بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم پایه

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته فیزیک اتمی و مولکولی

موضوع:

بررسی و مقایسه ی اثر تابش فرابنفش، ذرات باردار پلاسما و رادیکال فعال بر روی باکتری *Escherichia coli*

استاد راهنما:

دکتر فرشاد صحبت زاده

دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر

استاد مشاور:

دکتر سعید میرزانژاد

اساتید داور:

دکتر محمد مهدوی

دکتر علی بهاری

دانشجو:

سمیه محمودی خطیر

تیرماه ۱۳۸۸

تقدیر و تشکر:

اعتراف می‌کنم که نه زبان شکر تو را دارم و و نه توان تشکر از بندگان تو، و اما بر حسب وظیفه

- ✓ **از اساتید ارجمندم آقایان دکتر فرشاد صحبت زاده و دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر به پاس راهنمایی های ارزنده ی ایشان در طول پایان نامه خاضعانه سپاسگزارم.**
- ✓ **از آقای دکتر سعید میرزانژاد که به عنوان استاد مشاور مرا در این تحقیق همراهی نمودند تشکر می نمایم.**
- ✓ **از تمامی اساتید محترم گروه فیزیک به پاس آموخته هایم تشکر می کنم.**
- ✓ **از کلیه دانشجویان آزمایشگاههای فیزیک به خصوص خانم ها، قلندری، امیری، رستم پوران، ولی نتاج، قلی زاده، حیدری، مهدوی تشکر می کنم.**
- ✓ **از کلیه دانشجویان آزمایشگاه سلولی و مولکولی زیست شناسی بخصوص خانم ها، بادبر، احمدی، قلی نژاد، آقایان طهماسب پور، جلیلوند و دیگر دوستان متشکرم.**
- ✓ **از پدر، مادر، خواهر ، برادرانم و دخترعمه ی عزیزم و همه عزیزانی که با محبت خود و با تحمل دشواری‌ها، سبب شدند تا در کمال آسودگی خیال و فراغت بال، شوق آموختن در من زنده بماند صمیمانه سپاسگزارم و این چیزی جز جلوه ای از لطف و رحمت پرودگاری که از ادای شکر حتی یک نعمت او ناتوانم نمی تواند باشد.**

چکیده

ضدعفونی بیولوژیکی با استفاده از تخلیه ی گاز غیرحرارتی در فشار اتمسفر موضوع تلاش پژوهشی مهم در حال حاضر می باشد. ساختار هندسی جدید تخلیه ی سد دی الکتریک (DBD) در فشار اتمسفر توسعه داده شد و برای استریلیزاسیون گونه های باکتری به کار گرفته شد. چشمه ی پلاسما با یک منبع تغذیه ی AC در ۵۰HZ و ولتاژ 5400Vrms راه اندازی شد. از گاز اکسیژن با خلوص ۹۹/۹۹ درصد برای تولید پلاسما استفاده شد. به منظور ارزیابی اثر تجربی پس تاب پلاسمای اتمسفری غیرحرارتی روی اندیکاتورهای باکتری، سوسپانسیون های گونه های باکتری گرم منفی (*Escherichia coli*; ATCC 35218, *Pseudomonas aeuroginosa*; ATCC 27853) با پس تاب پلاسمای اتمسفری غیرحرارتی برای ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه پردازش شدند. نتایج طیف سنجی نشان داد که کاهش بقا برای *P. aeuroginosa* در زمان تابش ۱۰ دقیقه و *E. coli* در زمان تابش ۱۵ دقیقه به ۱۰۰ درصد رسید. در این تحقیق ضدعفونی بیولوژیکی با پس تاب پلاسمای غیرحرارتی تخلیه ی گاز در فشار اتمسفر روی کشتن نمونه های باکتری به وسیله ی اکسیداسیون و آسیب به غشا یا مولفه های سلولی به وسیله ی گونه های گاز واکنش پذیر تولید شده متمرکز شد. اثر غیرمستقیم پس تاب پلاسمای غیرحرارتی منجر به غیرفعال سازی معادل با پردازش مستقیم شد، می توان نتیجه گرفت که اثر ذرات باردار پلاسما در برهم کنش با نمونه های باکتری جزئی می باشد.

کلمات کلیدی: تخلیه سد دی الکتریک؛ پلاسمای اتمسفری غیر حرارتی؛ استریلیزاسیون؛ اشرشیاکلی؛ سودوموناس آئروژینوزا؛ باکتری

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
خلاصه فارسی	ج
فهرست مطالب	د
فهرست اشکال و جداول	و
فصل اوّل- مقدمه	۱
۱-۱- استریلیزاسیون پلاسمایی	۲
۱-۲- پلاسماهای اتمسفری	٦
۱-۳ - تخلیه ی سد دی الکتریک	۸
فصل دوّم- پلاسما و باکتری	۱۰
۲-۱ - ساختار باکتری	۱۱
۲-۲ - باکتری *E. coli* و *P. aeruginosa*	۱٤
۲-۳ - برهم کنش پلاسما با نمونه	۱٦
۲-٤ - عوامل فعال پلاسما	۱۸
۲-۵- شیمی تخلیه های الکتریکی	۲۹
فصل سوّم- مواد و روش ها	۳۳
۳-۱- منبع تغذیه	۳٤
۳-۲- طراحی و ساختار نازل	۳۵
۳-۳ - مونتاژ نازل پلاسما و چینش آزمایش	۳٦
۳-٤ - تولید پلاسمای اتمسفری	۳۸

