

УДК 606:62; 621.039.6; 533.9.08

ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ НА ГРИБЫ РОДА ASPERGILLUS, КОЛОНИЗИРУЮЩИЕ БУМАГУ

А.А. АРАШКОВА¹, И.А. ГОНЧАРОВА¹, В.А. ЛЮШКЕВИЧ², И.И. ФИЛАТОВА²,
Н.И. ЧУБРИК², С.И. МАДВЕЙКО³, С.В. БОРДУСОВ³

¹Институт микробиологии НАН Беларусь
Академика Купревича 2, 220141, Минск, Беларусь

²Институт физики НАН Беларусь
пр. Независимости 68, 220072, Минск, Беларусь

³Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
П. Бровки, 6, Минск, 220013, Беларусь

Поступила в редакцию 22 ноября 2016

Изучено влияние низкотемпературной плазмы ВЧ, СВЧ и барьера разрядов на жизнеспособность грибов-колонизаторов бумаги рода *Aspergillus*. Выявлена высокая эффективность плазмы барьера разряда по сравнению с другими типами разрядов для деконтаминации материалов на биополимерной основе.

Ключевые слова: плесневые грибы, низкотемпературная плазма, высокочастотный, сверхвысокочастотный и барьерный разряды, оптическая эмиссионная спектроскопия.

Введение

Процессы деструкции широкого круга материалов и изделий природного и искусственного происхождения в значительной степени связаны с жизнедеятельностью микроорганизмов. Основную группу агентов биоповреждения материалов на бумажной основе составляют микроскопические мицелиальные грибы, вырабатывающие «агрессивные» метаболиты, способные вызывать деградацию целлюлозы [1]. Некоторые виды микромицетов не только активно разрушают бумагу, но также могут вызывать ее пигментирование [2].

Особой проблемой является распространение плесневых грибов во внутренней среде музеев, библиотек, медицинских учреждений, что, наряду с микроповреждениями книг, документов, экспонатов, становится опасным для здоровья посетителей и сотрудников в связи с разнообразным негативным влиянием микромицетов на организм человека (микогенная аллергия, микотоксикозы и оппортунистические микозы). Наиболее опасными среди условно-патогенных микромицетов являются грибы рода *Aspergillus*, частота выявления сенсибилизации к которым может превышать 60 % [3].

Для подавления жизнеспособности патогенных микроорганизмов и других контаминаントов, включая плесневые грибы, в последние годы предлагается использование низкотемпературной неравновесной плазмы газового разряда [4–6], в том числе высокочастотного [5] и барьера [6] разрядов. Присутствие в плазменной среде значительной концентрации биоцидных компонентов при невысокой газовой температуре позволяет применять газоразрядную плазму для непосредственной деконтаминации биологических объектов, а также материалов на основе биополимеров [7].

Целью данной работы было исследование влияния низкотемпературной газоразрядной плазмы на грибы рода *Aspergillus*, колонизирующие бумагу. Обработку проводили в широком диапазоне режимов воздействия и параметров плазмы, реализующихся при использовании ВЧ и СВЧ разрядов низкого давления и барьера разряда атмосферного давления.

Методика эксперимента

Сверхвысокочастотный (СВЧ) разряд возбуждался в цилиндрической кварцевой трубке длиной 340 мм, расположенной в центре СВЧ резонатора, с наружным диаметром 200 мм. В качестве СВЧ источника использовался магнетрон М-112, генерирующий излучение на частоте $f_{micr} = 2,45 \pm 0,05$ ГГц. Выходная мощность СВЧ разряда на согласованную нагрузку составляла порядка 650 Вт. Обработку проводили в воздухе при давлении ~120 Па. Продолжительность обработки составляла 1–5 мин. ВЧ емкостной разряд возбуждался на частоте 5,28 МГц в разрядной камере установки на основе промышленного генератора высокочастотного тока «ВЧИ-62-5-ИГ-101» в атмосфере воздуха при давлении 200 Па [8]. Длительность обработки – 20 мин.

