

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ РАСТВОРОВ ТЛЕЮЩИМ И ДИАФРАГМЕННЫМ РАЗРЯДАМИ АТМОСФЕРНОГО ДАВЛЕНИЯ

*Институт химии растворов РАН,
ул. Академическая, 1, г. Иваново, 153045, Россия*

1. Введение

Хорошо известно, что газоразрядная плазма инициирует различные химические превращения в газовой фазе и на контактирующих с плазмой поверхностях за счет действия химически активных частиц, образующихся в зоне плазмы при горении разряда. В связи с этим газовый разряд атмосферного давления находит разнообразные применения для очистки и стерилизации жидкостей и поверхностей материалов. Так, большое количество исследований посвящено проблеме очистки воды посредством высоковольтных электроимпульсных разрядов в жидкости [1, 2]. Другая часть работ связана с процессами дезинфекции воздуха, пищевых продуктов и производственных емкостей компонентами барьерного разряда в воздухе или воздушной смеси газов [3, 4]. Однако отсутствие единых научных представлений о механизме и степени бактерицидного действия каждого из воздействующих факторов и недостатки традиционно используемых методов, позволяющих обрабатывать лишь узкий спектр объектов, приводят к необходимости поисков иных видов газоразрядной активации, которые обеспечивают высокий бактерицидный эффект за короткие промежутки времени. В этом отношении применение плазменно-электролитных систем оказывается более эффективным и универсальным методом. Их действие содержит в себе стерилизующие компоненты нескольких традиционных способов (химически активные частицы, УФ излучение, ударная волна), включая их достоинства и устраняя большую часть недостатков. Однако использование таких разрядов в целях очистки и дезинфекции пока крайне ограничено. В связи с этим целью работы стало исследование стерилизующего действия газовых разрядов атмосферного давления с электролитными электродами на водные растворы электролитов.

2. Объекты исследования и методика эксперимента

В качестве исследуемых разрядов в работе использованы тлеющий и диафрагменный газовые разряды атмосферного давления с электролитными электродами. В отличие от хорошо изученного [5, 6] тлеющего разряда, горящего между металлическим электродом и поверхностью раствора, диафрагменный разряд возникает в объеме электролита, когда в месте сужения токового канала (например, в диафрагме) из-за перегрева образуется паровой пузырь, в котором при достаточно высокой ЭДС источника происходит электрический пробой. Нестационарность и импульсный характер разряда приводят к возникновению избыточного давления в микрообъеме плазмы при длительности разрядного импульса 1–2 мс, что сопровождается образованием ударной волны в зоне горения разряда.

Принципиальные схемы разрядных ячеек представлены на рис. 1. Кварцевая ячейка объемом 50 мл снабжалась охлаждающей «рубашкой» во избежание влияния температурного фактора на стерилизующее действие разряда и мешалкой для равномерной обработки всего исследуемого раствора. Electroды, выполненные из молибдена или графита, впаивались в крышку плазмохимической ячейки. Высоковольтный источник питания, используемый для зажигания тлеющего газового разряда, и электрический блок для генерирования диафрагменного разряда позволяли задавать следующие электрические параметры разрядов: $I = 50$ мА, $U = 1500$ В – для тлеющего разряда; $I = 30$ – 100 мА, $U = 500$ В – для диафрагменного разряда.

В качестве микробных тест-культур использовали штаммы аспарогенных бактерий *Escherichia coli M-17* и *Staphylococcus aureus*, концентрации которых изменялись от 10^3 до 10^7 клеток на 1 мл исследуемого раствора.

Объектами исследования служили водный раствор хлорида натрия с концентрацией 2 г/л и

технологический раствор, содержащий смесь гидроксида натрия ($c = 1,5$ г/л) и НТФ ($c = 2,5$ г/л). Выбор объектов обусловлен широтой их использования в способах и устройствах для обеззараживания растворов, материалов и емкостей (NaCl) и в процессах облагораживания текстильных материалов (щелочные агенты с добавками органического стабилизатора НТФ).

