

## 一种多道电极等离子体表面消毒器的实验研究

潘柯利<sup>1</sup>, 王太武<sup>1</sup>, 刘南<sup>2</sup>, 邓玲<sup>1</sup>, 熊鸿燕<sup>1</sup>

1. 第三军医大学, 重庆 400038; 2. 重庆市疾病预防控制中心, 重庆 400030

**【摘要】目的:**研制多道介质阻挡放电式低温大气压等离子体表面消毒器样机并观察其杀菌效果。**方法:**以芬顿反应为原理测定羟自由基释放速率, 使用纸片作为载体进行定量杀菌实验, 培养和使用椭圆食粉螨作为对象进行杀灭试验, 对多道介质阻挡放电式等离子体消毒器模型的杀菌效果进行观察。根据活菌计数结果和椭圆食粉螨的存活率初步判定该消毒器模型的效果。**结果:**消毒器模型包括高压电源、介质阻挡电极、散热器、控制器等部分, 介质阻挡电极在通电状态时发射出紫蓝色气体状物质, 距离该消毒器电极5 mm处产生的平均温度约40 ℃, 设定不同时间点对染菌纸片进行照射处理, 30 s时金黄色葡萄球菌 ATCC6538、大肠杆菌 8099 的杀灭率达到100%, 180 s时枯草杆菌黑色变种芽孢 ATCC9372 的杀灭率达到100%, 80 s时椭圆食粉螨的杀灭率达到100%, 介质阻挡电极产生 $\cdot\text{OH}$ 的速率为 $2.633 \times 10^{-4} \text{ mol/min}$ 。**结论:**多道介质阻挡放电等离子体消毒器可产生低温、对微生物具有良好杀灭效果的等离子体, 达到预期目标。

**【关键词】**多道电极; 介质阻挡放电; 低温大气压等离子体; 消毒

**【中图分类号】**R187

**【文献标识码】**A

**【文章编号】**1005-202X(2016)01-0088-04

## Experimental study on surface sterilizer with plasmas of multi-channel electrode

PAN Ke-li<sup>1</sup>, WANG Tai-wu<sup>1</sup>, LIU Nan<sup>2</sup>, DENG Ling<sup>1</sup>, XIONG Hong-yan<sup>1</sup>

1. Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 2. Chongqing Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 400030, China

**Abstract: Objective** To develop a surface sterilizer with atmospheric pressure cold plasmas of multi-channel dielectric barrier discharge, and observe the sterilization efficacy. **Methods** The releasing rate of hydroxyl radicals was determined by Fenton reaction; paper was used as the carrier to carry out the quantitative sterilization experiment; the aleurolyphus ovatus was cultivated and used for the sterilization experiments. The sterilization efficacy of sterilizer with plasmas of multi-channel dielectric barrier discharge was observed, and the efficacy was preliminarily determined by the result of viable counts and the survival rate of aleurolyphus ovatus. **Results** The sterilizer model included high-voltage power supply, dielectric barrier electrode, radiator, control unit and so on. In a power-on state, violet gas substance was discharged by dielectric barrier electrode. The average temperature was about 40 ℃ at the 5 mm distance from the sterilizer electrode. Bacteria-paper was irradiated by sterilizer at different time points. After the irradiation for 30s, the sterilization rates of Staphylococcus aureus ATCC6538, Escherichia coli 8099 reached 100%; after the irradiation for 180s, the sterilization rate of Bacillus subtilis var. niger spore ATCC9372 achieved 100%; after the irradiation for 80 s, the sterilization rate of aleurolyphus ovatus was 100%. Hydroxyl free radicals were produced by dielectric barrier electrode at a rate of  $2.633 \times 10^{-4} \text{ mol/min}$ . **Conclusion** The sterilizer with plasmas of multi-channel dielectric barrier discharge produces cold plasmas with satisfactory sterilization efficacy on microorganisms, achieving the expectation effect.