۳-۵- استریلیزاسیون باکتری در محیط کشت ۳۹

۳-۵-۱- محیط کشت LB ۳۹

۳-۵-۲ - تهیه، کشت و آماده سازی باکتری ۴۰

۳-۶- آزمایش استریلیزاسیون ۴۱

فصل چهارم: بحث و نتایج ۴۳

۴-۱- اثر پس تاب مستقیم پلاسمای غیرحرارتی اتمسفری روی حیات باکتری ها ۴۴

۴-۲- اثر ذرات باردار روی حیات باکتری های *E. coli* و *P. aeuroginosa* ۴۷

۴-۳- مکانیزم های پیشنهادی در استریلیزاسیون با پلاسمای پس تاب غیرحرارتی ۴۹

۴-۳-۱- اثر رادیکال های آزاد روی باکتری ۵۰

۴-۳-۲- پراکسیداسیون لیپید غشای پلاسمایی ۵۱

۴-۳-۳ -اثر ازون روی میکروارگانیسم ها ۵۷

۴-۴- بحث و نتایج نهایی ۵۹

۴-۵- چشم انداز ۶۲

فصل پنجم: منابع ۶۳

پیوست ۷۰

فهرست اشکال و جداول

عنوان	صفحه
شکل ۲-۱- ساختار سلول باکتری	۱۱
شکل ۲-۲- نمودار هندسی غشای سیتوپلاسمی	۱۳
شکل ۲- ۳- دیوار سلول گرم منفی	۱۳
شکل ۲- ۴- تصویر *E. coli* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی	۱۴
شکل ۲- ۵- تصویر الکترونی سودوموناس آئروژینوزا	۱۵
شکل ۲-۶- جنبش های غیرفعال سازی	۲۰
شکل ۲- ۷- تصاویر SEM نمونه ی *E. coli*	۲۲
شکل ۲-۸- آسیب مستقیم DNA به وسیله ی UV	۲۴
شکل ۲-۹- تصاویر میکروسکوپ الکترون عبوری مربوط به باکتری های*E. coli* و *S. aureus*	۲۸
شکل ۳-۱- پروب high vopltage	۳۵
شکل ۳-۲- طرح کلی چشمه ی نازل پلاسمای پس تاب اتمسفری	۳۶
شکل ۳-۳- چشمه ی نازل پلاسمای پس تاب اتمسفری راه اندازی شده با توان جریان متناوب	۳۹
شکل ٤- ۱- طرح شماتیک چینش استریلیزاسیون پس تاب مستقیم	۴۵
شکل ٤- ۲- نمودار چگالی نوری در مقابل *E.coli*/ml	۴۵
شکل ٤- ۳- اثرات استریلیزاسیون پس تاب تخلیه ی سد دی الکتریک روی باکتری	۴۶
شکل ٤- ٤ - درصد کاهش بقای *E. coli* و *P. aeruginosa* پردازش شده با پلاسما در زمان های مختلف	۴۷
شکل ٤-٥- چینش آزمایشگاهی پلاسمای پس تاب غیرمستقیم	۴۸
شکل ٤-٦- طرح شماتیک چینش آزمایشگاهی پلاسمای پس تاب غیرمستقیم	۴۸
شکل ٤-۷- مکانیزم پراکسیداسیون لیپید	۵۱
شکل ٤-۸- ساختار فسفولیپید و بر همکنش ازون با اسید چرب غیراشباع در ساختار باکتری	۵۲
شکل ٤-۹- ترکیب حلقه ی دوقطبی و تجزیه ی ازونید	۵۳
شکل ٤-۱۰- اثر رادیکال هیدروکسیل در پراکسیداسیون لیپید	۵۴
شکل ۴-۱۱- اثر ازون روی سلول باکتری	۵۸
جدول ۲-۱- چگالی های یونهای اکسیژن، اتم های اکسیژن، ازون و گونه های باردار در پلاسمای DBD	۳۰
جدول ۴-۱- پتانسیل اکسایش-کاهش عوامل اکسید کننده	۶۱
پیوست ۱- نمودار کلی پایه و پخش کننده ی راکتور پلاسمای پس تاب	۷۰
پیوست ۲- نمودار کلی الکترود داخلی راکتور پلاسمای پس تاب	۷۱
پیوست ۳- نمودار کلی الکترود خارجی راکتور پلاسمای پس تاب	۷۲

مقدّمه

۱-۱- استریلیزاسیون پلاسمایی

کنترل باکتری و ضدعفونی برای ارزیابی های ایمنی صنعتی ضروری اند. صنایع پزشکی، غذایی و تصفیه ی هوا در جستجوی تکنولوژی های ضدعفونی و استریلیزاسیون پیشرفته اند. تکنیک های منتخب باید بر مسائلی مانند حساسیت حرارتی و تخریب با گرما، تشکیل فراورده های سمی، هزینه ها و ضعف در اجرا غلبه کنند. استریلیزاسیون، غیرفعال سازی میکروارگانیسم ها، اساسا در صنعت مراقبت پزشکی و بیمارستان به عنوان بخشی از جلوگیری از عفونت و اطمینان بخشی از سیستمی که عاری از باکتری و دیگر میکروارگانیسم ها باشد، استفاده می شود. غیر فعال سازی میکروارگانیسم های مضر می تواند با استفاده از روش های فیزیکی و یا شیمیایی مانند گرمای خشک بالای ۲۵۰ درجه سانتیگراد، گرما-بخار در فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۵ در جه سانتیگراد، محلول های شیمیایی یا گازها، و تابش های گاما یا فرابنفش انجام شود. اما اکثر این تکنیک های استریلیزاسیون برخی آسیب به جسم را در بر می گیرند یا استریلیزاسیون کامل را محدود می کنند [۱]. توسعه ی اخیر پلیمرها که سازگار با پردازش های استریلیزاسیون گرمای استاندارد نیستند و به دلیل محدودیت های ایمنی صنعتی، پیدایش تکنولوژی های جدید ضدعفونی را برانگیخته است [۲]. هر روزه به منظور کمینه کردن هر واکنش عفونت یا التهاب در طول جراحی، نیاز به استریلیزاسیون میلیون ها وسیله می باشد. روش های استریلیزاسیون مانند تابش گاما یا تابش با مواد شیمیایی سمی مثل اکسیداتیلن روش های موثر شناخته می شوند، اما این روش ها تنش شدیدی روی اشیای مورد استریلیزه تحمیل می کنند. از جمله فرسودگی وسایل پزشکی معنی دار است و یکپارچگی مکانیکی تجهیزات ساخته شده از پلیمرهای ناپایدار در مقابل حرارت کاهش

