

4. *Chen F. F., Chang J. P.* Lecture Notes on Principles of Plasma Processing Kluwer/Plenum, New York, 2002.
5. *Piejak R. B., Godyak V. A., Alexandrovich B. M.*// Plasma Sources Sci. Technol. 1992. № 1. P. 179–186.
6. *Godyak V. A., Piejak R. B., Alexandrovich B. M.*// Ibid. 1994. № 3. P. 169–176.
7. *Godyak V. A., Piejak R. B., Alexandrovich B. M.*// J. of Applied Physics. 1999. V. 85. № 3. P. 703–712.
8. *Godyak V. A., Piejak R. B., Alexandrovich B. M.*// Plasma Sources Sci. Technol. 2002. № 11. P. 525–543.
9. *Александров А. Ф., Бугров Г. Э., Воробьев Н. Ф.* и др.// Прикладная физика. 1995. № 1. С. 3–22.
10. *Shamrai K. P., Alexandrov A. F., Bougrov G. E.* et al.// Quasistatic Plasma Sources: Proc. XXIII Int. Conf. Phen. Ion. Gas., 17–22 July 1997, Toulouse — France.
11. *Alexandrov A. F., Kralkina E. A., Obukhov V. A.* et al.// Journ. Moscow Phys. Soc. 1996. V. 6. P. 113–120.
12. *Alexandrov A. F., Bugrov G. E., Kralkina E. A.* et al.: Proc. XXV Int. Conf. Phen. Ion. Gas., 19–24 July 2001, Nagoya, Japan.
13. *Александров А. Ф., Бугров Г. Э., Вавилин К. В.* и др.// Физика плазмы. 2004. Т. 30. № 5.
14. *Boswell R. W.*// Plasma Phys. Contr. Fusion, 1984. V. 26. P. 1147.
15. *Chen F. F.*// Ibid. 1983. V. 1. Plenum Press. N-Y — London.
16. *Chen F. F., Chevalier G.*// Journ. Vac. Sci. Techn. 1992. V. A10. P. 1389.
17. *Chen F. F., Amush D.*// Plasma Phys. 1997. V. 4. P. 3411.
18. *Shamrai K. R., Taranov V. B.*// Plasma Sources Sci. Techn. 1999. V. 5. P. 474.

Статья поступила в редакцию 30 марта 2005 г.

## Examination of an inductive high-frequency discharge as the self-consistent system

### Part I. Features to be observed at the experimental examination of an inductive high-frequency discharge, located in an exterior magnetic field

*A. F. Aleksandrov, G. E. Bugrov, K. V. Vavilin, I. F. Kerimova, E. A. Kralkina, V. B. Pavlov, V. Yu. Plaksin*

Physical Faculty of the Moscow State University, Moscow, Russia

*A. A. Rukhadze*

General Physics Institute, Moscow, Russia

*In the present series of works consideration is made to features of behaviour of a high-frequency discharge with a magnetic field and without one. Consideration is made with an unified position, which views the discharge as a self-consistent system, in which a share of power of a high-frequency generator, immersed by plasma, is determined with parameters of the plasma. The experimental data, boosting the occurrence of all cycle of examinations, are collected in the first part of this series of works.*

УДК 533.9

## Бактерицидное действие компонентов плазмы атмосферного давления на *Escherichia coli*

*Э. А. Соснин, С. М. Авдеев, Е. А. Кузнецова,  
Л. В. Лаврентьева, М. В. Ерофеев*  
Томский государственный университет, г. Томск, Россия

*А. И. Суслов*

Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск, Россия

*Представлены результаты экспериментальных исследований особенностей бактерицидного действия компонентов плазмы атмосферного давления на культуру *Escherichia coli*. Показано, что наилучшим стерилизующим действием обладает комбинация таких компонентов плазмы как УФ-излучение на  $190 < \lambda < 220$  нм и электронейтральные частицы.*

Начиная с 60-х гг. как одна из альтернатив методам холодной стерилизации (химическая обработка) и стерилизации УФ-излучением (УФ-стерилизация [1–4]) поверхностей, газов и жидких сред рассматривается стерилизация в

условиях частично ионизованного газа [5–9]. В этом случае стерилизующим агентом служит плазма газового разряда (плазменная стерилизация). Плазма — это многокомпонентная система, включающая излучение плазмы, заряженные

частицы и электронейтральные частицы, являющиеся химически активными (радикалы, возбужденные атомы и молекулы). Таким образом, плазма выступает одновременно и как источник излучения, часть которого обладает бактерицидными свойствами, и как химически активная среда.

