بیست و سومین کنفرانس اپتیک و فوتونیک و نهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
دانشگاه تربیت مدرس
۱۲-۱۴ بهمن ۱۳۹۵
23rd Iranian Conference on Optics and Photonics and 9th Conference on Photonics Engineering and Technology
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
January 31- February 2, 2017

مقایسه اثر باکتری کشی فلش لامپ پالسی و لامپ پیوسته استریل فرابنفش با جت پلاسمای سرد آرگون-هوا در محیط کشت جامد تلقیح شده با باکتری اشریشیا کلی

مژگان برزگر[۱]، فرشاد صحبت زاده[۱*]، الهام هاشمی نسب[۲]، اباصلت حسین‌زاده کلاگر [۲]، محسن معتمدی[۳]

گروه فیزیک اتمی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر[۱]

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسرکد پستی۹۵۴۴۷- ۴۷۴۱۶، ایران[۲]

نویسنده رابط: فرشاد صحبت زاده، رایانامه: f.sohbat@umz.ac.ir

چکیده - اخیراً بحث استفاده از لامپ استریل فرابنفش پالسی و پلاسمای سرد فشار اتمسفری به عنوان تکنولوژی های جدیدی در زمینه ی استریلیزاسیون مطرح می باشند. از این رو در این تحقیق به مقایسه ی اثرات این دو تکنولوژی در استرلیزاسیون باکتری *اشریشیا کلی* پرداخته شد. نتایج نشان دادند که فلش لامپ پالسی زنون با پوشش پیرکس با حداقل *80* پالس، توانایی استریل سطح باکتری زیر خود را دارد. همچنین نتایج حاصل از شارش پلاسما روی سطح باکتری نشان داد که گونه های فعال موجود در جت پلاسما باعث کاهش چشمگیر در تعداد کلونی ها شده است؛ به طوریکه پس از ۶ دقیقه تیمار با جت پلاسما تعداد کلونی به صفر کاهش یافت. از طرف دیگر اثر لامپ پیوسته استریل فرابنفش تجاری نیز بکار گرفته شد و نتایج استرلیزاسیون توسط آن با لامپ پالسی و پلاسما مقایسه گردید. در یک جمعبندی کلی می توان اشاره کرد که تکنولوژی نوین پالس های نوری با توجه به داشتن انرژی بالا و مدت زمان عمل کم، می تواند بطور موفقیت آمیز در از بین بردن باکتری *اشیریشیا کلی* موثر واقع شود.

کلید واژه- استرلیزاسیون، *اشیریشیا کلی*، پلاسمای سرد فشار اتمسفری، فلش لامپ پالسی، لامپ پیوسته اشعه فرابنفش

Comparing bactericidal effect of pulsed flash lamp and continuous sterilization UV lamps with a cold atmospheric pressure plasma jet on *E. coli* solid growth medium

Barzegar, Mojgan[1]; Sohbatzadeh, Farshad[1*]; Elham, Hashemi Nasab[2]; Hosseinzadeh Colagara, Abaslt[2]; Motamedi, mohsen[3]

[1]Atomic and Molecular Physics Department, University of Mazandaran, Babolsar, Mazandaran

[2]Department of Molecular and Cell Biology, University of Mazandaran, Babolsar, Mazandaran

Abstract- Recently, the use of ultraviolet pulsed disinfection lamps and cold atmospheric pressure plasma are introduced in the field of sterilization as new technologies. Therefore, in this study we compare the effects of these two technologies in decontamination of *E. coli*. The Results of pulsed xenon flash lamp with Pyrex envelope showed that at least 80 pulses, has ability to sterilize the bacteria culture media. The results of plasma flow on treated surface showed that the active species in the plasma jet has caused a dramatic reduction in the number of colonies. So after 6 minutes of treatment with plasma jet number of colonies fell into zero. On the other hand the effects of continuous commercial UV light and pulsed xenon flash lamp were compared with that of plasma jet regarding two different initial bacteria colonies. In conclusion, it can be noted that modern technology of optical pulses due to high energy and low operation time, can successfully be effective in disinfection of solid surfaces.