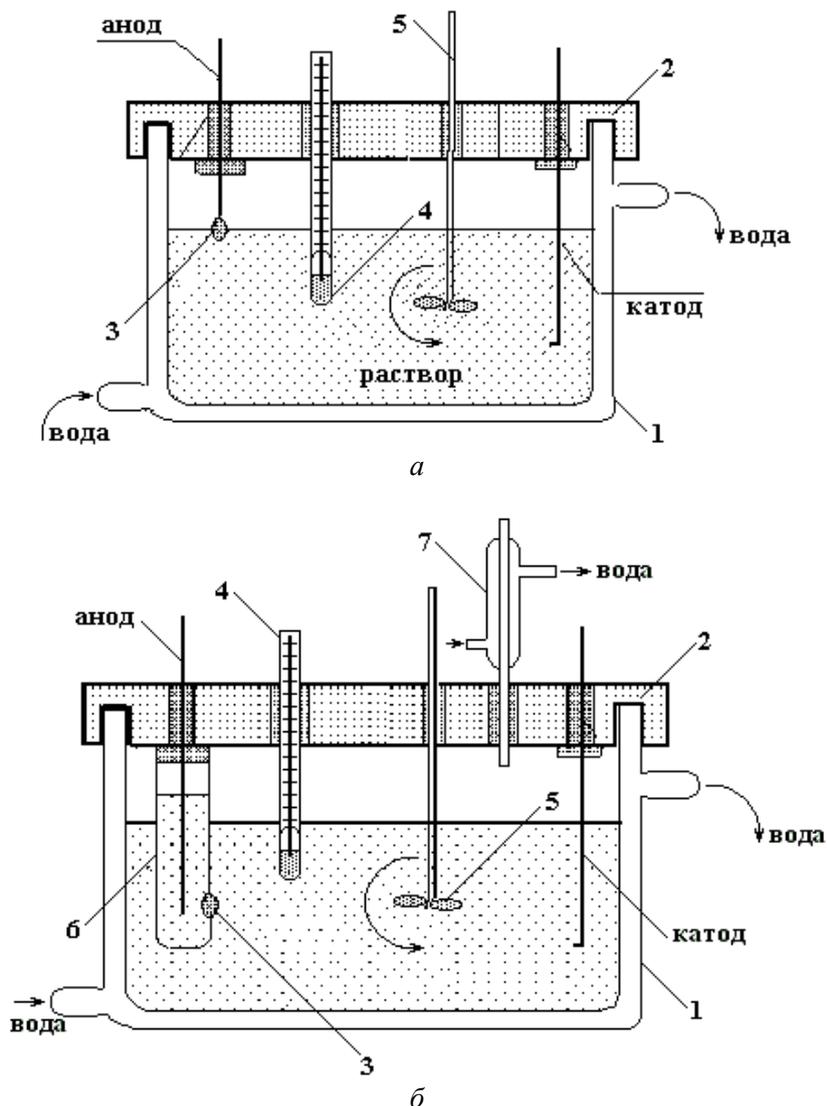


Рис. 1. Принципиальные схемы плазмохимических ячеек:

1 – корпус ячейки с охлаждающей рубашкой; 2 – кварцевая крышка разрядной ячейки; 3 – зона плазмы; 4 – термометр; 5 – электрическая мешалка; 6 – кварцевая ампула с диафрагмой; 7 – обратный холодильник. а – ячейка для генерирования тлеющего разряда атмосферного давления с электролитным электродом; б – ячейка для инициирования диафрагменного газового разряда.