**Key words:** multi-channel electrode; dielectric barrier discharge; atmospheric pressure cold plasmas; sterilization

**【收稿日期】**2015-08-14

**【基金项目】**重庆市科技攻关计划项目(CSTC2012GG-YYJS10020);  
重庆市科学科研计划项目(2012-1-081)

**【作者简介】**潘柯利(1988-), 男, 检验医师, 在读硕士研究生, 研究方向为传染病流行病学。Tel: 023-68772076; E-mail: fiesta7280@sina.com。

**【通信作者】**熊鸿燕, 女, 博士, 教授, 研究方向为传染病流行病学。  
Tel: 023-68772076; E-mail: hongyanxiong@126.com。

## 前言

等离子体是在高压电极环境下气体放电产生的高能活性粒子。由于放电过程中会产生大量的自由基和准分子, 如 $\text{O}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{NO}$ 等, 它们的化学性质非常活跃, 很容易与其他原子、分子或其他自由基发生反应。因此, 利用这些自由基的特性来作用于微生物

物,具有重要价值。其高效的杀菌效应、方便、经济及环境亲和等特点被视为是具有巨大潜力的消毒、灭菌技术。分别以空气、物体表面和水体作为消毒对象的等离子体消毒器的开发及其机制研究是近年来国内外相关领域的工作热点<sup>[1-3]</sup>。在前期研究中,我们设计、制作了用于表面消毒的单道等离子电极(介质阻挡电极)消毒器,其杀菌效应展示出良好的应用前景<sup>[4]</sup>。为适宜于应用,我们进一步设计、制作了多道等离子体电极消毒器,并在实验室条件下初步观察了其杀菌效果。

## 1 方法

### 1.1 等离子体表面消毒器设计及制作

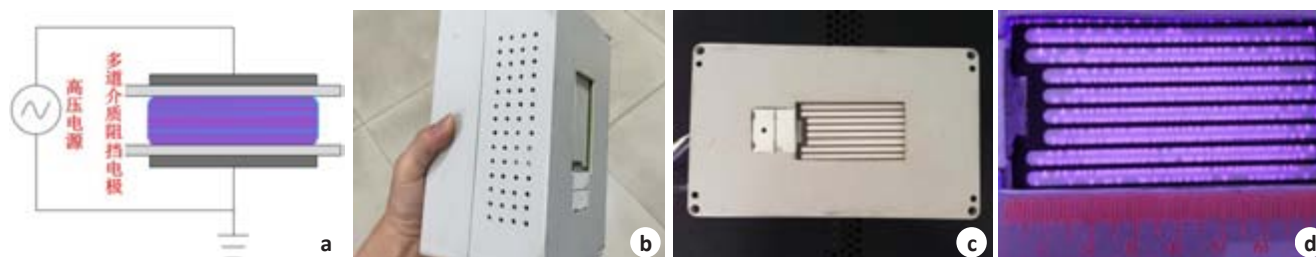


图1 多道介质阻挡等离子体电极消毒器

Fig.1 Sterilizer with plasmas of multi-channel dielectric barrier discharge

a: Circuit diagram of multi-channel dielectric barrier discharge; b: Plasma sterilizer probe; c: Side of sterilizer of multi-channel dielectric barrier discharge; d: State of electric discharge

### 1.2 等离子体中羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )浓度的测定

参考颜军、管荷兰等<sup>[6-7]</sup>报道的方法,先标定高锰酸钾溶液和过氧化氢溶液。进一步应用芬顿反应原理,用水杨酸(在有乙醇环境下)捕捉反应中产生的 $\cdot\text{OH}$ ,分光光度计(510 nm 波长)测定经过上述反应后产物的吸光度,建立 $\cdot\text{OH}$ 标准曲线。

使用等离子体表面消毒器对水杨酸溶液进行一定时间的照射处理,测定吸收液吸光度,根据建立的标准曲线推算处理液中 $\cdot\text{OH}$ 的生成量。根据照射时间推算出等离子体电极释放有效 $\cdot\text{OH}$ 的速率。

### 1.3 杀菌试验

**1.3.1 菌悬液和染菌载体制备** 试验菌金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、大肠杆菌(8099)及枯草杆菌黑色变种芽孢(ATCC9372)购自中国菌种保藏中心。按照《消毒技术规范》的要求进行试验菌的培养、悬液制备。取菌液 10  $\mu\text{L}$  均匀涂于 1.0 cm $\times$ 1.0 cm 的灭菌纸片,晾干即制成染菌载体,平均回收菌数为  $10^3\sim 10^4$  cfu/片。

**1.3.2 杀菌试验** 将染菌纸片置于距离等离子体电极 5.0 mm 处,照射至设定时间(阳性对照菌片不经照射

根据介质阻挡放电(Dielectric Barrier Discharge, DBD)原理<sup>[5]</sup>,设计多道介质阻挡高压电极(图1)。消毒器体积为 20 cm $\times$ 12 cm $\times$ 11 cm,质量约 760 g,电极面积(消毒处理面)4.0 cm $\times$ 7.5 cm。其电路电源采用 220 V/120 W 的开关电源,加载高压包后实现 20 kV 的高压输出,成为电离空气的电极电压。在常温、大气压条件下,电极之间的气体被击穿导致电离,使周围产生大量由正负离子组成的离子化气体状物质。在这样的电磁场作用下产生的等离子体气体即为非平衡等离子体气体,会对近距离范围内的微生物产生杀灭作用。电极附近(5 mm 处)持续温度为 42  $^{\circ}\text{C}$  左右(使用优利德 UT300A 红外测温仪测定)。