Барьерный разряд возбуждался между изолированным цилиндрическим высоковольтным электродом и заземленной металлической поверхностью. Задающий генератор источника питания барьера разряда работал на частоте 1 кГц. Образцы размещали на заземленном электроде. Расстояние между высоковольтным и заземленным электродом l варьировали от 2 мм до 4 мм. Рабочие режимы: амплитуда напряжения – 20 кВ, выходная мощность – 30 Вт, длительность обработки – 3 мин и 30 мин. Регистрацию спектров излучения плазмы проводили с использованием автоматизированного спектрометрического комплекса на основе светосильного монохроматора серии MS 3504 («СОЛАР ТИИ», Беларусь). В процессе обработки контролировали газокинетическую температуру T_g плазмы в соответствии с методикой [9].

Для изучения антифунгального эффекта плазмы использовали образцы бумаги, колонизированной грибом *A. niger*, отличающимся способностью выделять значительные количества органических кислот. На поверхность стерильной бумаги наносили сетчатый слой агаризованной среды Чапека-Докса, инокулированной спорами гриба, и инкубировали при 28° С в течение 1 сут до образования мицелия, до стадии спороношения – 3 сут.

Оценку микробной обсемененности бумаги до и после обработки плазмой проводили методом посева серийных разведений смыков на агаризованную питательную среду с последующим подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ) и оценкой ростовых характеристик: скорости роста мицелия (диаметр колоний), интенсивности спороношения и пигментообразования. Уровень продукции органических кислот оценивали по ширине зоны просветления мелового агара и желтого окрашивания pH индикатора (бромкрезоловый пурпурный) вокруг колоний грибов в чашках Петри [10].

Результаты и их обсуждение

Обработка спор *A. niger* в плазме СВЧ разряда в течение 1 мин способствовала увеличению интенсивности спороношения гриба. Для достижения фунгицидного эффекта по отношению к грибам *A. niger* минимальное время воздействия СВЧ плазмы составило 3 мин, однако увеличение длительности обработки сопровождалось нагревом образцов до 90°С, что накладывает ограничения на использование СВЧ плазмы для деконтаминации термоочувствительных материалов на основе природных биополимеров.

Термическое воздействие СВЧ плазмы устранили путем размещения образцов в зоне послесвечения, на расстоянии 15–25 см от источника СВЧ излучения. При этом *A. niger* не только не утратил жизнеспособность, но имел более высокую скорость роста. Диаметр колоний *A. niger* после обработки в послесвечении СВЧ-плазмы в течение 5 мин был почти на 40 % больше, чем в контроле спустя 30 сут роста при пониженной температуре (15 °С). Подобный стимулирующий эффект при воздействии СВЧ-излучения на микроорганизмы описан в [11].

Кроме того, увеличилась интенсивность выделения органических кислот, о чем свидетельствовали зоны просветления мелового агара вокруг колоний *A. niger* вследствие растворения карбоната кальция органическими кислотами (рис. 1). При микроскопировании выявлено присутствие бипирамидальных форм кристаллогидратов, указывающих на наличие оксалата кальция, образовавшегося за счет выделения грибами щавелевой кислоты, которая относится к числу наиболее «агрессивных» метаболитов [12].

Анализ физиолого-биохимических свойств *A. niger* после 20 мин обработки бумаги ВЧ

плазмой показал, что количество КОЕ *A. niger* снизилось в 3–15 раз, а не утратившие жизнеспособность споры дали колонии, характеризующиеся увеличением скорости роста мицелия, усилением спорообразования и выделением желтого пигмента. При этом изолированное вакуумное воздействие на жизнеспособность *A. niger* практически не влияло – интенсивность роста и спороношения была аналогична контролю (табл. 1).