می یابد. پردازش گرما برای موادی که مقاومت پایین در برابر پردازش گرما دارند مناسب نیست و موجب اعوجاج در بخش های پلاستیکی و زوال وسایل جراحی می شود. استریلیزاسیون گازی پردازش با اکسید اتیلن است. این فرایند ضدعفونی مواد را برای درمان پزشکی در دمای پایین ممکن می سازد. این روش در حال حاضر سهم عمده ای در فرایند استریلیزاسیون دمای پائین دارد با این وجود، به لحاظ سمی بودن در اثرعامل بیماری زای گازی پسماند، بیماران و کاربران پزشکی را تحت تاثیر قرار می دهد و نگرانی شدید در مورد سرطان زایی بشر تقریبا از سال ۱۹۹۰ میلادی در رابطه با این فرایند آشکار شده است طوری که استفاده ی آن در ژاپن از سال ۲۰۰۰ شدیدا محدود شده است [۳]. تابش با پرتوهای گاما نیز تکنیک استریلیزاسیون شناخته در دمای پایین است. این فرایند پرهزینه است، عملکرد ایمنی آن نیاز به محیط ایزوله دارد و همچنین بر ویژگی های حجمی پلیمرها اثر می گذارد [٤]. این موقعیت ها منجر به توسعه ی تکنیک های جدیدی شد که حداقل به اندازه ی تکنیک های محقق موثرند، و شامل ویژگی های اضافی مانند زمان های پردازش کوتاه، ایمن، و حفظ ماده می باشند [٥]. استفاده از پلاسمای غیرحرارتی روش جدیدی است که بر این اشکالات غلبه می کند. توجه به تکنیک های جدید استریلیزاسیون با استناد به مقاله ها ی چاپ شده ده ساله ی اخیر به سرعت در حال رشد می باشد [۹ -٦ ،۳]. پردازش پلاسما روش استریلیزاسیون جدید در زمینه ی حفظ مواد از میکروارگانیسم هاست. پلاسمای سرد فرایند جدید بالقوه ای است که اطمینان از ایمنی میکروبیولوژیکی محصولات را ارائه می دهد و تاکید می کند که دمای گاز این پلاسماهای سرد نزدیک به دمای اتاق است. تکنیک های استریلیزاسیون پلاسما از تکنیک های در حال رشد سریع در مطالعه ضدعفونی می باشند. تکنیک های استریلیزاسیون پلاسما از مسائل مربوط به تکنیک های رایج رنج نمی برند. فرایندهای استریلیزاسیون پلاسمایی مناسب و موثرند، تنها به طور جزئی ماده را متاثر می کنند، به لحاظ محیطی بی عیب می باشند، این فرایندها سمی تولید نمی کنند، سریع و مقرون به صرفه اند. از طرفی اکثر دستگاه های استریلیزاسیون تنها می توانند در فضای بسته اعمال شوند و روش های سمی برای بدن انسان به آسانی به عنوان تصفیه کننده های هوا برای اثر میکروب کشی استفاده نمی شوند.

بنابراین پلاسماهای اتمسفری که می توانند با فضای باز اعمال شوند و گونه های واکنش پذیر زیادی مانند ازون، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن اتمی تولید می کنند، مزیت عظیمی برای کاربرد در برابر سیستم های مرسوم استریلیزاسیون دارند [۱۰]. بنابراین استریلیزاسیون پلاسمای دمای پائین تکنیک نوین است و به عنوان نویدبخش ترین تکنیک های استریلیزاسیون در نظر گرفته می شود [۱۱].

پلاسماها ترکیباتی از گونه های سنگین (مولکول ها، اتم ها، رادیکال های آزاد و یون ها) و گونه های سبک (الکترون ها و فوتون ها) می باشند که با برانگیختگی گاز به وسیله تخلیه های الکتریکی تولید شده اند. گاز پلاسمای سرد می تواند برای پردازش مستقیم سطوح آلوده استفاده شود. گونه های واکنش پذیر اکسید کننده به طور موضعی پلاسما تشکیل می شوند و می توانند با ماکرومولکول های آلاینده ها واکنش دهند [۲]. این گونه ها می توانند انرژی هایی به بزرگی ۱۰ الکترون ولت آزاد کنند که به شکستن باندهای مولکولی می انجامد و کشنده ی میکروارگانیسم هاست. تولید پلاسما به عنوان حالت چهارم ماده گونه های فعال مانند فوتون های فرابنفش، اکسیژن اتمی، ازون، و رادیکال های آزاد شامل سوپراکسید، هیدروکسیل، و اکسید نیتریک تولید می کند. این گونه های فعال می توانند موجب تغییرات در لیپیدها، پروتئین ها، و نوکلئیک اسیدها شوند و بنابراین اثرات ضدمیکروبی داشته باشند [۱۲]. این گونه های فعال عوامل استریلیزه کننده ی قوی می باشند که به لحاظ شیمیایی واکنش پذیرتر و پرانرژی تر از گونه های مرتبط با پردازش متداول شیمیایی می باشند.