处理),取出染菌纸片置于装有 5.0 mL 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)的试管中,震荡器上震荡洗脱 30 s,取混合液 1.0 mL 接种无菌平皿,一式 3 份,于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h 后进行活菌计数,计算杀菌率。

**1.3.3 杀螨虫试验** 椭圆食粉螨由皖南医学院病原生物学教研室提供。按照李朝品等<sup>[8]</sup>的方法进行螨虫培养及观察。分别取 20 只左右于平皿中,低倍显微镜下观察虫体活动情况。将等离子体电极距离虫体 5.0 mm 处照射一定时间,终止照射后继续观察虫体活动,5 min 后不活动定义为死亡。

## 2 结果

### 2.1 表面消毒器电极附近 $\cdot\text{OH}$ 浓度测定

图2为 $\cdot\text{OH}$ 标准曲线。根据标准曲线推测,等离子体电极 2~5 mm 处吸收液中有效 $\cdot\text{OH}$ 的释放速率为  $2.633\times 10^{-4}$  mol/min。

### 2.2 杀灭病原体效果

从表1~3可见,在距离电极 5.0 mm 处进行照射,等离子体表面消毒器分别在 30 s、30 s、180 s 和 80 s

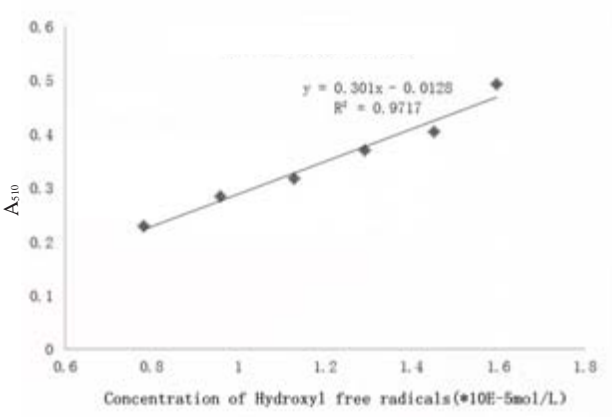


图2 不同·OH浓度对应吸光度值的标准曲线

Fig.2 Standard curve of absorbance values and different concentration of hydroxyl free radicals

对金色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草杆菌芽胞及螨虫的灭活率达到100%。

3 讨论

等离子体消毒的高效、环保,尤其是对不耐热物品消毒作用的特点被研究者所青睐。近年来不同使用目标的消毒器得到设计、开发,如 Vassal 等<sup>[9]</sup>研究等离子体对在临床上引起严重腹泻的隐孢子虫的杀灭效果,针对其良好的杀灭效果,预示今后可进一步开发表面及水体消毒器;德国马普学会也已研究出一种利用等离子体灭菌的手电型消毒装置,其可以有效消灭手上和食品上包括肠出血性大肠杆菌在内的各种病菌,在实验室条件下,可在 20 s 内杀死照射

表 1 等离子体消毒器对纸片载体上细菌的灭活效果  
Tab.1 Sterilization efficacy of plasma sterilizer on bacteria

Bacterial species	Number of test	Positive control (CFU/piece)	Killing rate of different time (%)			
			15 s	30 s	45 s	60 s
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	1	5675	99.55	100	100	100
	2	8450	99.88	100	100	100
	3	46 000	99.85	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> 8099	1	2925	97.09	100	100	100
	2	7050	99.50	100	100	100
	3	11 125	100	100	100	100

表 2 等离子体消毒器对纸片载体上芽胞的灭活效果  
Tab.2 Sterilization efficacy of plasma sterilizer on *Bacillus subtilis* var.*niger* spore ATCC9372

Number of test	Positive control (CFU/piece)	Killing rate of different time (%)				
		30 s	60 s	90 s	120 s	180 s
1	4750	80.00	98.00	99.09	99.94	100
2	22 700	64.53	84.25	94.09	97.81	100
3	145 750	86.86	95.52	96.55	99.86	100

表 3 等离子体消毒器对平皿中椭圆食粉螨的灭活效果  
Tab.3 Sterilization efficacy of plasma sterilizer on aleurolyphus ovatus