При проведении эксперимента к 49 мл стерильного водного раствора NaCl добавляли 1 мл микробной суспензии определенного разведения для получения 50 мл исследуемой зараженной среды с заданной концентрацией бактериальных клеток. Температура раствора во всех сериях опытов составляла 15°C . После газоразрядной обработки длительностью от 1 до 20 минут активную среду объемом 0,1 мл высевали из емкостей на поверхность среды. Эндо с соблюдением правил асептики, распределяя равномерно по всей поверхности стерильным шпателем. Посевы инкубировали в термостате при температуре 37°C , подсчет колониеобразующих единиц выполняли через 24 часа по характерным культуральным свойствам колоний соответствующих микроорганизмов.

Для исследования бактерицидного действия растворов, подвергнутых активации диафрагменным разрядом, стерильный раствор NaCl обрабатывался 2–10 минут; затем в ячейку производился засев микробной культуры. Через определенные промежутки времени (от 0,5 до 1 минуты) из ячейки отбирались пробы объемом 0,1 мл для отслеживания динамики гибели бактерий.

3. Результаты эксперимента и их обсуждение

В ходе эксперимента обнаружен высокий стерилизующий эффект газоразрядной плазмы и сравнивалась выживаемость бактериальной культуры при изменении типа газоразрядного воздействия. Полная стерильность растворов в зависимости от экспозиции, типа и интенсивности разряда, природы стерилизуемого объекта, концентрации и природы бактериальной культуры достигалась за 1–20 минут.

В таблице и на рис. 2 приведены результаты исследований по количественной оценке непосредственного влияния разрядов на бактериальные клетки, присутствующие в водном растворе NaCl при различных условиях активации.

Влияние тлеющего и диафрагменного разрядов на степень стерилизации водных растворов NaCl

Состав среды	$K_{кое}$, кл/мл	Бактериальная культура	Тип разряда	Длительность газоразрядного воздействия, мин.		
				СПК	РЕО	ЭПС
I	10^4	E.coli M-17	тлеющий	6	11	16
II	10^4	–	–	5	10	15
II	10^7	–	–	10	16	20
II	10^4	–	диафрагменный	1	2.5	3
II	10^7	–	–	5	10	12

Примечание: Активные среды: I – раствор NaOH ($c = 1,5$ г/л) и НТФ ($c = 2,5$ г/л); II – раствор NaCl ($c = 2$ г/л); $K_{кое}$ – число колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемой жидкости; СПК – плотность колоний; РЕО – редкие единичные образования; ЭПС – эффект полной стерилизации.

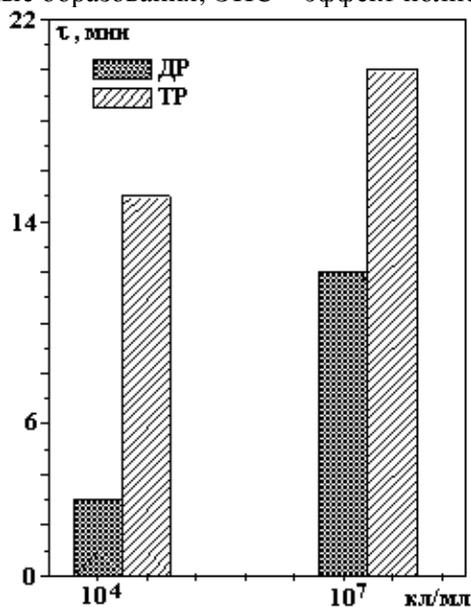


Рис. 2. Время достижения эффекта полной стерилизации раствора с разным содержанием микроорганизмов при воздействии на раствор тлеющим и диафрагменным разрядами.

Независимо от начальных концентраций бактериальных культур кратковременное газоразрядное воздействие (1–6 минут) значительно снижало плотность колоний исследуемых штаммов вплоть до редких единичных образований и эффекта полной стерильности.

По сравнению с тлеющим разрядом при воздействии диафрагменного разряда, требующего значительно меньших энергетических затрат, эффект полной стерильности достигался в 2–4 раза быстрее, что свидетельствует о большей эффективности угнетающего действия на бактериальную клетку диафрагменного газового разряда (рис. 2).