Keywords: Sterlization, Escherichia coli, Cold atmospheric pressure plasma, arc flash lamp, continuous ultraviolet lamp

[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

۱-مقدمه

کاربرد اشعه فرابنفش چیزی نزدیک به حدود یک قرن است که مورد توجه قرار گرفته است. از آنجاییکه تمامی گستره‌ی طیفی اشعه‌ی فرابنفش توانایی کشتن و یا غیرفعال سازی و جلوگیری از تکثیر بسیاری از گونه‌های میکروارگانیسم‌ها را دارند، در استرلیزاسیون از آن‌ها استفاده‌ی فراوانی می‌شود. همچنین در برخی از مکان‌ها همانند بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی به علت اهمیت زمانی در مدت زمان استریل، می‌توان استفاده از فلش لامپ‌های پالسی پرتوان را نسبت به سایر روش‌های سنتی توصیه کرد. امروزه فلش لامپ‌های پالسی و آرایه‌های جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری افق جدیدی را در کاربردهای زیست فناوری و صنایع گشوده است. در کشورهای آمریکا و آلمان، روسیه، ژاپن، ایران، کانادا تحقیقاتی در زمینه‌ی استرلیزاسیون توسط تابش اشعه‌ی فرابنفش پیوسته و پالسی انجام شده است[1]. یکی دیگر از روش‌های نوین جهت رفع آلودگی، پردازش پلاسما است که یک روش جدید در زمینه‌ی حفظ مواد از اثرات مضر میکروارگانیسم می‌باشد. اولین آزمایش در این زمینه در سال ۱۹۹۶ در رابطه با تاثیر پلاسما در نابودی باکتری‌ها بود[2]. برخلاف اغلب ضدعفونی کننده‌ها، تابش اشعه ماورای بنفش میکروارگانیسم ها را به وسیله اثر متقابل شیمیایی غیر فعال نمی‌کند بلکه آنها را با جذب نور توسط خودشان غیرفعال می‌نماید که منجر به واکنش فتوشیمیایی می‌شود. اشعه مذکور در دیواره سلول میکروارگانیسم ها نفوذ می‌کند، اسیدهای نوکلئیک و دیگر مواد سلولی حیاتی به وسیله آن، تحت تاثیر قرار می‌گیرند. در نتیجه، سلولهایی که در معرض این اشعه بوده صدمه دیده و یا نابود می‌شوند، در واقع سلول خاصیت تکثیر خود را از دست می‌دهد. مقدار تخریب ایجاد شده توسط اشعه فرابنفش با شدت و مدت زمان مجاورت با تابش فرابنفش متناسب می‌باشد. در مراجع [3-4] تحقیقاتی بر روی تاثیر پالس های فرابنفش بر روی باکتری ها صورت گرفته است که همگی نشان از موثر بودن پالس های فرابنفش دارد. ولی در میان مقایسه ای بین لامپ پیوسته و پلاسما صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق مقایسه‌ی کارایی لامپ استریل پیوسته فرابنفش بدون پوشش فلئورسانس (Germicidal lamp) ۳۰ وات ۲۲۰ ولت و فلش لامپ پالسی زنون ۴۰۰ ژول و جت پلاسمای غیرحرارتی[5] گاز آرگون در از بین بردن باکتری اشریشیا کلی از محیط جامد می باشد. بطورکلی میزان تاثیر پالس های نوری برروی میکروارگانیسم‌ها به میزان انرژی که نمونه در هر ثانیه از لامپ دریافت می‌کند(W/M2)، میزان انرژی که نمونه در طی تیمار از لامپ دریافت می‌کند(J/M2)، فاصله زمانی هر پالس و تعداد پالسها بستگی دارد[6].

