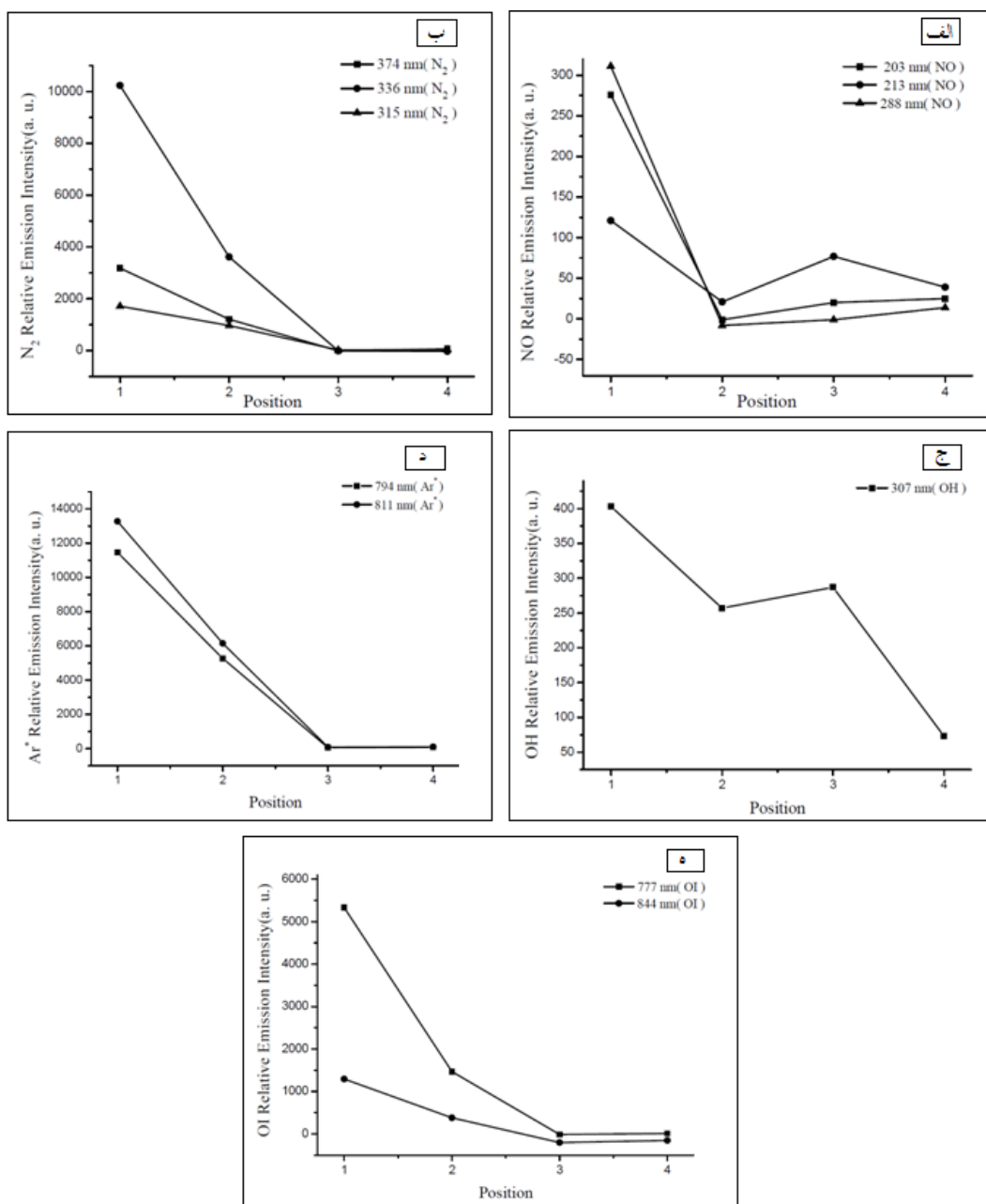


شکل ۶. بیناب تابشی جت پلاسمای آرگون از فضای بین دو الکترود.

مشخص شده است، ناحیه شروع شکست پلازما را در جت سه‌گانه از جت اول تا جت سوم نشان می‌دهد.