Степень подавления жизнедеятельности микроорганизмов зависела от экспозиции (рис. 3). Эксперимент показал, что угнетающее действие компонентов тлеющего разряда на микробную

клетку формально может рассматриваться как мономолекулярная реакция, подчиняющаяся логарифмическому закону, математическое выражение которого может быть записано в виде уравнения реакции первого порядка, где N – концентрация микроорганизмов в момент времени t ; N_0 – исходная концентрация микроорганизмов; k – константа скорости:

$$N = N_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (1)$$

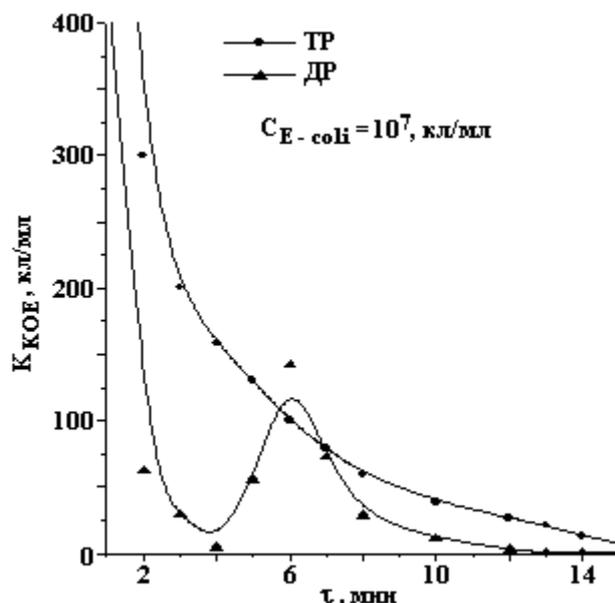


Рис. 3. Зависимость степени подавления жизнедеятельности микроорганизмов от экспозиции тлеющего (1) и диафрагменного (2) разрядов.

Наблюдаемая в случае диафрагменного разряда экстремальная зависимость свидетельствует о проявлении **бактериостатического** эффекта газоразрядной плазмы, заключающегося во временном торможении жизненных функций микробной клетки (задержке роста, способности к размножению), способных частично или полностью восстановиться при изменении внешних условий.

Средняя скорость гибели микроорганизмов (и эффективность газоразрядной активации) зависела не только от тока разряда (рис. 4,а), но также от биологических особенностей бактериальной культуры и массивности обсеменения ею исследуемого объекта, причем зависимость времени стерилизации от исходной концентрации микробных клеток в растворе была практически линейна (рис. 4,б).

Полученные данные свидетельствуют о том, что эффективность газоразрядного воздействия на растворы, содержащие *Staphilococcus aureus*, гораздо ниже, чем в случае *Escherichia coli* (рис. 5), что, по нашему мнению, является следствием различного строения клеточной стенки исследуемых микроорганизмов. Так, толщина стенки *Staphilococcus aureus* составляет 15–20 мкм, а “оболочка” *Escherichia coli* – около 10 мкм [7]. К тому же бактериальные стенки обладают высоко индивидуальными химическими особенностями. Клеточная стенка *Escherichia coli* имеет липопротеидную природу, в ее составе содержится большое количество ароматических аминокислот, аргинина и пролина, тогда как стенка *Staphilococcus aureus* состоит из глицеро-фосфо-протеидного комплекса [8].

При исследовании поведения клеток *Escherichia coli* и *Staphilococcus aureus* в растворе хлорида натрия после его кратковременной активации диафрагменным разрядом обнаружено, что после кратковременной активации (1–3 мин) раствора даже у частично обеззараженной жидкости в период его 1–2 часового хранения происходит полное самообеззараживание. При разбавлении стерильного активированного раствора новой порцией зараженной микробной среды, в течение 2–3 часов достигалась полная стерильность раствора (рис. 6), что свидетельствует о бактерицидных свойствах компонентов самого разряда и обработанной им жидкости. Наведенный эффект действовал не менее нескольких дней.