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تولید جت پلاسما:

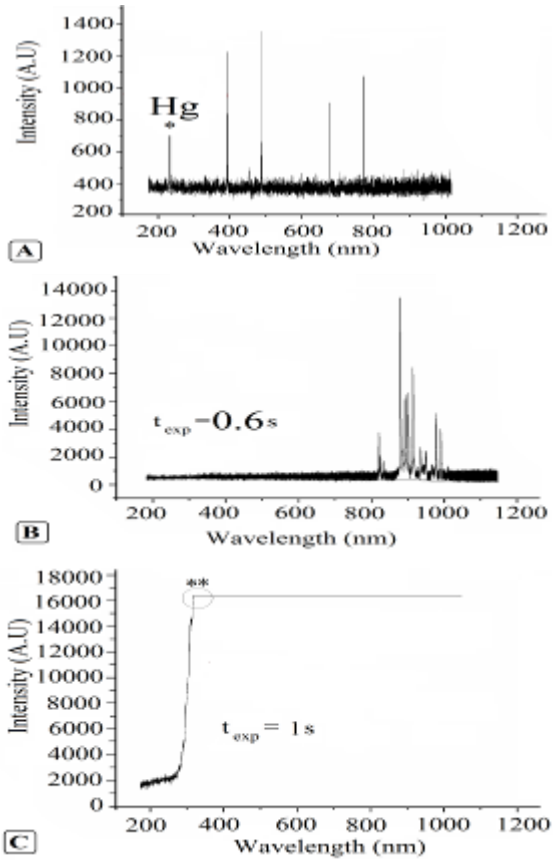
در این بررسی از پلاسمای اتمسفری غیرحرارتی (۹۹٪ آرگون و ۱٪ هوا با جریان گاز یک لیتر بر دقیقه حاوی جت منفرد توسط ولتاژ بالای سینوسی در فرکانس ۱۸,۵۶ kHz برای تیمار نمونه‌ها، که قبلا در مرجع [5]، به کاربرده شد، استفاده گردید. ساختار اصلی دستگاه از یک الکترود استوانه‌ای تشکیل شده که به منبع ولتاژ بالا متناوب متصل شده است.

۲-۲-توصیف دستگاه فرابنفش پالسی:

عملکرد لامپ و نحوه‌ی کارکرد آن در دستگاه مورد استفاده بدین گونه می‌باشد که پس از تریگر نمودن لامپ توسط ولتاژ ۲۰ کیلوولتی، ولتاژ اصلی ۷۰۰ ولتی بین آند و کاتد تخلیه می گردد و منجر به یونش گاز داخل تیوب می شود. پلاسمای تولید شده در این روش به پلاسمای قوس معروف می باشد و دارای بیناب تابشی بسیار گسترده ای از فرابنفش C تا مادون قرمز می باشد.. برای شناسایی بیناب تابشی لامپ استریل فرابنفش و فلش‌لامپ‌پالسی از بیناب سنجی گسیل نوری استفاده شد. در این آزمایش از اسپکترومتر Solar 100 استفاده گردید. مشخصات بیناب گسیلی لامپ‌های فرابنفش استریل و فلش‌لامپ در مدت زمان نورگیری مختلف در شکل ۱ نشان داده شد. در شکل A بیناب تابشی لامپ استرلیزاسیون پیوسته نشان داده شده است و در شکلB بیناب تابشی فلش لامپ در مدت زمان نورگیری ۶۰۰ میلی ثانیه نشان داده شده است. هم چنین برای مشخص نمودن سایر بیناب های تابشی کم شدت، با افزایش زمان نورگیری از ۶۰۰ میلی ثانیه به ۱ ثانیه، نتاج ثبت شده در شکل C نشان داده شده است. در زمان ثبت بیناب حاصل از فلش‌لامپ در مدت زمان نورگیری ۱ ثانیه، دو عدد پلارایز را بصورت عمود بر هم قرار داده، همچنین فیبر نوری را جهت از بین بردن زاویه دید مستقیم کج گذاشته. اما در اندازه‌گیری بیناب گسیلی حاصل از فلش‌لامپ در مدت زمان ۰,۶ ثانیه (شکل B) از هیچ پلارایزی استفاده‌نشد و فقط زاویه ی فیبر را تنظیم‌کردیم. نتایج بیناب نمایی بیان می‌کند که خط با علامت (*) در شکل A مرتبط به عنصر جیوه با طول موج 249.95 می‌باشد که بیشترین نقش را در استرلیزاسیون با لامپ استریل دارد[1].

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]



شکل۱: A) بیناب سنجی لامپ استریل، B و C به ترتیب بیناب سنجی فلش لامپ در مدت زمان نورگیری 0.6 و ۱ ثانیه. (** طول موج قطع اشعه‌ی فرابنفش توسط پیرکس که جنس شیشه ی لامپ می باشد).