پلاسما می تواند به عنوان مجموعه ای از ذرات باردار تعریف شود. این ذرات در حال برهم کنش دائم هستند. ذرات شامل فوتون ها، الکترون ها، یون های مثبت و منفی، اتم ها، رادیکال های آزاد و مولکول های برانگیخته و غیر برانگیخته می باشند. الکترون ها و فوتونها معمولا به عنوان گونه های "سبک" در مقابل با مولفه های دیگر تحت عنوان گونه های "سنگین" در نظر گرفته می شوند. در نتیجه، واژه ی "پلاسما" توصیف حالتی از ماده که گونه های سنگین ذرات خنثی یا یونیزه اند در نظر گرفته می شود که از انتقال انرژی به یک گاز ناشی می شوند. دو گروه پلاسما، یعنی حرارتی و غیرحرارتی بر حسب شرایط تولید پلاسماها می توانند تعریف شوند.

طبقه بندی پلاسما بر اساس سطوح پر انرژی نسبی الکترون ها و گونه های سنگین پلاسماست. پلاسماهای حرارتی در فشار بالا (بزرگتر و مساوی یک اتمسفر) حاصل می شوند و نیاز به توان عظیم (تا ۵۰ مگاوات) دارند تا مشاهده شوند. پلاسماهای حرارتی تقریباً با یک تعادل ترمودینامیکی موضعی بین الکترون ها و گونه های سنگین مشخص می شوند: دمای گاز تقریباً برای تمام مولفه های پلاسما یکسان است و می تواند خیلی بالا (۵-۲۰ kK) باشد. این نوع پلاسما، برای مثال، درشعله های های پلاسمای تولید شده به وسیله ی تخلیه جرقه یافت می شود. کاربرد چشمه های پلاسمای گرم که چشمه های پلاسمای حرارتی با دمای گاز بالا می باشند، منجر به سوختن مواد می گردند در نتیجه نمی توانند برای استریلیزاسیون و کاربردهای پردازش مفید باشند. به طور کل برای اثرات مطلوب پردازش، حفظ رفتار پلاسمای غیرحرارتی به اندازه ی کافی پایدار به منظور کمینه کردن فشار حرارتی اعمال شده به نمونه و تولید گونه های واکنش پذیر برای بهینه سازی فرایندها حیاتی است [۱۳]. پلاسمای تولید شده با تخلیه ی الکتریکی می تواند غیرحرارتی باشد. پلاسماهای غیرحرارتی در فشارهای پایین تر (فشار پائین و معمولی به ترتیب در حد mtorr و torr) فراهم می شوند و توان کمتری استفاده می کنند. این پلاسماها با دمای الکترون خیلی بزرگتر از دمای گاز (دمای ماکروسکوپی) مشخص می شوند و در نتیجه یک تعادل حرارتی موضعی ارائه نمی دهند. چنین پلاسمایی می تواند به وسیله ی تخلیه های الکتریکی در گازهای فشار پایین تر تولید شود. گروه سوم از پلاسماها، که محدودیت ها ی معین ندارند، به عنوان حد واسط بین دو گروه مطرح شده اند. این پلاسماهای اتمسفری، به دلیل این که نزدیک فشار اتمسفر و دمای محیط تشکیل می شوند در گروه پلاسماهای غیرحرارتی به حساب می آیند. پلاسماهای غیرحرارتی اتمسفری دارای ویژگی های اساسی شامل دمای الکترون، KTe = ۲-۵ ev و دمای گاز، KT=۰/۰۲۵ ev، می باشند. از آنجایی که این پلاسماهای دما پایین در فشار محیط نیاز به شرایط شدید ندارند از نظر تکنیکی و صنعتی مورد توجه خاص می باشند [۲]. تخلیه های اتمسفری در سال های اخیر به دلیل ارائه ی عملکرد و نیز به دلیل انواع مزایایی که دارند به طور گسترده بررسی شده اند. آزمایش مقرون به صرفه، عملکرد بدون خلا و واکنش پذیری

از جمله مزایای این تخلیه ها می باشند. تخلیه ی سد دی الکتریک (DBD) و تخلیه ی تابان با الکترودهایی با ساختار میکرو و چشمه های الکترود دندانه ای و چشمه های پلاسمای جت (تورچ های سرد) نمونه های نوعی این پلاسماها می باشند.

۱-۲- پلاسماهای اتمسفری

چندین تکنیک قادر به تولید پلاسماهای اتمسفری با دمای ماکروسکوپی نزدیک به محیط می باشند [۱۳]. چنین پلاسماها زمانی رخ می دهند که یک اختلاف پتانسیل بالا بین الکترودهای واقع در یک گاز برقرار شود. میدان الکتریکی مربوطه باید به اندازه ی کافی قوی باشد تا گاز عایق را بشکند [۱٤] یعنی گاز را از حالت دی الکتریک محض تبدیل به رسانا کند. ولتاژهای شکست در فشار اتمسفری، می توانند به اندازه ی کافی بالا باشند: از چند صد ولت تا چندین کیلوولت، بسته به نوع تخلیه (DC, AC, RF, microwave)، شکاف تخلیه و ترکیب گاز. به همین دلیل، این تخلیه ها از همه ی رویدادهای شیمیایی، صوتی و فوتونیک موجود بین دو رسانا تشکیل می شوند. بر خلاف تخلیه های فشار پائین، پلاسماهای تولید شده در این شرایط متنوع اند و با استریمرهای تولید شده با بهمن های موضعی الکترونی مشخص می شوند. نواحی یونیزه ی شدید در نوارهای باریک منتشر می شوند جایی که این نواحی به شدت میدان الکتریکی را افزایش می دهند. زمانی که یک استریمر آند را به کاتد متصل کند، کانال یونیزه شکل گرفته تخلیه ی مدار خارجی را ممکن می سازد. اگر توان مولد کافی باشد قوس[۱] الکتریکی مدار خارجی تشکیل می گردد.