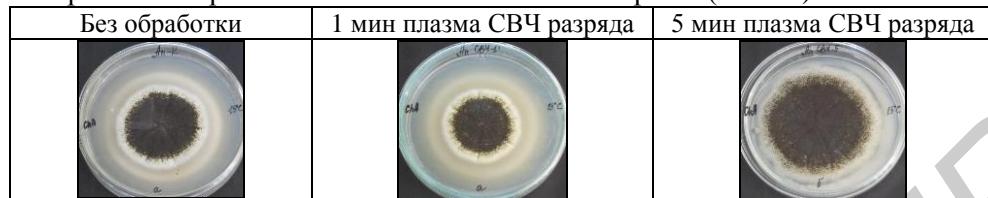


Рис. 1. Рост колоний *A. niger* после обработки СВЧ плазмой на меловом агаре спустя 30 суток культивирования при 15 °C

Таблица 1. Культуральные признаки *A. niger* через 3 суток культивирования на среде Чапека-Докса после 20 мин обработки вакуумом и низкотемпературной плазмой ВЧ разряда

Вариант	Диаметр колоний, мм		Интенсивность спороношения*	Экзопигмент (желтый)*
	Мицелиальная зона	Конидиальная зона		
Без обработки	16,0 ± 2,9	10,7 ± 2,1	+	–
Вакуум	17,0 ± 2,9	11,0 ± 2,2	+	–
Плазма ВЧ разряда	19,0 ± 4,1	13,0 ± 3,3	++	++

*Степень интенсивности: – полное отсутствие, + слабая, ++ сильная

После обработки ВЧ плазмой конидиальные головки *A. niger* имели более крупный размер и длину цепочки спор (до 350 мкм) по сравнению с контролем (210 мкм), что увеличивает риск негативного влияния контаминированной бумаги на здоровье людей. Оценка ростовой и кислотообразующей активности мицелия *A. niger*, подвергшегося обработке плазмой ВЧ разряда показала, что выделение органических кислот может значительно варьироваться. В некоторых случаях на среде с индикатором pH (бромкрезоловым пурпурным) ширина зоны индикации кислотообразования достигала 10–11 мм, превышая контрольные значения на 25–57 % (рис. 2). Эффективность обработки образцов плазмой барьерного разряда в течение 30 минут, оцененная исходя из количества КОЕ *A. niger*, оставшихся на бумаге, составила при расстоянии l до разрядной трубы 4 мм – 15–25 %, а при расстоянии 2 мм – 70–90 %. При малой длительности воздействия (3 мин) эффективность очистки поверхности образцов снижалась до 40–60 %. О высокой антифунгальной активности плазмы барьерного разряда при $l = 2$ мм также свидетельствовал тот факт, что после перенесения обработанной бумаги на питательную среду рост и вторичное спороношение *A. niger* наблюдались только вокруг образца и не присутствовали на поверхности самой бумаги, как в контроле и при $l = 4$ мм (рис. 3).

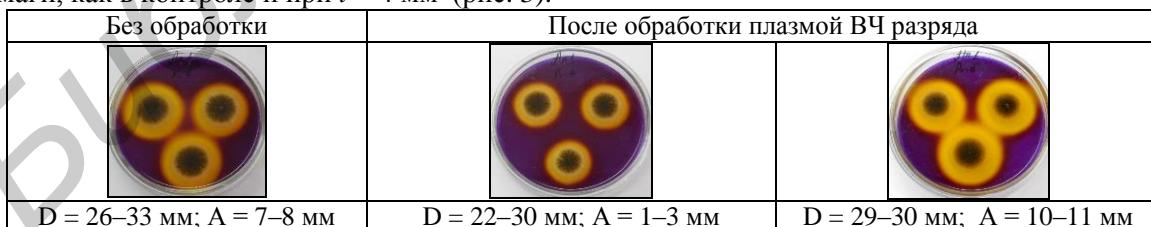


Рис. 2. Диаметр колоний (D) и зона ацидофикации (A) спустя 3 суток роста *A. niger* на питательной среде с бромкрезоловым пурпурным после 20 мин обработки низкотемпературной плазмой ВЧ разряда при низком давлении и без нее

Таким образом, обработка бумаги, колонизированной *A. niger*, плазмой СВЧ и ВЧ разрядов при низком давлении снижает количество КОЕ грибов, но также способствует ускорению роста, интенсификации спорообразования и продукции агрессивных органических кислот колониями, обладающими устойчивостью к воздействию плазмы. Установлено, что более значительным деконтаминационым эффектом в сочетании с высокой антифунгальной активностью обладает плазма барьерного разряда при атмосферном давлении.