#### ۲.۴. بیناب سنجی نوری

برای شناسایی گونه‌های موجود در جت پلازما از بیناب سنجی گسیل نوری استفاده کردیم. در این آزمایش از طیف سنج Ocean Optic مدل HR2000 + CG استفاده کردیم. شکل ۶، بیناب سنجی یک جت مجزا با گاز آرگون/هوا را در فاصله ۲ cm میان دو الکترود نشان می‌دهد. وجود مس اتمی پراکنش مس از الکترود مسی را نشان می‌دهد. همچنین وجود عناصر اتمی توانایی پلازما را در تبدیل گونه‌های مولکولی به اتمی نشان می‌دهد. گونه‌های واکنش پذیر اکسیژنی دارای اثرات قوی اکسیداسیون بر روی ساختار



شکل ۸. نمودارهای شدت نسبی عناصر بر حسب موقعیت بیناب سنخ: (الف) NO، (ب) N<sub>2</sub>، (ج) OH، (د) Ar<sup>+</sup>، (ه) OI.

۲.۵. توان تزریق شده پلاسما و دمای تحریک الکترونی

با توجه تفاوت مدهای پلاسما، شناخت خصوصیات گذار مدها (مد رگه‌های جریان<sup>۱</sup>، مد پخشی<sup>۲</sup>، مد گلوله جریان<sup>۳</sup>) مهم است. گذار معمولاً از خصوصیات ولتاژ-جریان به دست می‌آید. اما گاهی رابطه ولتاژ و جریان برای توصیف گذار، مناسب نیست،

مانند مد آشفته که در آن، تخلیه جریان از یک قله به قله دیگر متفاوت است. به این دلیل در این موارد متوسط توان تزریقی را به دست می‌آورند و نمودار توان بر حسب زمان را رسم می‌کنند. می‌توان با فرض شکل موج به صورت سینوسی و با اندازه‌گیری‌های  $V(t)$  و  $I(t)$  توان تزریقی را از رابطه

$$P = \frac{\int_0^T U(t)I(t) dt}{\int_0^T dt} \quad \text{محاسبه کرد [۱۴].}$$

۱ Streamer mode

۲ Diffuse mode

۳ Plasma bullet mode

جدول ۱. غلظت ازن در سرعت‌های شارش متفاوت برای جت مجزا.

نوع گاز	سرعت شارش گاز (lit/min)	غلظت ازن (ppm)
		جت مجزا
Ar /Air	۲	۰٫۲
	۴	۰٫۹۶
	۱۰	۰٫۰۶
Ar/Air : O <sub>2</sub>	۲ : < ۱	۱٫۵۹
	۴ : < ۱	۰٫۱۰
	۱۰ : < ۱	۰٫۰۷
Ar/Air : N <sub>2</sub>	۲ : < ۱	۰٫۷
	۴ : < ۱	۰٫۲۱
	۱۰ : < ۱	۰٫۰۸

آزمایش با استفاده از ازن سنج مدل A-21ZX (Eco. Sensors) برای گاز آرگون- هوا، ترکیب اکسیژن و آرگون- هوا و همین‌طور ترکیب نیتروژن و آرگون- هوا و در سرعت‌های شارش متفاوت اندازه‌گیری شد و برای هر جت مجزا در جدول ۱ بیان شده است.

#### ۲.۷. رفع آلودگی

از دستگاه مذکور در کشتن باکتری *E. coli* و *S. pyogenes* در محیط کشت LB جامد و مایع استفاده شد. باکتری *E. coli* رایج‌ترین علت عفونت ادراری و مسمویت عفونی می‌باشد. همچنین این باکتری عامل بیماری اسهال و یکی از دو دلیل مهم مننژیت نوزادان و از نوع باکتری‌های گرم- منفی است. استرپتوکوک‌های *S. pyogenes* عامل اصلی بیماری‌زایی در انسان هستند و از طریق راه‌های لنفاوی گسترش می‌یابد. باکتری *S. pyogenes* جزو باکتری‌های گرم- مثبت بوده و زخم بستر ایجاد می‌کند. ساختار، ترکیب شیمیایی و ضخامت دیواره سلول در باکتری‌های گرم- مثبت و گرم- منفی متفاوت می‌باشد، به همین دلیل از این دو باکتری به عنوان نمونه‌ای برای بررسی تأثیر رفع آلودگی پلازما بر روی باکتری‌های گرم- مثبت و منفی استفاده کردیم.