مزیت کلی این تکنیک ها، به علاوه این واقعیت که این پلاسماها در فشار اتمسفر به کار انداخته شوند، این است که آن ها تشکیل فزونی ای از گونه های فعال را ممکن می سازند و می توانند نزدیک به دمای محیط راه اندازی شوند. در دهه های اخیر، پلاسماهای غیرحرارتی مسیر سریع در تکنولوژی پردازش سطح به وجود آورده

[۱] Arc discharge

اند. این پلاسماها، به دلیل واکنش پذیری منحصر به فردشان و نیز برهم کنش های شیمیایی با سطوح تقریبا قادر به پردازش هر سطحی می باشند.

تاکنون چندین کاربرد بیوپزشکی پلاسماها مانند گندزدایی باکتری از وسایل پزشکی، هوا و سطوح در معرض سوء عوامل بیولوژیکی تشخیص داده شده است. فرایندهای پلاسمای غیرحرارتی از سال ۱۹۸۰ به طور گسترده در زمینه ی تخریب فاز گازی NO_X یا اکسید نیتریک، نشئه های سمی در گازهای اگزوز خودرو که در تشکیل باران اسیدی و ازون تروپوفسفریک موثر می باشند، و تخریب ترکیبات آلی فرار مطالعه شده اند. پلاسماهای اتمسفری برای اکثر کاربردها مانند تصفیه ی هوا و استریلیزاسیون [۱۷-۱۵ ،٦] توسعه داده شده اند. اخیرا، از تخلیه های سد دی الکتریک اتمسفری در هوا با الکترودهای مسطح برای کاهش آلودگی هوا و عوامل جنگ افزار شیمیایی یا CWA[1] [۱۸] استفاده شده است. تخلیه های تابان اتمسفری برای ضدعفونی بیومتریال و کاربردهای استریلیزاسیون [۱۹ ،۳] مورد توجه می باشند. این پیشرفت های نوین پردازش موادی که تاب دمای بالا و فشار پائین ندارند (بافت های بیولوژیکی) را ممکن می سازد از جمله ی این پردازش ها می توان به پردازش سطح یا اصلاح مواد بیولوژیکی و مواد سازگار زیست شامل استریلیزاسیون، حرکت دوباره ی سلول یا حتی کاشت اتصالات میکروپروتئینی در مواد پلیمری اشاره کرد [١٤]. در سال های اخیر، دستگاه های پلاسمای اتمسفری غیرحرارتی برای چندین کاربرد مهم در پزشکی طراحی شدند. این کاربردها شامل انعقاد خون [۲۰]، حذف سلول های عصبی یا استریلیزاسیون کاواک های دندانی [١٤]، کشتن باکتری، قارچ، و ویروس روی بافت زنده [۲۱] و استریلیزاسیون پلاسما روی سطوح مختلف می باشد که توسط محققین زیادی موثر شناخته شد [۵، ۲۲].

[1] Chemical warfare agents

۱-۳ - پلاسماهای تخلیه ی سد دی الکتریک

اساس تخلیه ی سد دی الکتریک یا DBD [۱]، استفاده از یک سد دی الکتریک در شکاف تخلیه می باشند. از آنجایی که تخلیه های DBD در شرایط شدیدا غیرتعادلی در فشار اتمسفر و به صورت پایا در سطوح توان بالا بدون استفاده از منابع تغذیه ی پالسی پیشرفته، عمل می کنند دارای کاربردهای صنعتی زیادی می باشند [۲۳، ۲٤]. این پلاسماها معمولا بین صفحات فلزی موازی تخت که با یک لایه نازک دی الکتریک پوشانده می شوند، تولید می شوند. نقش مهم لایه ی دی الکتریک متوقف کردن جریان های الکتریکی و ممانعت از تشکیل اسپارک ها می باشد. زمانی که حداقل یکی از الکترودهای تخلیه با لایه ی دی الکتریک پوشانده شود، کاهش میدان الکتریکی و متوقف کردن انتقال بار به سمت الکترود نقش مهم را در متوقف کردن جریان دارد. DBD ها معمولا دارای درجه ی یونیزاسیون پائین (چگالی های الکترون $۱۰^{۹}$-$۱۰^{۱۱}$ سانتی متر مکعب) می باشند و میزان جریان های عبوری در این تخلیه ها از مرتبه ی میلی آمپر است. تخلیه های DBD اغلب اوقات تخلیه های خاموش [۲] نامیده می شوند و عملکردشان معمولا در فرکانس های بین ۰/۰۵ و ۵۰۰ کیلوهرتز می باشد. این تخلیه ها دارای صفحات الکترود با ابعاد بزرگ می باشند و فاصله ی بین الکترودها از چند میلی متر بیشتر نمی شود. نسبت سطح به حجم در آن ها کوچک است که کاهش های پخش و حفظ دمای پایین گاز در حد دمای اتاق می شود. در این حالت استفاده از تابش پس تاب [۳] برای استریلیزاسیون اجسام با شکل نامعین و سه بعدی با ابعاد بزرگ نسبت به تابش مستقیم دارای ارجحیت می باشد.