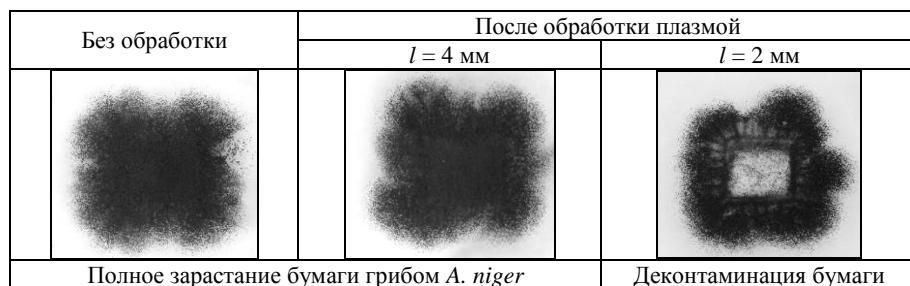


Рис. 3. Эффект деконтаминации бумаги от спор гриба *A. niger* при обработке плазмой барьера разряда в течение 30 минут в зависимости от межэлектродного зазора l

Известно, что биоцидная активность холодной плазмы обусловлена воздействием на обрабатываемый материал химически активных частиц (ионов, возбужденных молекул, свободных радикалов) и УФ излучения. С целью анализа процессов, протекающих в плазме различных разрядов, и идентификации образующихся химических частиц исследованы спектроэнергетические и термодинамические параметры плазмы. В спектрах излучения плазмы ВЧ разряда в воздухе в области 250–1100 нм при давлении $P = 200 \text{ Па}$ и удельной мощности $W = 0,35 \text{ Вт}/\text{см}^3$ регистрировали молекулярные полосы (1+) и (2+) систем молекулы N_2 , а также радикала OH (306 нм) (рис. 4, *a*). Спектры барьера разряда были представлены только полосами (1+) и (2+) N_2 (рис. 4, *б*). Спектры излучения плазмы СВЧ разряда в воздухе при давлении 140 Па в диапазоне 250 – 1100 нм представлены молекулярными полосами (1+) и (2+) N_2 , полосами NO , CO , радикала OH, а также атомными линиями H_α , H_β и OI (рис. 4, *в*).

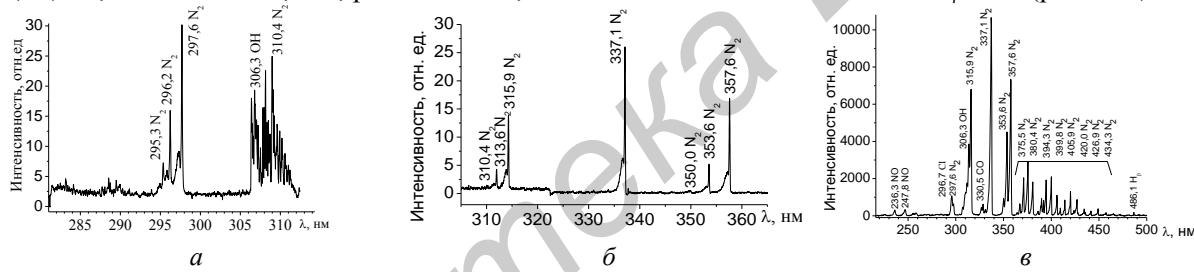


Рис. 4. Спектр излучения плазмы в воздухе: *а* – ВЧ разряда низкого давления, *б* – барьера разряда атмосферного давления, *в* – СВЧ разряда низкого давления

Наличие в плазме радикалов OH – важнейшего фактора плазменной обработки, способствующего снижению количества жизнеспособных спор микромицетов, – является общим для ВЧ и СВЧ разрядов. Однако термодинамические условия в разрядах различаются, причем в плазме ВЧ разряда реализуются наиболее приемлемые для обработки термочувствительных материалов режимы. Существенного нагрева образцов также не наблюдалось при воздействии плазмы барьера разряда. Это можно объяснить спецификой механизмов возбуждения и поддержания микроразрядов, в которых реализуется повышенная напряженность электрического поля ($\sim 10 \text{ кВ}/\text{см}$), что способствует наилучшей результативности обработки (температура плазмы составила 390 К). На поверхности (и по толщине) диэлектрических материалов с низкой теплопроводностью имеется некоторый градиент температуры, однако из-за кратковременного существования микроразрядов существенного локального перегрева материала не возникает.