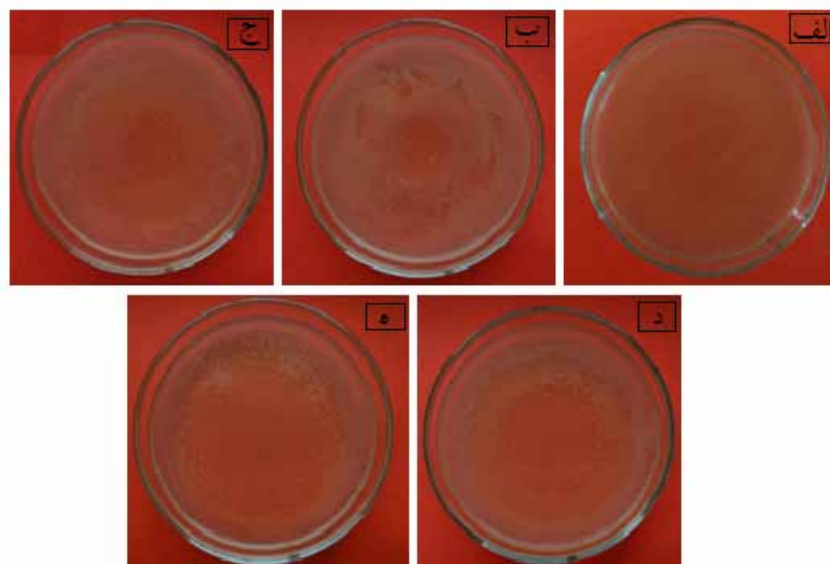
برای محاسبه توان از داده‌های ثبت شده با اسیلوسکوپ استفاده نمودیم. جریان ثبت شده متشکل از یک جریان جابه‌جایی و یک جریان پلازما است. لذا ابتدا جریان جابه‌جایی مدار را از جریان کل تفریق نمودیم و سپس جریان خالص پلاسمایی را مد نظر قرار دادیم. توان تزریق شده به پلازما برای جت سه‌گانه در ولتاژ خروجی ۴ kV مقدار  $3.3 \text{ w/cm}^3$  محاسبه شد. همچنین با استفاده از رسم بولتزمن [۱۵] و نتایج بیناب سنجی بخش ۲.۴، مقدار دمای تحریک الکترونی بین دو الکتروود مقدار  $T_e = 4686 \text{ k}$  به دست آمد.

هم‌چنان که در شکل ۸ (ه) مشاهده می‌شود غلظت اکسیژن اتمی تولید شده توسط جت پلازما قابل ملاحظه است.

#### ۲.۶. اندازه‌گیری غلظت ازن

ازن به عنوان یک عامل اکسید کننده قوی که شکل‌گیری آن توسط پیوند سه اتم اکسیژن است، در بسیاری از کاربردهای صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، همچنین ازن به طور گسترده برای پرداخت، اکسیداسیون، رفع آلودگی و دفع عفونت استفاده می‌شود. در این تحقیق، پارامترهایی که در فرآیند تولید ازن مهم هستند، شامل اندازه و ولتاژ اعمالی، سرعت شارش گاز، نوع گاز مورد استفاده یا مخلوط گاز زمینه با گاز دیگر، ابعاد الکتروود و فاصله آنها می‌باشد. [۱۶]. میزان غلظت ازن تولید شده در این

۱. Luria-Bertani



شکل ۹. کلنی‌های موجود بعد از پردازش با جت پلاسمای مجزا: (الف) محیط کشت محتوی باکتری *E. coli* قبل از پردازش با پلاسمای (ب) ۶۰ ثانیه، (ج) ۱۵۰ ثانیه، (د) ۳۰۰ ثانیه و (ه) ۴۸۰ ثانیه پردازش با پلاسمای را نشان می‌دهند.