شکل رایج این نوع تخلیه ها متشکل از تعداد زیاد میکروتخلیه می باشد که به طور نامنظم روی سطح الکترود توزیع می شوند و تخلیه های رشته ای نام دارند. نوع دیگر تخلیه های سد دی الکتریک تخلیه های تابان یا پخشی با شکل همگن می باشد. تخلیه های همگن توسط کوگل شاتز و همکاران، پژوهشی دیگر گزارش شدند.

---

[۱] Dielectric barrier discharge
[۲] Silent discharge
[۳] Afterglow

شکل همگن DBD ابتدا در هلیوم خالص مشاهده شد، سپس این مد عملکرد به مخلوط های هلیوم گونه و به نیتروژن و هوا گسترش یافت. و تلاش های زیاد انجام شده توسط اکازاکی و همکاران، در ارتقای این شکل DBD برای انواع کاربردها به طور خاص مورد توجه است [۲۵]. بودام و همکاران از تخلیه ی سد دی الکتریک در مد تابان پخشی برای تولید پلاسمای غیرحرارتی اتمسفری استفاده کردند. این شکل های تخلیه در شکل موج جریان متفاوت اند. دو مد تخلیه ی همگن، تخلیه ی تاوزند و تخلیه ی تابان، هنگامی که ولتاژ خارجی با فرکانس مناسب به الکترودها اعمال شود می توانند در تخلیه های سد دی الکتریک در فشار اتمسفری حاصل شوند. نتایج شبیه سازی [۲۶] نشان داد که توزیع های فضا زمانی دمای الکترون در دو مد تخلیه به طور قابل توجهی متفاوت اند. دمای الکترون در افت کاتدی در تخلیه ی تابان چندین برابر بالاتر از دمای آن در هر ناحیه ی دیگر است. در مقابل دمای الکترون در ناحیه ی تاوزند به طور فضایی تقریبا یکنواخت است. تابع توزیع انرژی الکترون در ناحیه ی افت کاتدی در تخلیه ی تابان شامل بزرگ ترین درصد انرژی بالا در همه ی نواحی است، و بیشتر الکترون ها در ناحیه ی تابان منفی دارای انرژی خیلی پائین می باشند. اما تابع توزیع انرژی الکترون یا EEDF[۱] در ناحیه ی تاوزند در مکان های مختلف شبیه به یکدیگر است. زمانی که ولتاژ اعمالی بیش از یک مقدار بحرانی بیشتر شود تخلیه ی تاوزند تبدیل به تخلیه ی تابان می شود، بیشینه چگالی جریان تخلیه تقریبا تابع خطی از ولتاژ اعمال شده است در حالی که افت ولتاژ روی گاز تخلیه تقریبا تابعی ثابت از آن می باشد. کمینه ولتاژ اعمالی منجر به گذار از تخلیه ی تاوزند به تخلیه ی تابان می شود به طوری که شکاف تخلیه به طور فضایی تغییر می کند.

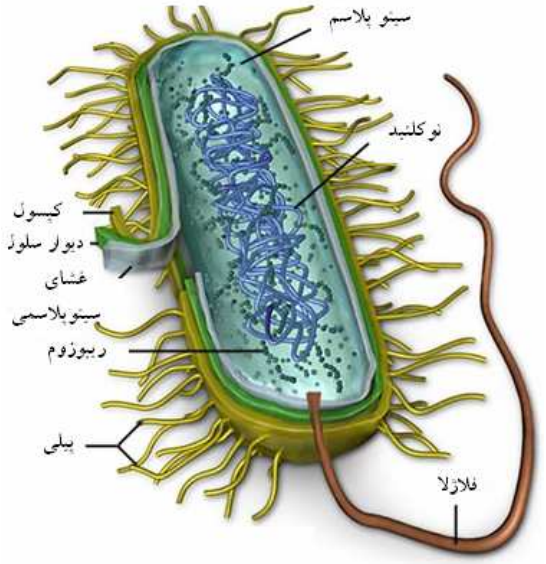
[۱] Electron energy distribution function

پلاسما و باکتری

۲-۱- ساختار باکتری

در این فصل ابتدا به ساختار باکتری اشاره می کنیم و سپس تاثیر پلاسما را بر روی باکتری مطالعه می کنیم. باکتری های *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* در این پایان نامه استفاده شده است که به آن ها خواهیم پرداخت.

باکتری موجودات تک سلولی کوچک میکروسکوپی با ساختار بنیادی می باشند. کوچکترین باکتری دارای قطری در حدود ۰/۱ میکرومتر می باشد، در حالی که بزرگترین آن ها می تواند ٦ × ٦٠ میکرومتر باشد. پوش های سلول باکتری از چند لایه های تو در تو ساخته می شوند (شکل ۲-۱).