Несмотря на большое количество исследований влияния плазмы на микроорганизмы, до последнего времени почти не было исследований, позволяющих оценить действие различных ее компонентов на микроорганизмы. Исключением является работа [5], где изучены особенности стерилизации медицинского инструмента плазмой тлеющего разряда низкого давления ( $5-25 \cdot 10^{-2}$  Торр) в воздухе, кислороде, аргоне, водороде, углекислом газе и азоте. Показано, что в описанных условиях основным стерилизующим фактором для открытых поверхностей, зараженных спорами *Bac. subtilis* (которые в предварительных опытах оказались самыми устойчивыми к действию плазмы), является УФ-излучение, а для поверхностей сложной формы важную роль играют активные частицы атомарного кислорода и электронно-возбужденных молекул  $O_2$ .

Однако необходимы и другие исследования. Это связано с тем, что у спор, бактерий и живых клеток различное строение и, возможно, различная восприимчивость к действию различных компонентов плазмы. Например, разрушение клеток и бактерий в условиях низких давлений (единицы-десятки Торр в [5]) может происходить за счет механической разницы внутриклеточного давления и давления внешней среды, в которой существует плазма тлеющего разряда. Поэтому имеет смысл продолжить эти эксперименты в условиях атмосферного давления, используя для этого не споры, устойчивые к действию низких давлений, а какие-либо распространенные патогенные бактерии.

В данной работе изучено бактерицидное действие различных компонентов плазмы атмосферного давления на тест-культуру *Escherichia coli* (музейный штамм из Американской национальной академии, серийный номер K12 ATCC 25922). *E. coli* проявляет самую низкую чувствительность среди энтеробактерий к разного рода воздействиям, а потому считается важным тест-объектом для оценки санитарно-эпидемиологического состояния окружающей среды. Штаммы культивировали в мясопептонном агаре при температуре 4 °С. В предварительных опытах на основе метода кратных разведений нами была определена оптимальная для опытов концентрация микробной взвеси. В рамках основного эксперимента проводили облучение зараженных бактериальной культурой поверхностей.

В качестве источника плазмы использовался высокочастотный разряд на воздухе при атмосферном давлении (рис. 1). Разряд зажигался в

промежутке между высоковольтным и заземленным электродами в микробиологическом боксе. Длина разрядного промежутка составляла 7–8 мм. Ток разряда не превышал 45 мА, а потребляемая генератором мощность составляла 76,5 Вт. Генератор создавал пакеты высоковольтных импульсов с регулируемой частотой их следования от 9,1 до 65,2 кГц и КПД преобразования потребляемой мощности в мощность ВЧ-разряда порядка 10 %. Плазма зажигалась на расстоянии 7–8 мм от подложки, на которую наносился слой бактерий с известной концентрацией. В ходе облучения подложка перемещалась под область 7 (см. рис. 1) так, чтобы обеспечивалось равномерное облучение всей поверхности. Время обработки фиксировалось. После облучения подложки выдерживали в термостате при температуре 37 °С в течение 2 сут. На третьи сутки проводили подсчет колоний микроорганизмов, чтобы судить об эффективности стерилизации.

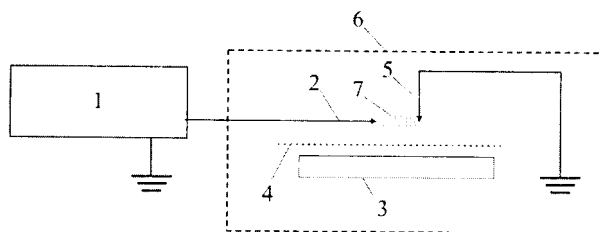


Рис. 1. Схема экспериментальной установки:

1 — генератор плазмы; 2 — высоковольтный электрод; 3 — облучаемый образец; 4 — плоскость, в которой располагались фильтры; 5 — заземленный электрод; 6 — микробиологический бокс; 7 — область, занимаемая плазмой

Спектр излучения плазмы в области 200–900 нм показан на рис. 2. Плотность мощности излучения на облучаемой подложке во всех опытах составляла 48 мкВт/см<sup>2</sup>. Доля энергии в диапазонах длин волн 200–220, 220–300 и 300–670 нм составляла 45, 22 и ~30 %, соответственно.