#### ۱. ۲.۷. روش کشت

کدورت محیط است که مطابق روش عمومی استاندارد مک فارلند بیانگر  $3 \times 10^9$  تعداد کلنی باکتری بر میلی‌لیتر LB است. در استرلیزه کردن محیط کشت مایع، ۶ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری جوان *E. coli* با  $OD_{600nm} = 0.25$  در ظرف شیشه‌ای استریل با قطر ۷۰ میلی‌متر اضافه شد. در محیط کشت جامد ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری کشت داده شده جوان *S. pyogenes* و *E. coli* به طور جداگانه، توسط میله شیشه‌ای L شکل بر روی سطح LB جامد پخش شدند. در هر دو روش یک ظرف برای کنترل در نظر گرفته شد. باکتری‌ها پس از آماده سازی در محیط کشت‌های مایع و جامد، تحت تأثیر جت پلاسمای سه‌گانه و مجزا قرار گرفتند. لازم به ذکر است که کلیه مراحل کشت و رقیق سازی در شرایط استریل، در زیر هود و در کنار شعله انجام شدند. همچنین فاصله نوک نازل تا پتری دیش‌ها ۲۸ mm تنظیم و از زمان‌های ۶۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۸۰ ثانیه، برای جت مجزا استفاده گردید.

#### ۸. ۲. نتایج اثر پلاسمای

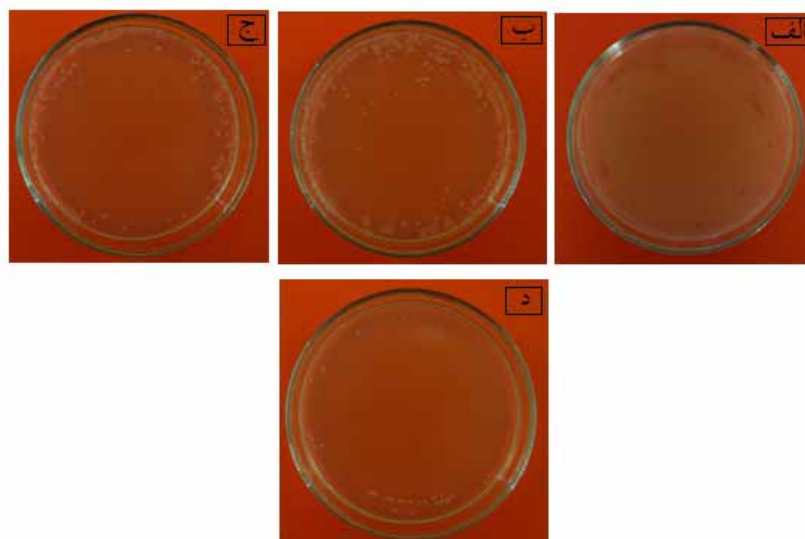
نتایج حاصل از پردازش محیط LB جامد توسط جت پلاسمای مجزا و سه‌گانه بعد از گذشت زمان به ترتیب در شکل‌های ۹

برای تهیه یک لیتر محیط کشت LB مقدار ۱۰ گرم باکتوتریپتون، ۵ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم کلرید سدیم، با آب مقطر به حجم یک لیتر رساندیم. محیط کشت در فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتری استریل ریخته شد و در دمای  $120^{\circ}C$  برای مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱.۵ اتمسفر اتوکلاو شد. برای تهیه محیط کشت LB جامد (LB واجد آگار) مقدار ۱۵-۱۸ گرم آگار به ازای یک لیتر از LB به محیط اضافه گردید و بعد از اتوکلاو در پتری دیش‌ها ریخته شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای  $37^{\circ}C$  درون انکوباتور قرار گرفت. نمونه‌های باکتری لیوفیلیزه *E. coli* ATCC 35218 و *S. pyogenes* PTCC 1447 از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. مقدار یک لوپ باکتری *E. coli* به ۱۵ میلی‌لیتر LB مایع تلقیح شد و در  $37^{\circ}C$  برای ۱۲ ساعت در انکوباتور شیکر دار قرار داده شد. بعد از این بازه زمانی، یک میلی‌لیتر از محیط رشد یافته در ۱۵ میلی‌لیتر محیط LB تازه دوباره تلقیح و در  $37^{\circ}C$  انکوبه شد تا باکتری‌ها به فاز لگاریتمی رشد وارد شدند تا چگالی نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر به مقدار جذب  $0.25$ ،  $OD_{600nm} = 0.25$ ، رسید. منظور از چگالی نوری محیط یا OD،