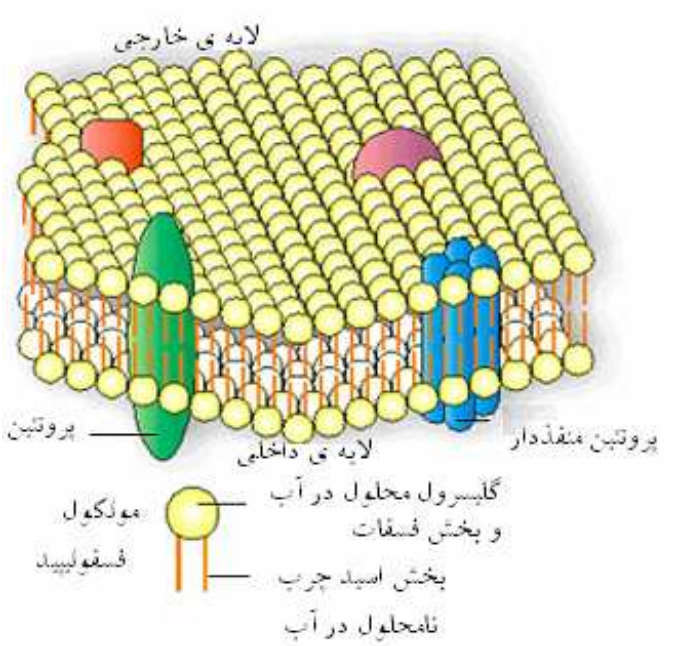


شکل ۲-۱- ساختار سلول باکتری [۵۴].

تفاوت های ذاتی میان باکتری، مانند ساختار سلول، مکانیزم های حفاظتی، می تواند موجب برهم کنش های متفاوت نسبت به روش های پردازش شود. باکتری ها بر اساس ساختار دیوار سلول به دو گروه گرم-مثبت و

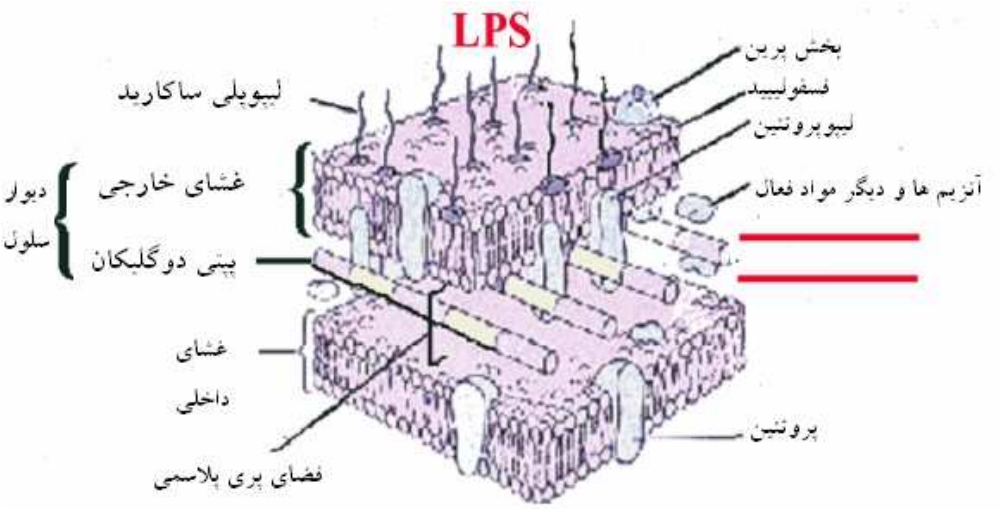
گرم- منفی طبقه بندی می شوند. باکتری گرم-مثبت دارای دیوارهای سلولی است که لایه های پپتیدوگلیکان ضخیم متصل شده با زنجیره های پپتید (پروتئین های کوچک) می باشند، در حالی که باکتری گرم-منفی دارای دیوارهای سلولی است که اساسا از لیپوپلی ساکارید، فسفولیپیدها و پروتئین، و لایه ی زیری پپتیدوگلیکان ظریف تشکیل می شوند.

همان طوری که در شکل ۲-۱نشان داده شد، پوش های سلول باکتری از داخل به خارج شامل غشای سیتوپلاسمی که متشکل از فسفولیپیدها و پروتئین ها می باشد (شکل ۲-۲). بعد لایه ی پلیمری متشکل از مولکول های پپتیدوگلیکان عظیم متشکل از پلی ساکارید و پروتئین (قندها + آمینواسیدها) ساختاری پایدار برای باکتری فراهم می کند. در ارگانیسم های گرم مثبت پوسته پپتیدوگلیکان ضخیم و سخت است و ساختار پوش سلول باکتری گرم مثبت فاقد غشای خارجی می باشد. در مقابل باکتری گرم منفی دارای یک لایه ظریف پپتی دوگلیکان است که روی لایه خارجی متشکل از لیپویروتئین و لیپوپلی ساکارید قرار داده می شود. به گونه ای که قدرت مکانیکی باکتری گرم منفی کمتر از قدرت مکانیکی گرم مثبت است. *Escherichia coli* ، *Pseudomonas*، *Salmonella*، *Shigella* از جمله ارگانیسم های گرم-منفی و *Bacillus*، *Streptococcus*، *Clostridium*، *Staphylococcus* و *Anthrax* ارگانیسم های گرم-مثبت می باشند.



شکل ۲-۲- نمودار هندسی غشای سیتوپلاسمی [۵۴].

پوش سلولی باکتری *E. coli* چند لایه و دارای دو غشای سیتوپلاسمی داخلی (ضخامت حدود ۸ نانومتر) و غشای لیپو پلی ساکارید خارجی (هم چنین با ضخامت حدود ۸ نانومتر) احاطه کننده ی لایه خیلی نازک، تقریبا ۲ میلی متر، می باشند (شکل۲-۳) که در لایه ی ژل مانند پری پلاسم با ضخامت تقریبا ۱۴ نانومتر قرار گرفته است. در حالی که ضخامت کل پوش حدود ۳۰ نانومتر می باشد [۲۲].