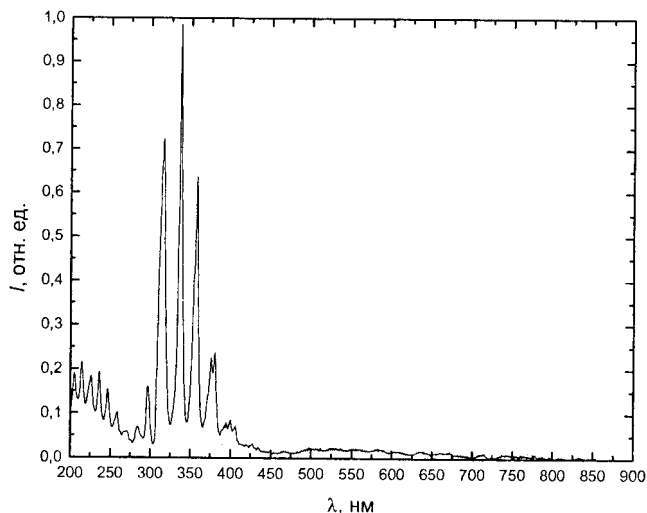


Рис. 2. Спектр излучения плазменной иглы

Проводилось как прямое облучение подложки, так и опосредованное. При опосредованном облучении между плазмой и подложкой помещали различные элементы: светофильтры и металлическую сетку. Спектры пропускания светофильтров показаны на рис. 3. Светофильтры позволяли оценить действие различных участков спектра излучения плазмы на *E. coli*. Металлическая сетка имела 66%-ное пропускание для излучения, и, как показано в [5], являлась фильтром для заряженных частиц плазмы, пропуская электронейтральные частицы. Так обеспечивалась возможность оценки действия различных компонентов плазмы на бактериальную культуру при атмосферном давлении, т. е. в условиях, типичных для УФ-стерилизации. Как следствие, становилось возможным сравнение между плазменной и УФ-стерилизацией в близких условиях.

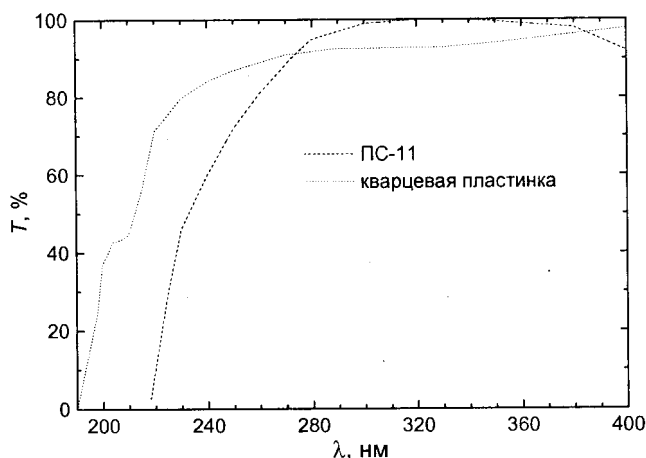


Рис. 3. Спектры пропускания светофильтров

На рис. 4 представлена диаграмма выживаемости культур при времени обработки образца 60 с в различных условиях. Видно, что наименьший стерилизующий эффект оказывает облучение через светофильтр ПС-11, пропускающий длины волн  $\lambda > 220$  нм, хотя в этом диапазоне плазма излучает более 50 % световой энергии. В сравнении с этим использование кварцевой пластинки, пропускающей излучение на  $\lambda > 198$  нм, дает заметно больший стерилизующий эффект. Максимальный стерилизующий эффект был получен при использовании металлической сетки и при прямом облучении.

Известно [10], что коротковолновое УФ-излучение благоприятно для инактивации микроорганизмов потому что:

- фотоны с  $\lambda < 240$  нм окисляют липидные оболочки клеток без присутствия кислорода, что в некоторых случаях приводит к необратимому лизису биологических мембран и летальному исходу для споры или клетки;

- молярный коэффициент поглощения  $\epsilon$  всех нуклеиновых кислот на  $\lambda < 230$  нм увели-

чивается и может превысить  $\epsilon$  для традиционно выделяемого бактерицидного участка спектра с длинами волн 250–290 нм.