Заключение

Выполненные исследования выявили наибольшую эффективность использования барьера разряда для плазменной очистки бумаги от спор плесневых грибов, что объясняется спецификой механизмов возбуждения и поддержания микроразрядов, в которых реализуются оптимальные условия для формирования высокой концентрации активных компонент, обеспечивающих эффективное (до 90 %) снижение количества спор медицинского значимого вида *A. niger* при отсутствии термического воздействия на биополимерный материал.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке БРФФИ (грант № Т15МС-050) и ГПНИ «Конвергенция-2020» 2.4.02.

THE EFFECT OF LOW-TEMPERATURE GAS DISCHARGE PLASMA ON FUNGI OF THE GENUS ASPERGILLUS COLONIZING PAPER

A.A. ARASHKOVA, I.A. GONTCHAROVA, V.A. LYUSHKEVICH, I.I. FILATOVA,
N.I. CHUBRIK S.I. MADVEIKA, S.V. BORDUSAU

Abstract

It was found that the exposure to low-temperature gas discharge plasma at atmospheric pressure is an effective way of paper cleaning from fungal spores. This effect is explained by the specific mechanisms of micro-discharges excitation and maintaining that ensure efficient (up to 90 %) reduction in the number of viable mould spores without local heating biopolymeric materials.

Keywords: molds, low-temperature plasma, high-frequency, super high- frequency and barrier discharges, optical emission spectroscopy.

Список литературы

- Белевич И.О., Александрова Г.А. // Вестник Пермского университета. 2007. Вып. 5, № 10. С. 151–154.
- Кузикова И.Л., Медведева Н.Г., Сухаревич В.И. // Труды лаборатории консервации и реставрации документов СПФ АРАН. 2011. № 2. С. 237–245.
- Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. // Микология сегодня. 2007. Т.1. С. 235–266.
- Morfill G.E. Nosocomial infections – a new approach towards preventive medicine using plasmas // New J. Phys. 2009. Vol. 11. № 11. Р. 1–10.
- Ioanid E.G. // Eur. Phys. J. Appl. Phys. 2012. № 58. Р. 10803–10803.
- Бондаренко П.Н., Емельянов О.А., Шемет М.В. // Журнал технической физики. 2014. Т. 84. № 6. С. 51–59.
- Šimor M. Atmospheric-pressure diffuse coplanar surface discharge for surface treatments // Appl. Phys. Lett. 2002. Vol. 81. Р. 2716.
- Gontcharova I. // Proc of the 27th Symp. «Plasma Physics and Technology». 2016. Prague, Czech Republic, 2016. P. 81.
- Specair: software for calculating and fitting plasma spectra // SpectralFit S.A.S. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.specair-radiation.net>. – Дата доступа: 4.10.2016.
- Сазанова К.В. // Вестн. СПбГУ. Сер. 3. 2010. Вып. 3. С. 93–98.
- Гордеева Т.Х., Гаврицкова Н.Н. // Вестник ПГТУ. 2012. № 2. С. 86–91.
- Schilling J.S., Jellison J. // International Biodeterioration & Biodegradation. 2007. Vol. 60. Р. 8–15.

612.178.4

АНАЛИЗ РИТМОВ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММ С ПОМОЩЬЮ НЕЛИНЕЙНОГО ОПЕРАТОРА TEAGER-KAISER

А.О. КОЗМИДИАДИ, А.П. КЛЮЕВ

УП «Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении»
пер. Товарищеский 2а, Минск, 220037, Республика Беларусь

Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
П. Бровки, 6, Минск, 220013, Республика Беларусь

Поступила в редакцию 22 ноября 2016

Приведены результаты разработки и применения метода для решения прикладных задач анализа ритмической активности электроэнцефалограмм на основе с использованием нелинейного оператора.

Ключевые слова: электроэнцефалограмма, нелинейный оператор.