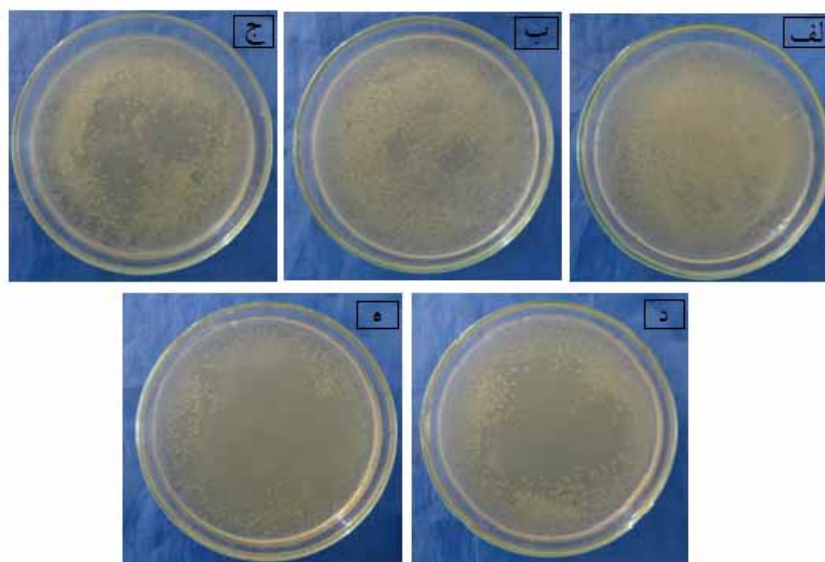
۱. Bacto Tryptone

۲. Optical Density





شکل ۱۰. کلنی‌های موجود بعد از پردازش با جت پلاسمای مجزا: (الف) محیط کشت محتوی باکتری *S. pyogenes* قبل از پردازش با پلاسما، (ب) ۱۵۰ ثانیه، (ج) ۳۰۰ ثانیه و (د) ۴۸۰ ثانیه پردازش با پلاسما را نشان می‌دهند.

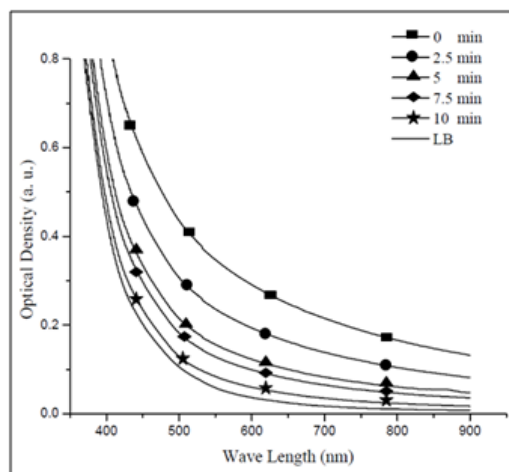


شکل ۱۱. کلنی‌های موجود بعد از پردازش با جت پلاسمای سه‌گانه: (الف) محیط کشت محتوی باکتری *E. coli* قبل از پردازش با پلاسما، (ب) ۳۰ ثانیه، (ج) ۹۰ ثانیه، (د) ۱۵۰ ثانیه و (ه) ۲۳۰ ثانیه پردازش با پلاسما را نشان می‌دهند.

کدورت سنجی که با استفاده از طیف سنج UV/VIS Rayleigh-1600 اندازه‌گیری گردید در شکل ۱۲ نشان داده شده است. مساحت زیر نمودار این منحنی، میزان باکتری‌های موجود در محیط را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۱۲ مشاهده می‌شود در مدت زمان ۱۰ دقیقه پردازش محیط مایع محتوی باکتری توسط جت پلاسمای سه‌گانه، نمودار کدورت سنجی،

تا ۱۱ نشان داده شده است، با توجه به شکل، روند کاهشی تعداد کلنی‌های این باکتری با افزایش زمان پردازش مشاهده می‌شود. از دستگاه جت پلاسمای سه‌گانه در رفع آلودگی محیط مایع نیز در زمان‌های ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دقیقه استفاده شد. فاصله نوک نازل تا پتری دیش حاوی باکتری ۲۱ mm تنظیم گردید. نتایج تأثیر پردازش پلاسما در محیط LB مایع توسط منحنی