При последующем хранении не полностью обеззараженного или разбавленного им необработанного водного раствора процесс отмирания выживших и новых микробных колоний продолжался.

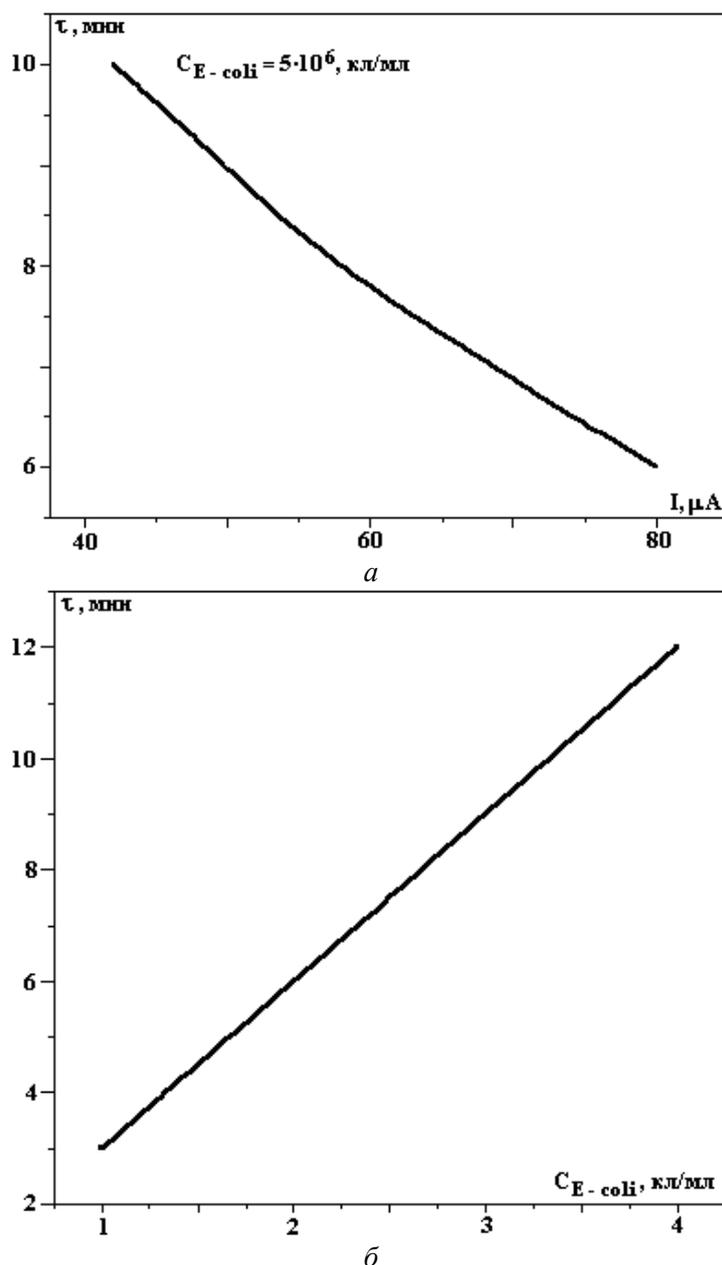


Рис. 4. Зависимость времени стерилизации раствора хлорида натрия диафрагменным разрядом от электрических параметров разряда (а) и степени обсеменения раствора клетками *Escherichia coli* (б).

При использовании тлеющего разряда подобный стерилизующий пост-эффект газоразрядной плазмы не наблюдался.

Анализируя опытные данные и говоря о механизме бактерицидного действия тлеющего разряда, мы предполагаем, что стерилизация среды осуществляется в основном за счет окислительной деструкции оболочек микробных клеток в результате воздействия образующихся при горении разряда химически активных частиц. Характерной особенностью плазменно-растворных систем является то, что они имеют несколько областей образования активных частиц: это зона газовой плазмы и тонкий слой раствора на границе раздела фаз газ–жидкость, где образуются радикалы Н, ОН, О и сольватированные электроны. В этом смысле отличие тлеющего разряда от диафрагменного состоит в том, что в его генерировании участвует воздух, в котором могут дополнительно образовываться атомарные азот, кислород и озон.