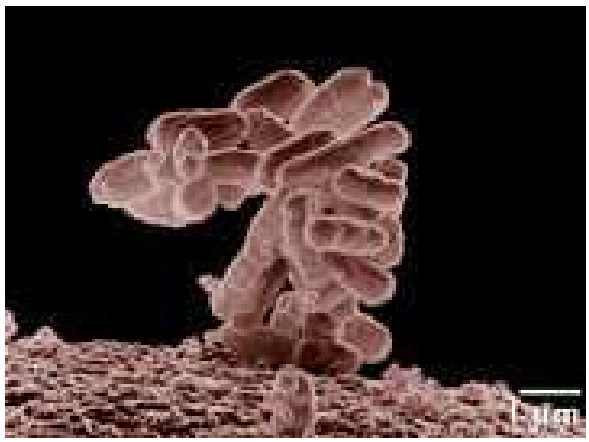
شکل ۲- ۳- دیوار سلول گرم منفی [۵۴].

غشاهای میکروارگانیسم متشکل از دولایه لیپیدی می باشند که مولفه ی مهم آن اسیدهای چرب غیراشباع هستند. این اسیدها در ماهیت ژله ای غشا نقش دارند. این حالت ژله ای غشا انتقال فراورده های بیوشیمیایی را از میان آن ممکن می سازد. خارجی ترین لایه باکتری کپسول پلی ساکارید می باشد. در اکثر گونه های باکتری، کپسول، با روش چسبناکی اش قادر به چسبیدن به بافت های میزبان می باشد. برای مثال، توانایی موتانهای استرپتوکوکوس برای به هم چسباندن مینای دندان علت ویژگی های کپسولی موتانهای استریتوکوکوس می باشد. در باکتری اسید دوست مانند میکوباکتری تا نصف پوش سلول از لیپیدها و گلیکولیپیدهای پیچیده تشکیل می شود، محتوی بالای لیپید در این باکتری همه جا حاضر (باکتری که به طور همزمان در همه جا وجود دارد) می تواند توجیحی برای حساسیت، و مرگ احتمالی آنها در نتیجه تابش ازون باشد.

۲-۲- باکتری *E. coli* و *P. aeruginosa*

از رایج ترین نمونه های باکتری گرم منفی که در پزشکی دارای اهمیت می باشند، می توان به *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* اشاره کرد. در اینجا لازم است به عفونت های ناشی از باکتری *E. coli* و *P. aeruginosa* به طور مختصر اشاره کنیم.

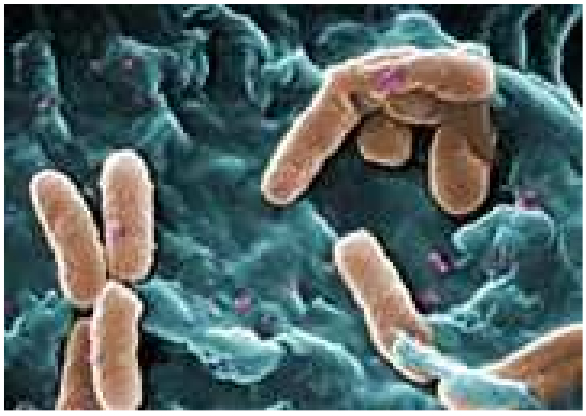
E. coli باکتری گرم-منفی میله ای شکل (باسیل) با قطر حدود ۰/۳-۰/۱ و طول ۶-۱ میکرومتر می باشد (شکل ۲-۴). این باکتری بیهوازی اختیاری و بدون اسپور می‌باشد.



شکل ۲- ۴- تصویر *E. coli* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی [۴۹].

Escherichia coli باکتری روده ای است و معمولا جزء فلور نرمال روده می‌باشد. این باکتری یکی از میکروارگانیسم های عمده ی ایجاد کننده ی بیماری اسهال می باشد. اغلب اوقات می تواند موجب نارسایی کلیه و حتی مرگ شود. علائم مرض در کودکان و افراد مسن دارای سیستم های ایمنی ضعیف و به طور خاص در افراد مبتلا به بیماری دیگر وخیم تر است. عفونت *E. coli*، در ماه های تابستان و در کشورهای شمالی رایج تر است [۵۲، ۵۳]. اغلب عفونت های *E. coli* از طریق آب وغذای آلوده مانند همبرگرهای نپخته و یا میوه های نشسته که از کود کشاورزی حیوانی برای به عمل آوردن شان استفاده شده است ایجاد می شود *E. coli* بیشتر کودکان را در طی سال های اول زندگی آلوده کرده و اغلب از طریق آبهای آلوده، شنا و یا باغ وحش حیوانات قابل لمس، شیوع می یابند.

Pseudomonas aeruginosa باکتری گرم منفی است این باکتری به شکل باسیل، هوازی و بدون اسپور می باشد که بیشتر در پیرامون ما یافت می‌شود. این موجود زنده در خاک، آب و دیگر پیرامون‌های نمناک یافت می‌شود (شکل ۲-۵-).



شکل ۲- ۵- تصویر الکترونی سودوموناس آئروژینوزا [۴۹].

سودوموناس آئروژینوزا یک بیماری زای فرصت طلب است.این باکتری از سیستم ایمنی ناتوان کسان سوء بهره گیری کرده و در آن ها عفونت و سموم مضر برای بافت‌ها ایجاد می‌کند. سودوموناس آئروژینوزا سبب عفونت‌های مجاری ادراری ، سیستم تنفسی ،التهاب و آماس پوست ، عفونت‌های بافت های نرم، باکتریمی