منجر به افزایش طول واهلش انرژی می‌گردد. هردو فرآیند مذکور منجر به افزایش طول جت پلاسما می‌گردند. از طرف دیگر با افزایش هر چه بیشتر سرعت گاز (در شکل ۲ (ب) نشان داده نشده است)، طول شعله و جت به شدت افت می‌کند که ناشی از اتلاف زیاد پلاسما اعم از یون‌ها و الکترون‌ها می‌باشد. در استفاده از گاز نیتروژن و اکسیژن به عنوان گازهای افزودنی به گاز آرگون شاهد این بودیم که، طول جت کاهش می‌یابد، این امر به این دلیل است که ضریب یونیزاسیون گازهای اکسیژن و نیتروژن کوچک‌تر از ضریب یونیزاسیون گاز آرگون می‌باشد. به عبارتی بر اساس منحنی پاشن<sup>۱</sup> دارای ولتاژ شکست بالاتری هستند [۱۷]. بنابراین افزایش مقدار بیشتری از این گازها در ولتاژ ثابت موجب خاموش شدن پلاسما آرگون خواهد شد. در بررسی مشخصات الکتریکی با مقایسه قسمت (الف) و (ب) در شکل ۴ مشاهده شد که رگه‌های جریان در نمودار جریان- زمان جت سه‌گانه بیشتر از جت مجزا است، علت این امر افزایش تعداد جت از یک عدد به سه عدد است. از آنجا که در هر یک از جت‌ها، رگه‌های جریان<sup>۲</sup> به صورت غیر همزمان روی می‌دهند، لذا قله‌های جریان در منحنی جریان- زمان در یک نیم چرخه ولتاژ بر روی یکدیگر منطبق نخواهند شد. همچنان که در شکل ۴ (ب) دیده می‌شود در نیم چرخه مثبت ولتاژ اعمالی، تعداد زیادی از قله‌های جریان برحسب زمان ثبت شده است که در طول زمان در نیم دوره نوسان موج پخش شده‌اند. ارتفاع قله‌های جریان در نیم چرخه ولتاژ مثبت و منفی با هم برابر نیستند که این فرآیند به دلیل تفاوت در ولتاژ شکست رگه‌های جریان است که از آند یا کاتد لحظه‌ای شروع شده‌اند [۱۸]. با مقایسه خطوط طیفی حاصل از بیناب سنجی گسیل نوری از ابتدا تا انتهای شعله پلاسما، به این نتیجه رسیدیم که به دلیل این که غلظت عناصر در ابتدای شعله پلاسما نسبت به انتهای آن قوی‌تر است، شدت خطوط طیفی مشاهده شده در بیناب آن نیز قوی‌تر است، همچنین تعدادی از خطوط طیفی در انتهای شعله پلاسما حذف شده‌اند و برخی در



شکل ۱۲. نمودار کدورت سنجی LB مایع.

نزدیکی بسیار خوبی با محیط LB خالی از باکتری دارد. به این ترتیب هر دو روش بیانگر تأثیر خوب پردازش محیط محتوی باکتری توسط جت پلاسما سه‌گانه‌اند.

### ۳. بحث و نتیجه‌گیری

در پردازش سطوح یکی از عوامل مهم، افزایش سطح تماس پلاسما و نمونه مورد نظر می‌باشد به این منظور یک جت پلاسما سه‌گانه را طراحی کردیم. در این بررسی ابتدا مشخصات یک جت مجزا و سپس جت سه‌گانه بیان شد. همچنین نشان داده شد که طول جت پلاسما سرد فشار اتمسفری وابسته به عواملی از قبیل ولتاژ اعمالی، سرعت شارش گاز، نوع گاز و فاصله بین الکترودها می‌باشد. علت اشباع طول جت از یک ولتاژ خاص به بعد، تثبیت چگالی پلاسما در مد تخلیه تابان می‌باشد. با افزایش هر چه بیشتر ولتاژ اعمالی مد پلاسما تغییر کرده و از حالت تابان به قوس تبدیل می‌گردد که مورد نظر ما نمی‌باشد. همچنین دیده شد که با افزایش تدریجی سرعت شارش گاز، طول جت به حالت اشباع می‌رسد. این رفتار را می‌توان به دو عامل اصلی نسبت داد. اول این که در سرعت‌های بالاتر، اتم‌ها، یون‌ها و مولکول‌های برانگیخته که فوتون تابش می‌کنند، مسافت طولانی‌تری را قبل از واهلش می‌پیمایند. دوم، در سرعت‌های بالاتر، فشار سیال نیز کاهش می‌یابد و در نتیجه مسافت آزاد میانگین کمی افزایش یافته و