Диффундирующие с поверхности раздела фаз газ – жидкость в объем раствора активные частицы проникают внутрь микробной клетки и вступают в реакцию с ее компонентами, ответственными за жизненно важные для микробов процессы ферментативной деятельности (обмена веществ,

дыхания, размножения и др.). При этом в основном происходит окисление ароматических аминокислот, фосфопротеидов и других органических соединений, составляющих микробную оболочку, а затем и их полное разрушение.

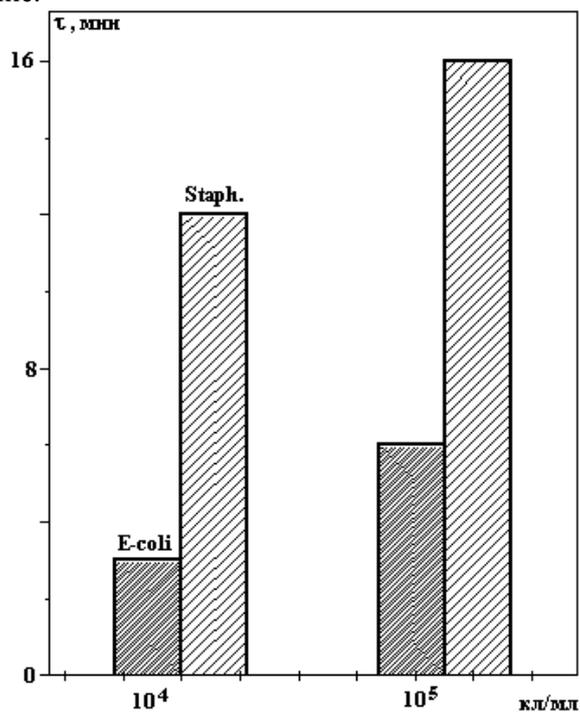


Рис. 5. Время достижения эффекта полной стерилизации раствора с разными бактериальными культурами при воздействии на раствор диафрагменным разрядом.

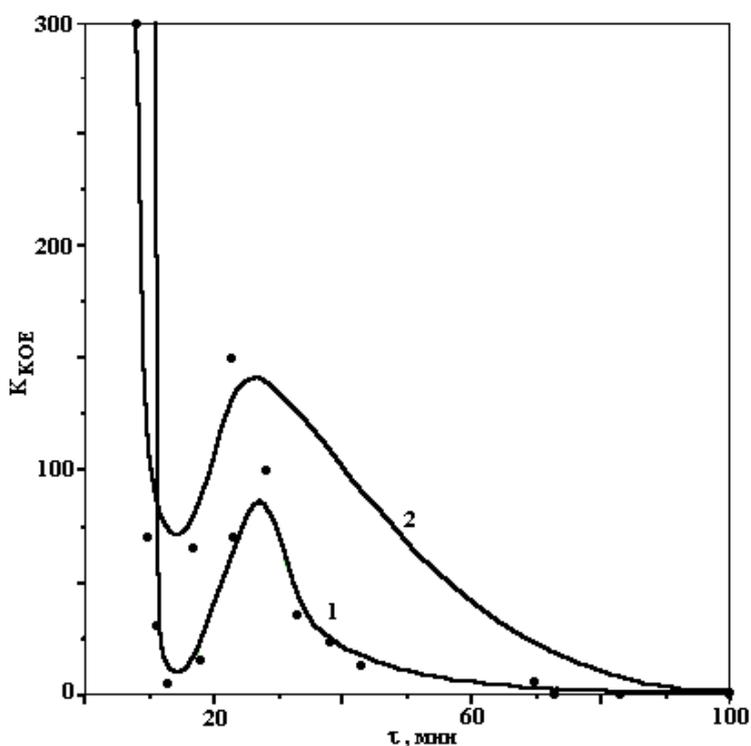


Рис. 6. Кривые выживаемости клеток *Escherichia coli* (1) и *Staphylococcus aureus* (2) в водном растворе хлорида натрия после 1–3 минутной активации раствора диафрагменным разрядом.