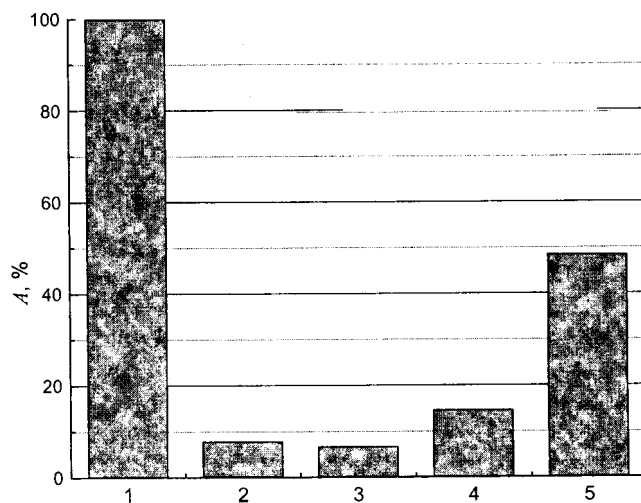


Рис. 4. Диаграмма вклада различных компонентов плазмы в инактивацию *Escherichia coli*:

1 — контроль (необлученный образец); 2 — прямое облучение; 3 — облучение через металлическую сетку; 4 — облучение через кварцевую пластинку; 5 — облучение через пурпурный светофильтр ПС-11

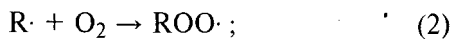
В обычных условиях (на воздухе, при атмосферном давлении) излучение с  $\lambda < 190$  нм практически полностью поглощается. Поэтому в случае 3 полученный результат можно связать с действием излучения плазмы на  $190 < \lambda < 220$  нм. Кроме того, в обоих случаях 2 и 3 на подложку действовали электронейтральные частицы, а в случае 2 еще и заряженные частицы.

Таким образом, сравнение между случаями 2, 3 и 4, 5 показывает, что наилучшим стерилизующим действием обладает комбинация таких компонентов плазмы как ультрафиолетовое излучение на  $190 < \lambda < 220$  нм и электронейтральные частицы.

Интересно, что стерилизующий эффект от прямого действия 2 оказался даже немного меньшим, чем для случая 3, где 34 % потока излучения экранировалось сеткой. Возможно, это связано с тем, что при переносе нейтральных и заряженных частиц от разряда к подложке происходит их взаимная рекомбинация, а при использовании металлической сетки транспортируются только радикалы и возбужденные атомы и молекулы, которые тоже рекомбинируют, но в меньшей степени. Поэтому их взаимодействие с подложкой компенсирует экранирующий эффект сетки по сравнению с прямым воздействием.

Для выяснения механизма воздействия УФ-излучения и частиц плазмы на бактериальные культуры были сделаны оценки потоков фотонов и свободных радикалов от разряда на поверхность подложки. В оценках учитывалось воздействие частиц на ДНК и мембранные липиды.

Согласно [10] наиболее эффективным механизмом воздействия свободных радикалов на бактерии является перекисное окисление мембранных липидов:



где  $X \cdot$  — свободный радикал, инициирующий цепной процесс;

$RH$  — молекулы липидов.

Для упрощения расчетов в качестве активного компонента рассматривался озон, который эффективно образуется в сухом воздухе при средней мощности ВЧ-разряда 8,6 Вт и является устойчивой молекулой, способной инициировать процесс пероксидного окисления мембран. В случае озона реакцию (1) следует заменить на



Для оценки воздействия озона на бактерии определялась концентрация в области разряда и оценивался поток молекул на поверхность. Расчет концентрации озона в разряде проводился по программе, описанной в работе [11]. При этом расчетные концентрации озона в занимаемом плазмой объеме составили 1 %. На расстоянии 0,7 см от разряда диффузионный поток молекул  $O_3$  на подложку при этой концентрации составлял в среднем  $7 \cdot 10^{14}$  см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Каждый акт инициирования (1) вызывает длинную цепь превращений липидов в продукты неполного окисления ненасыщенных жирных кислот. Длина цепи процесса (1)—(3) в соответствии с [10] составляет порядка  $10^2$ . Образование продуктов окисления липидов сопровождается существенным увеличением чувствительности мембран по отношению к УФ-излучению, поэтому в оценках предполагалось, что каждый акт инициирования (1) сопровождается инактивацией клетки. Учитывая, что клетка имеет сечение порядка  $\sim 10^{-12}$  см<sup>2</sup> и типичное значение вероятности процесса (4) составляет  $\sim 10^{-5}$ , получим частоту гибели бактерий  $\sim 0,01$  с<sup>-1</sup>. Более точные оценки воздействия радикалов получить довольно трудно из-за отсутствия надежных данных по сечениям процесса (4).