۱. Paschen

۲. Streamers

از جت سه‌گانه برای کاربردهای بیولوژیکی استفاده کردیم و به عنوان نمونه دو باکتری گرم-منفی *E. coli* و گرم-مثبت *S. pyogenes* را به کار بردیم. در مرجع [۱۹] نشان دادیم که یکی از مهم‌ترین سازوکار در کشتن باکتری (علاوه بر تخریب DNA، پروتئین‌ها و غیره) توسط پلاسمای سرد، تخریب غشای باکتری از طریق اکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌باشد. از آنجایی که پلاسمای می‌تواند منجر به تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن شود، بنابراین با افزایش زمان تیمار، بایستی میزان اکسیداسیون لیپیدهای غشایی افزایش یافته در نتیجه باکتری‌های بیشتری از بین بروند. اندازه‌گیری‌های غلظت MDA<sup>۱</sup> در زمان‌های مختلف تیمار باکتری‌ها تأیید کننده این موضوع بود [۱۹].

در این تحقیق، با استفاده از یک جت پلاسمای مجزا، سطح مؤثر استریل محیط جامد در مدت ۱۵۰ ثانیه، مقدار  $2.3 \text{ cm}^2$  اندازه‌گیری شد، این درحالی است که سطح مؤثر استریل محیط جامد با به کارگیری جت سه‌گانه در مدت ۱۵۰ ثانیه مقدار  $14.18 \text{ cm}^2$  اندازه‌گیری گردید که نشان دهنده مؤثر بودن جت‌ها در استریزه کردن می‌باشد، از طرف دیگر در استریل سطحی به اندازه سطح مقطع عرضی جت پلاسمای مجزا، فقط ۱۵ ثانیه زمان لازم است. این نتیجه می‌تواند در ساخت آرایه‌های بزرگی از جت، جهت استریل در کارگاه‌ها و خط تولید مواد غذایی، استریل سطوح و تجهیزات بیمارستانی مدنظر قرار گیرد.

#### قدردانی

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه مازندران در حمایت مالی بخشی از هزینه‌های این کار با شماره 33/D/379 در غالب طرح‌های زیست فناوری دانشگاه قدردانی می‌گردد.

آن ظاهر شده‌اند. ناپدید شدن برخی از خطوط طیفی در انتهای شعله می‌تواند به علت نیمه عمر گونه‌ها یا فرآیند باز ترکیب باشد و ظاهر شدن برخی دیگر در آن، می‌تواند به علت واکنش‌های شیمیایی ناشی از برخوردها باشد. همچنین گونه‌هایی مانند  $\text{NO}_x$ ، OH، OI، ArI، و CuI در شعله پلاسمای شناسایی شدند که نشان دهنده توانایی پلاسمای در تبدیل گونه‌های مولکولی به اتمی می‌باشد. ترکیبات  $\text{NO}_x$  در ناحیه تابش UV قرار دارند، در این ناحیه DNA موجودات زنده جذب بالایی دارد، اما به سرعت در هوا جذب می‌شوند. همچنین وجود گونه‌های بسیار واکنش پذیر اکسیژن اتمی توانایی پلاسمای در رفع آلودگی مواد را نشان می‌دهد. دمای تخمینی تحریک الکترونی نیز از روش بولتزمن به دست آمد و نتایج نشان دادند که دمای تحریک الکترونی در شعله پلاسمای ابتدا تا انتهای جت یک روند کاهشی دارد.

نتایج اندازه‌گیری نشان دادند، با افزایش سرعت شارش گاز آرگون غلظت ازن کاهش می‌یابد، که این می‌تواند به دلیل کاهش زمان بقا برای ایجاد واکنش‌های منجر به تولید ازن، باشد. همچنین افزودن مقداری اکسیژن و نیتروژن به گاز آرگون/هوا باعث افزایش غلظت ازن می‌شود. غلظت ازن برای جت سه‌گانه با گاز آرگون/هوا  $3.31 \text{ ppm}$  در سرعت شارش دو لیتر بر دقیقه می‌باشد، در صورتی که برای جت مجزا  $0.2 \text{ ppm}$  در همان سرعت شارش به دست آمد، این میزان نشان می‌دهد که غلظت ازن جت سه‌گانه به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از جت مجزا می‌باشد، بنابراین اثرات پاکسازی بیشتری می‌تواند داشته باشد (جدول ۱). همچنان که در شکل ۱ (ج) دیده می‌شود سطح مؤثر پلاسمای به وضوح در جت سه‌گانه افزایش چشمگیری داشته است که می‌تواند در فرآیندهای پردازش و استریل بسیار مفید واقع شود.