При воздействии же компонентов диафрагменного разряда и обеззараженной им жидкости на бактериальную клетку возможно, как мы считаем, протекание не одного, а нескольких независимых процессов, разрушающих ее целостность.

Во-первых, как и при иницировании тлеющего разряда, в растворе происходит накопление химически активных частиц, приводящих к ингибированию жизнедеятельности бактериальной клетки. Этими "ядовитыми" для микроорганизмов веществами, возникающими в растворе в момент разряда, являются в основном свободные радикалы и активный кислород, к присутствию которого особенно чувствительна бактериальная оболочка. Под их влиянием происходит распад аминокислот и белка, деполяризация нуклеиновых кислот, расщепление других биологически активных веществ. Их накопление оказывает также бактерицидное действие на микрофлору обрабатываемой жидкости.

Вторым стерилизующим фактором может являться изменение структуры жидкости под действием ударной волны диафрагменного разряда. При этом возможно изменение структуры не только гидратных оболочек ионов, но и свободного объема раствора. Сама жидкость при этом приобретает необычные свойства и вносит дополнительный стерилизующий вклад в эффективность антимикробного действия диафрагменного разряда.

В-третьих, ударная волна способна осуществлять интенсивные химические процессы синтеза, полимеризации, обрыва сорбционных и химических связей в клетке, тем самым разрушая ее стенку. Более того, возможен разрыв самого тела бактерии с ее уничтожением. К тому же ударная волна также инициирует электрохимические окислительно-восстановительные реакции в загрязненной жидкости.

Полагаем, что комплексное воздействие перечисленных выше факторов приводит к гибели микроорганизмов и полной стерилизации раствора, обеспечивая высокую эффективность действия диафрагменного разряда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bert J.M. van Heesch; A. Wekhof. Pulsed corona discharges for gas and water treatment // XI IEEE International Pulsed Power Conference, Paper O1-6, Baltimore, USA, 1997. P. 115–117.
2. Karl H. Schoenbach. The effect of pulsed electrical fields on biological cells // IEEE International Pulsed Power Conference, Q-7803-4212, P. 85–90.
3. Болога М.К., Литинский Г.А. Электроантисептирование в пищевой промышленности. Кишинев, «Штиинца», 1988, 181 с.
4. А.с. 272484 СССР, мки А 61 L 3/00.
5. Hickling A., Ingram M.D. Glow-discharge electrolysis (review)// Journ. of Electroanalytical Chemistry. 1964. V. 8. P. 65–81.
6. Rami Ben Gadri, J. Reece Roth, Thomas C. Montie. Sterilization and plasma processing of room temperature surfaces with a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAugDP).
7. Спунер Е., Стокер Б. Анатомия бактерий. М., "Медгиз", 1960. С. 104–105.
8. Страйер Л. Биохимия. Т.3., М., 1985.

Поступила 22.04.2002

Summary

The killing of the asporogenic microorganisms under the action of glow and diaphragm gaseous discharges at atmospheric pressure is developed. The NaOH, NaCl solutions were the subjects of our investigation. High sterilizing effect of gaseous plasma was found. The efficiency of diaphragm discharge was shown to be higher in all cases. The dependence of efficiencies of the sterilizing process from discharges current, concentration and nature of bacterial culture were determined. It was proved that after short activations time partly disinfected liquid becomes completely to be sterile during 1–2 hours. It was suggested, that the reason of the more efficient sterilizing abilities of diaphragm gaseous discharge is an action of shock wave, arising in zone of plasma.