جهت اندازه گیری بیناب فلش لامپ، ابتدا مدت زمان نورگیری را به ۱ ثانیه رسانده که تمامی پیک‌ها به حالت اشباع رسیدند، که بیناب قابل قبولی نمی باشد. در نتیجه زمان نورگیری را به ۰,۶ ثانیه کاهش دادیم و بیناب مناسبی را ثبت کردیم، نتایج شکل C بیان می کند که تابش فلش لامپ در طول موج های پایین تر از ۳۰۰ نانومتر قابل ملاحظه است اگر چه توسط پوشش پیرکس از شدت آن بسیار کاسته می شود. بنابراین گستره ی تابشی فلش لامپ مورد استفاده در بازه ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر می تواند در فرایند باکتری کشی موثر واقع شود جاییکه پیوند های DNA باکتری در آن بیشترین جذب را دارند. با جذب تابش فرابنفش در این گستره DNA باکتری تخریب شده و باکتری قادر به ادامه زندگی نخواهد بود.

۳-۲-آماده سازی میکروارگانیسم ها و محیط کشت:

در این پژوهش نمونه‌های لیوفیلیزه باکتری اشریشیا کلی (*Escherichia coli* ATCC 35218) از انسیتو پاستور ایران تهیه گردید. جهت کشت باکتری‌ها از محیط کشت عمومی Luria Bertani یا LB استفاده شد. به این منظور یک میلی لیتر از محیط LB مایع به استوک باکتری اضافه شد و ۱۶ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷°C قرار داده شد. بعد از تهیه کشت خالص و تازه از ذخیره باکتری، ۰,۵ میلی‌لیتر از این LB به محیط کشت LB جامد تلقیح شد سپس به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷°C رشد داده شد. بعد از این مرحله یک لوپ باکتری به ۱۵ میلی‌لیتر LB مایع تازه تلقیح شد و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷°C در انکوباتور شیکردار قرار داده شد. پس از آن مجددا یک میلی لیتر از محیط LB رشد یافته به ۱۵ میلی لیتر LBی مایع تازه درون فالکون تلقیح گردید و در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷°C قرار گرفت تا کدورت محیط LB به OD600nm=0.25که برابر با ۳×۱۰^۸CFU/ml است برسد.

۴-۲-اثر باکتری کشی در محیط کشت جامد:

به این منظور ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیونی از باکتری *E. coli* متناظر با ۵۰۰۰۰ سلول، روی لام به ابعاد۶,۲ * ۴,۲۵ که قبلا در دمای ۲۲۵°C آون به مدت دو ساعت استریل شدند، ریخته و گستره یکنواخت نازک تهیه شد. پس از خشک شدن گستره آن را تحت تیمار با UV قرار دادیم. پس از تابش نور UV اعم از پالسی (به تعداد ۷۰ و ۸۰ پالس در ۵ دقیقه) و یا UV پیوسته (در مدت ۲ و ۴ ساعت) و نیز شارش پلاسما (در زمان ها ۳ و ۶ دقیقه)، باکتری های موجود روی لام با ۵۰ میکرولیتر LB استریل با سواپ جمع آوری شدند و سپس به صورت یکنواخت روی محیط کشت جامد LB به روش قبل تلقیح و کشت یکنواخت شدند. پلیت های تلقیح شده به روش فوق، به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه گردید.

۳-نتیجه و بحث

۱-۳- مقایسه اثر باکتری کشی فلش لامپ زنون و پلاسمای سرد اتمسفری بر روی CFU ۳×۱۰^۸ باکتری *اشریشیا کلی* تلقیح شده به محیط کشت جامد با ضخامت ۴ میلی متر:

نتایج ما نشان داد تیمار پتری دیش های حاوی باکتری اشریشیا کلی به تعداد CFU ۳×۱۰^۸ تلقیح شده به محیط کشت جامد با ضخامت ۴ میلی متر توسط لامپ پیوسته تجاری فرابنفش مخصوص استریل، تاثیری در کاهش تعداد کولنی ها نداشت. همین آزمایش را بروی پتری دیش ها با تعداد باکتری ۳×۱۰^۸CFU توسط فلش لامپ پالسی با ۷۰ پالس در ۵ دقیقه انجام دادیم. نتایج نشان داد که تاثیر قابل ملاحظه ای در کاهش رشد باکتری ها دیده نمی شود. (شکل۲: A1-A3). به منظور مقایسه اثر استرلیزاسیون لامپ‌های پالسی زنون و پیوسته فرابنفش با اثر جت پلاسمای سرد آرگون- هوا، فرایند تیمار را با همین تعداد اولیه تکرار نمودیم. نتایج نشان داد که شارش پلاسما در۹۰ ثانیه تعداد باکتری رشد یافته نسبت به کنترل را، ۲۱,۶۵ درصد (شکل ۲: C2) و در ۳۰۰ ثانیه ۶۱,۱۵ درصد (شکل ۲: C3) کاهش می‌دهد. از شکل ۲ نتیجه گیری می شود که جت پلاسمای سرد آرگون- هوا جهت استرلیزاسیون سطوح جامد

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

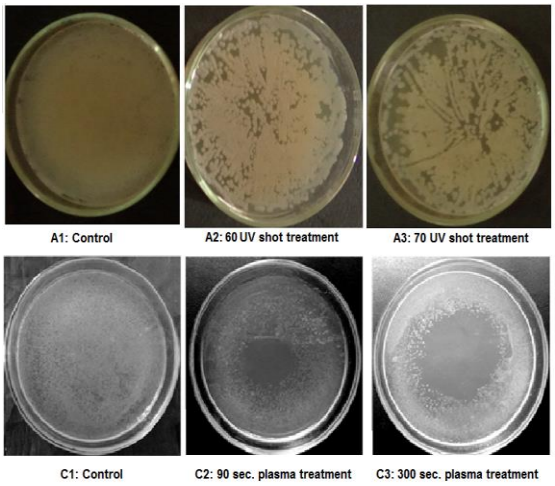
[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]

بسیار موثر تر در مقایسه با لامپ های پالسی زنون و پیوسته فرابنفش است.

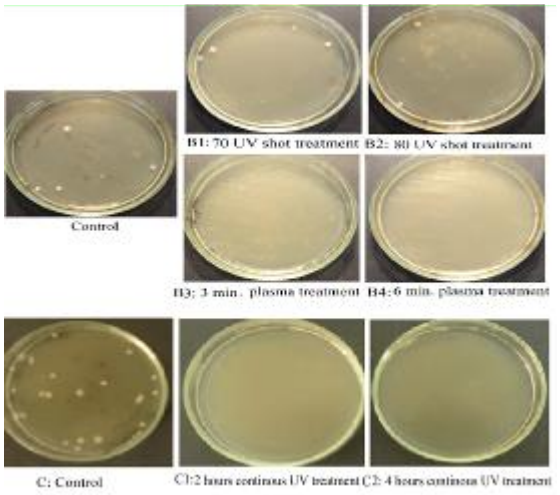
۲-۳- مقایسه اثر باکتری کشی فلش لامپ زنون و لامپ استریل با پلاسمای سرد اتمسفری بر باکتری اشریشیا کلی تلقیح شده به محیط کشت به تعداد CFU ۱×۱۰^۸:

در مطالعه دیگربرای بررسی تاثیر هر سه روش، تعداد کولنی های اولیه باکتری ها را به مقدار CFU ۱×۱۰^۸ کاهش دادیم تا هر سه روش بتوانند باکتری را از محیط کشت جامد از بین ببرند. نتایج نشان داد که پلاسما در شارش ۳ دقیقه ای تعداد باکتری رشد یافته نسبت به کنترل را ۸۷,۵ درصد (شکل ۳: B3) و ۶ دقیقه ای ۱۰۰ درصد (شکل ۳: B4) کاهش می‌دهد، یعنی پلاسما توانایی استریل سازی کامل در این غلظت اولیه باکتری ها دارد. این در حالی است که در شرایط مشابه تیمار و تعداد مشابه باکتری با لامپ پالسی زنون در۵ دقیقه با ۷۰ پالس، تعداد کلنی ۳۷,۵ درصد (شکل ۳: B1) و در ۶ دقیقه با ۸۰ پالس ۶۲,۵ درصد کاهش می‌یابد (شکل ۳: B2) لذا می‌توان نتیجه گرفت، توان استرلیزاسیون جت پلاسمای آرگون- هوا در مقایسه با لامپ پالسی زنون در مدت زمان مشابه بیش‌تر است. همچنین در تیمار با لامپ پیوسته فرابنفش بدون پوشش به مدت ۲ ساعت یا بیش‌تر تعداد باکتری رشد یافته به صفر می‌رسد که گفته می‌شود سطح استریل شد. (شکل ۳: C1 و C2).