#### مراجع

4. E Stoffels, *Contrib. Plasma Phys.* **47** (2007) 40.
5. K G Donohoe and T Wydeven, *J. Appl. Polym. Sci.* **23** (1979) 2591.

1. N Georgescu, *Rom. Rep. Phys.* **60** (2008) 1025.
2. M A Lieberman and A J Lichtenberg, "principles of Plasma Discharges and Materials Processing," John Wiley & Sons, Inc., New Jersey (2005) 6.
3. M Laroussi et al., *Plasma Process. Polym.* **3** (2006) 470.

۱. Malondialdehyde

- A Valinataj, *Biochemical Engineering Journal* **51** (2010) 189.
14. C Cheng, L Peng, X Lei, Z L Ye, and Z R Juan, *Chin. Phys.* **15** (2006) 1544.
15. K T A L Burm, *Plasma Phys.* **47** (2007) 1772.
16. Z Buntat, *Appl. Phys. Research.* **1** (2009) 1.
17. A A Kruithof, *J. Appl. Phys.* **7** (1940) 519.
18. K H Becker *et al.*, "Non-Equilibrium Air Plasmas at Atmospheric Pressure", Institute of Physics Publishing, Bristol, Philadelphia (2005).
19. A Hossienzadeh Colagar, F Sohbatzadeh, H Memariani, and S Motallebi, *submitted to the Journal of Biological Physics* (2012).
6. J L Walsh and M G Kong, *Appl. Phys. Lett.* **93** (2008) 111501.
7. F Sohbatzadeh, A Hosseinzadeh Colagar, S Mirzanejhad, and S Mahmodi, *Applied Biochemistry and Biotechnology* **160** (2010) 1978.
8. S Peng *et al.*, *Appl. Surf. Sci.* **256** (2010) 4103.
9. H Yu *et al.*, *J. Appl. Microbiol.* **101** (2006) 1323.
10. V Leveille and S Coulombe, *Plasma Process. Polym.* **3** (2006) 587.
11. A Lupu and N Georgescu, *Romm. Rep. Physics* **65** (2013) 219.
12. M Mankour, A W Belarbi, and K Hartani, *Romm. Rep. Physics* **65** (2013) 230.
13. A Hosseinzadeh, F Sohbatzadeh, S Mirzanejhad, and

Archive of SID



Iranian Journal of Physics Research, Vol. 13, No. 4, 2014

## Design and construction of triplet atmospheric cold plasma jet for sterilization

F Sohbatzadeh<sup>1,3</sup>, A Hosseinzadeh Colagar<sup>2,3</sup>, S Mirzanejhad<sup>1,3</sup>, S Motallebi<sup>1</sup>, M Farhadi<sup>1</sup>, M Bagheri<sup>1</sup>,  
H Memariani<sup>3</sup>, A Valinataj<sup>1</sup>, and M Mortazavi<sup>3</sup>

1. Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2. Molecular and Cell Biology Department, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

3. Nano and Biotechnology Research Group, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

E-mail: jafari-ab@sci.sku.ac.ir

(Received 14 October 2012 ; in final form 18 November 2013)

### Abstract

In this paper, construction of triplet atmospheric plasma jet using argon, air, oxygen and nitrogen gases is reported. Bactericidal effect of the plasma jet is also investigated. To that end, longitudinal geometric configuration for the electrodes was chosen because it would increase the jet length. Electrical characteristics, jet length dependencies on the applied voltage and gas flow rate were decided, experimentally. Relative concentrations of chemical reactive species such as ozone, atomic oxygen, NO<sub>x</sub> compounds and hydroxyl were measured using optical emission spectroscopy. It was seen that atomic oxygen and ozone concentrations with triplet plasma jet are more than the concentration of single plasma jet. Triplet plasma jet was also used for sterilization of solid and liquid surfaces to disinfect gram-negative and gram-positive *Escherichia coli* and *Streptococcus pyogenes* bacteria. The results verified the effectiveness of the triplet plasma jet for killing bacteria.

**Keywords:** atmospheric pressure cold plasma jet, triplet plasma jet, sterilization by cold plasma

For full article, refer to the Persian section