Что касается УФ-излучения, то несмотря на сложный характер процессов поглощения фотонов в газовой фазе и на подложке, наиболее интенсивному воздействию фотонов подвергаются молекулы ДНК из-за большого сечения инактивации бактерий (порядка  $10^{-13}$  см<sup>2</sup>) [12]. Если исходить из этого предположения, то число "выживших" клеток должно убывать со временем по экспоненциальному закону. Частота гибели бактерий в диапазонах длин волн 220—300 и

190—220 нм составит 0,013 и 0,007 с<sup>-1</sup>, соответственно. Эти цифры хорошо согласуются с экспериментальными измерениями.

Проведенные оценки являются существенным упрощением по сравнению с реальной картиной процессов. Кроме рассмотренных эффектов, на конечный результат эксперимента влияют совместное воздействие УФ-излучения и свободных радикалов (эффект сенсibilизации клеток), воздействие УФ-излучения на свободные радикалы и стабильные продукты, образующиеся в разряде. Тем не менее проведенные оценки позволяют получить качественное представление о происходящих процессах.

Таким образом, ключевыми факторами стерилизующего действия плазмы атмосферного давления в наших условиях на бактериальные культуры являются УФ-излучение с  $\lambda < 230$  нм и электронейтральные химически активные частицы. Поскольку при атмосферном давлении скорость рекомбинации таких частиц и поглощение излучения на  $\lambda < 200$  нм высоки, то наилучшим решением для оптимизации воздействия плазмы на подложку было бы использование технологии плазменной иглы [8, 9], в которой нетермическая плазма зажигается прямо на зараженную подложку. Этим обеспечивается лучший транспорт коротковолнового излучения и химически активных частиц к подложке. Однако эта технология нуждается в оптимизации. В дальнейшем, учитывая различия в строении и чувствительности микроорганизмов, необходимо провести исследование стерилизующего действия плазмы на споры и живые клетки.

*Авторы выражают благодарность Ю. А. Поплавскому (Институт оптики атмосферы СО РАН) за техническую поддержку. Работа поддержана грантом РФФИ-Голландия (РФФИ-NWO) № 04-02-89001-НВО\_a по программе «Dutch-Russian Research Cooperation»*

#### Литература

1. Giese N., Darby J. // Wat. Res. 2000. V. 34. № 16. P. 4007.
2. Sosnin E. A., Lavrent'eva L. V., Yusupov M. R. et al. // Proc. of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields, Rhodes, Greece (October 7—11), 2002. P. 953.
3. Соснин Э. А., Лаврентьева Л. В., Мастерова Я. В. и др. // Письма в ЖТФ. 2004. Т. 30. № 14. С. 89.
4. Лаврентьева Л. В., Мастерова Я. В., Соснин Э. А. // Вестник Томского государственного университета. Серия: биологические науки. Приложение. 2003. № 8. С. 108.
5. Солошенко А. И., Циолко В. В., Хомич В. А. и др. // Физика плазмы. 2000. Т. 26. № 9. С. 845.
6. Lerouge S., Wertheimer M. R., Yahia L. H. // Plasmas and polymers. 2001. V. 6. № 3. P. 175.
7. Larossi M. // IEEE Trans. Plasma Science. 2002. V. 30. № 4. P. 1409.

8. *Stoffels E., Kieft I. E., Sladek R. E. J.*// J. Phys. D. Appl. Phys. 2003. V. 36. P. 2908.

9. *Sosnin E. A., Stoffels E., Erofeev M. V., Kieft I. E., Kunts S. E.*// IEEE Transactions on Plasma Science. 2004. V. 32. № 4. P. 1544.

10. *Владимиров Ю. А., Потапенко А. Я.* Физико-химические основы фотобиологических процессов. — М.: Высш. шк., 1989.

11. *Новоселов Ю. Н., Рыжов В. В., Сулов А. И.*// ЖТФ. 1999. Т. 69. Вып. 1. С. 49.

12. *Setlow R. B.*// Mutation research/Reviews in Mutation Research. 2002. V. 511. № 1. P. 1.

*Статья поступила в редакцию 28 декабря 2004 г.*

## **Bactericidal action of atmospheric pressure plasma components on *Escherichia coli***

*E. A. Sosnin, S. M. Avdeev, E. A. Kyznetsova, L. V. Lavrent'eva, M. V. Erofeev*  
Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

*A. I. Syslov*

High Current Electronics Institute of SB of RAS, Tomsk, Russian Federation

*The study of features of atmospheric pressure plasma components impact on *Escherichia coli* bacterial culture are presented. It is shown, that the best sterilizing action has the combination of such plasma components as UV radiation at  $190 < \lambda < 220$  nm and electroneutral particles.*

\* \* \*