تاثیر لامپ استریل و فلش لامپ پالسی و جت پلاسمای سرد آرگون در ازبین بردن باکتری اشریشیا کلی مورد بررسی قرار گرفت. با اعمال پالس هایی از فلش لامپ و شارش پلاسما بر باکتری به این نتیجه رسیدیم که پس از جت پلاسما، فلش‌لامپ-پالسی می‌تواند به عنوان تکنولوژی نوینی در عمل استرلیزاسیون محسوب شود. لذا می توان بجای اینکه چند ساعت را صرف استریل با لامپ های پیوسته UV نماییم می توان در مدت زمان چند دقیقه توسط فلش لامپ به سطح استریل مشابه با لامپ پیوسته دست یافت و یا از تکنولوژی پلاسما استفاده نمود.



شکل۲: مقایسه اثر فلش لامپ پالسی زنون، لامپ پیوسته فرابنفش بدون پوشش با جت پلاسمای اتمسفری: اثر باکتری کشی فلش لامپ پالسی زنون روی ۳*۱۰^۸ باکتری، نمونه‌ی کنترل (A1)، تیمار شده با ۶۰ پالس (A2)، تیمار شده با ۷۰ پالس (A3)، ؛ اثر باکتری کشی پلاسما روی ۳*۱۰^۸ باکتری، نمونه‌ی کنترل (C1)، 90 ثانیه (C2)، 300 ثانیه (C3)،



شکل ۳: مقایسه اثر فلش لامپ پالسی زنون با جت پلاسمای آرگون-هوا: اثر باکتری کشی فلش لامپ پالسی زنون روی ۱*۱۰^۸ باکتری، تیمار شده با ۷۰پالس (B1)، تیمار شده با ۸۰ پالس (B2)؛ اثر باکتری کشی جت پلاسمای آرگون-هوا روی ۱*۱۰^۸ باکتری، تیمار شده با ۳ دقیقه شارش پلاسما (C1)، تیمار شده با ۶ دقیقه شارش پلاسما (C2)؛ اثر باکتری کشی لامپ پیوسته فرابنفش بدون پوشش روی ۱*۱۰^۸ باکتری، نمونه‌ی کنترل (C)، تیمار شده با ۲ ساعت تابش (C1)؛ تیمار شده با ۴ ساعت تابش (C2)

مراجع

[1] Vasilyak, L. M. (2009). Application of pulsed electrical discharge lamps for bactericidal treatment. Surface Engineering and Applied Electrochemistry, 45(1), 26-34.

[2] Kong, P., & Myrtle. (2006, September). Atmospheric Pressure Plasma Process And Applications. In Sohn International Symposium; Advanced Processing of Metals and Materials Volume 6: New, Improved and Existing Technologies: Aqueous and Electrochemical Processing (Vol. 6, pp. 493-506).

[3] Darghahi, MK Sharifi-Yazdi H. "Inactivation of pathogenic bacteria using pulsed UV-light and its application in water disinfection and quality control." Acta Medica Iranica 44.5 (2006): 305-309.

[4] Wekhof, A., Trompeter, F. J., & Franken, O. (2001, June). Pulsed UV disintegration (PUVD): a new sterilisation mechanism for packaging and broad medical-hospital applications. In The first international conference on ultraviolet technologies (p. 15).

[5] Mortazavi S M, Hosseinzadeh Colagara A, Sohbatzadeh F. Efficiency of the cold atmospheric Argon-Oxygen jet plasma for elimination of E. coli & Streptococcus pyogenes from solid and liquid ambient. Iran J Med Microbiol. 2016; 10 (3) :19-30

[6] Gomez-Lopez, V. M., Ragaert, P., Debevere, J., & Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. Trends in food science & technology, 18(9), 464-473.

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]