Number of test	Processing time (s)	Initial active aleurolyphus ovatus (n)	Active Aleurolyphus ovatus after processing (n)	Killing rate (%)
1	40	28	25	10.71
2	50	15	13	13.33
3	60	16	3	81.25
4	70	20	2	90.00
5	80	18	0	100

面积上超过99%的细菌<sup>[10]</sup>; Selcuk等<sup>[11]</sup>使用等离子体对谷物进行净化处理,使曲霉属真菌和青霉菌的感染率下降到1%以下。本研究设计制作的多道阻挡电极等离子体表面消毒器具有高效的杀灭病原体效果。在短时间内(30~180 s)可杀灭细菌繁殖体、芽胞和螨虫,整个过程环境温度为40℃左右。这些特点与传统理化消毒方法相比具有明显的优势。本研究中,纳入了螨虫进行杀灭效果的观察,其结果将有利于拓宽等离子体消毒器的应用范围。在今后的研究中我们还将开展不同载体材料及实际环境表面的消毒效果观察,以期为该消毒器的开发、应用提供科学的实验数据。

DBD是有绝缘介质插入放电空间的一种非平衡态气体放电,又称无声放电。放电过程中会产生大量的自由基和准分子,是应用的物质基础,其成分的测定对认识等离子体的特点及指导其应用有着重要意义。但是,目前国内的等离子体成分及强度检测仪器匮乏。本研究中,为间接掌握电极产生活性物质的强度,我们采用了芬顿法对电极附近·OH浓度进行了测定。相关结果虽然在本研究中为设计表面消毒强度提供了一定依据,但其代表等离子体的全面性还有待讨论。

## 【参考文献】

- [1] GALVIN S, CAHILL O, O'CONNOR N, et al. The antimicrobial effects of helium and helium-air plasma on *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile*[J]. Lett Appl Microbiol, 2013, 57(2): 83-90.
- [2] CAHILL O J, CLARO T, O'CONNOR N, et al. Cold air plasma to decontaminate inanimate surfaces of the hospital environment[J]. Appl Environ Microbiol, 2014, 80(6): 2004-2010.
- [3] 叶帼媛, 张茜, 潘红, 等. 低温等离子体活性水对致病菌的作用[J]. 中国科学: 生命科学, 2013, 43(8): 679-684.  
YE G P, ZHANG Q, PAN H, et al. Efficiency of pathogenic bacteria inactivation by non-thermal plasma activated water[J]. Science in China: Life Sciences, 2013, 43(8): 679-684.
- [4] 王太武, 陈仕国, 张明伟, 等. 非平衡等离子体微型消毒器模型的性能研究[J]. 中国消毒学杂志, 2013, 31(5): 405-408.  
WANG T W, CHEN S G, ZHANG M W, et al. Study on miniature sterilizer model based on non-equilibrium plasma[J]. Chinese Journal of Disinfection, 2013, 31(5): 405-408.
- [5] KOSTOV K G, ROCHA V, KOGA-ITO C Y, et al. Bacterial sterilization by a dielectric barrier discharge (DBD) in air[J]. Surf Coat Technol, 2010, 204: 2954-2959.
- [6] 颜军, 苟小军, 邹全付, 等. 分光光度法测定Fenton反应产生的羟基自由基[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2009, 28(2): 91-93.  
YAN J, GOU X J, ZOU Q F, et al. Determination of hydroxyl radical generating from fenton reaction by spectrophotometry[J]. Journal of Chengdu University (Natural Science Edition), 2009, 28(2): 91-93.
- [7] 管荷兰, 王永顺, 林国华. 水杨酸在羟基自由基检测中的应用[J]. 理化检验(化学分册), 2010, 40(3): 333-335.  
GUAN H L, WANG Y S, LIN G H. Applications of salicylic acid to determination of the hydroxyl free radical[J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2010, 40(3): 333-335.
- [8] 李朝品. 医学螨螨学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2006: 288-291.  
LI C P. Medical Acarology[M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2006: 288-291.
- [9] VASSAL S, FAVENNEC L, BALLEST J J, et al. Hydrogen peroxide gas plasma sterilization is effective against *Cryptosporidium parvum* oocysts[J]. Am J Infect Control, 1998, 26(2): 136-138.
- [10] 德国研制出等离子体消毒“手电”[J]. 现代科学仪器, 2011(3): 106.  
The Germans developed plasma disinfection "torch"[J]. Modern Scientific Instruments, 2011(3): 106.
- [11] SELCUK M, OKSUZ L, BASARAN P. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* by cold plasma treatment[J]. Bioresource Technol, 2008, 99(11): 5104-5109.