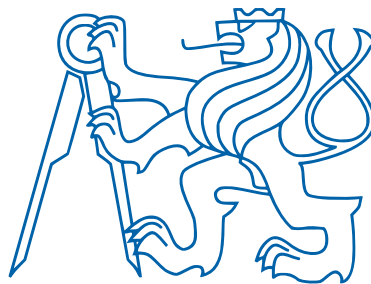


ČESKÉ VYSOKÉ TECHNICKÉ UČENÍ V PRAZE

FAKULTA ELEKTROTECHNICKÁ

KATEDRA TEORIE OBVODŮ



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Srovnání vlivu UV záření generovaného
korónovým a klouzavým výbojem na inaktivaci
bakterií**

Autor: Bc. Lenka Jonášová

Vedoucí práce: Ing. Vladyslava Fantova

05/2016

Praha

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Student: Bc. Lenka J o n á š o v á

Studijní program: Biomedicínské inženýrství a informatika

Obor: Biomedicínské inženýrství

Název tématu: Srovnání vlivu UV záření generovaného korónovým a klouzavým výbojem na inaktivaci bakterií

Pokyny pro vypracování:

1. Seznámit se s doposud objasněnými mechanizmy inaktivace bakterií netermálním plazmatem.
2. Provést návrh elektrodového systému pro odstínění všech produktů výboje až na UV záření.
3. Navrhnout koncentraci bakterií a elektrické parametry experimentu.
4. Provést experimenty a diskuzi výsledků.

Seznam odborné literatury:

- [1] Kracík J., Slavík J. B., Tobiáš J.: Elektrické výboje. Praha, 1964.
- [2] Hipper R., et al.: Low Temperature Plasmas. Německo, 2008.
- [3] Piel A.: Plasma Physics - An introduction to Laboratory, Space and Fusion Plasmas. Springer, 2010.
- [4] Julák J.: Mikrobiologie - praktikum. Praha, 2003.

Vedoucí diplomové práce: Ing. Vladyslava Fantova

Platnost zadání: do konce letního semestru 2016/2017

L.S.

prof. Ing. Pavel Sovka, CSc.
vedoucí katedry

prof. Ing. Pavel Ripka, CSc.
děkan

V Praze dne 18. 4. 2016

Prohlášení autora práce

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracovala samostatně a že jsem uvedla veškeré použité informační zdroje v souladu s Metodickým pokynem o dodržování etických principů při přípravě vysokoškolských závěrečných prací.

V Praze dne

.....

Podpis autora práce

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí této diplomové práce, Ing. Vladyslavě Fantově, za odborné vedení a také za rady, které byly pro tuto práci přínosem. Dále děkuji doc. RNDr. Janu Píchalovi, CSc. za asistenci při měření s experimentální sestavou pro klouzavý výboj. Nemalý dík také patří Ing. Janu Slámovi za pomoc při dokumentování průběhu výbojů. V neposlední řadě také děkuji Ing. Jaroslavu Jírovi za komentáře k vypracovanému textu.

Název práce: **Srovnání vlivu UV záření generovaného korónovým a klouzavým výbojem na inaktivaci bakterií**

Autor: Lenka Jonášová

Obor: Biomedicínské inženýrství

Studijní program: Biomedicínské inženýrství a informatika

Druh práce: Diplomová práce

Vedoucí práce: Ing. Vladyslava Fantova¹

¹ Katedra fyziky, FEL, ČVUT v Praze

Abstrakt:

Tato diplomová práce je zaměřena na problematiku týkající se inaktivace dvou typů mikroorganismů (bakterií a kvasinek) pomocí UV záření generovaného pomocí dvou různých elektrických výbojů. Výsledky měření jsou porovnány jednak mezi sebou, jednak jsou porovnávány s výsledky měření účinků všech produktů výbojů. Cílem není získat nový zdroj UV záření, který by byl použitelný v běžné praxi. Výsledky měření podhalují dekontaminační vlastnosti specifických UV záření, jež se shodují s výsledky publikovanými odborníky v zahraničí.

Klíčová slova: UV, plazma, dekontaminace

Title: **Comparison of effects on the inactivation of bacteria caused by UV radiation generated by corona discharge and gliding arc discharge**

Author: Lenka Jonášová

Field of study: Biomedical engineering

Study programme: Biomedical engineering and informatics

Abstract:

This diploma thesis is focused on issues relating to the inactivation of two types of microorganisms (bacteria and yeasts) using UV radiation generated by two different electrical discharges. The measurement results are compared among each other and also are compared with the measurement results of the effects of all discharge products. The aim is not to gain a new source of UV radiation, which would be applicable in routine practice. The measurement results reveal decontamination properties of specific UV radiation, which coincide with the results published by experts abroad.

Key words: UV, plasma, decontamination

Obsah:

Úvod	9
-------------------	---

Teoretická část diplomové práce

1. Plazmová medicína	11
2. Plazma	11
2.1. Produkty plazmatu a jejich schopnost inaktivovat mikroorganismy	13
2.1.1. Nabité ionty v plazmatu	14
2.1.2. UV záření	15
2.1.3. Volné radikály	15
2.1.4. Reaktivní formy kyslíku	15
2.2. Zdroje plazmatu za atmosférického tlaku	16
2.2.1. Samostatný nesamostatný výboj ve vzduchu	16
2.2.1.1. Korónový výboj	17
2.2.1.2. Dielektrický bariérový výboj	18
2.2.1.3. Plazmový hořák	20
2.2.1.4. Jiskrový výboj	21
2.2.1.5. Klouzavý výboj.....	22
3. UV záření	23
3.1. Základní vlastnosti UV	23
3.2. Zdroje UV.....	24
4. Mikrobiologická část	25
4.1. Escherichia coli.....	25
4.2. Saccharomyces cerevisiae	26

Praktická část práce

5. Úvod k praktické části diplomové práce	28
6. Použitý biologický materiál	29
6.1. Postup přípravy	29
7. Experimentální sestava pro korónový výboj	30
8. Experimentální sestava pro klouzavý výboj	34
9. Výsledky měření	35
9.1. Záporný korónový výboj.....	36
9.1.1. Saccharomyces cerevisiae.....	36
9.1.2. Escherichia coli.....	38
9.2. Klouzavý výboj.....	41
9.2.1. Saccharomyces cerevisiae	41

9.2.2. Escherichia coli	45
10. Diskuse	49
11. Závěr	50
Reference	51
Přílohy	55

Úvod

Cílem této diplomové práce je jednak seznámit čtenáře s problematikou týkající se použití netermálního plazmatu k dekontaminaci prostředí (inaktivaci mikroorganismů na zasažených površích), jednak navrhnout elektrodový systém pro odstínění všech produktů výboje kromě UV záření. Výsledky získané ze sady měření s korónovým a klouzavým výbojem, jimž budou vystaveny dva typy organismů, budou následně porovnány, aby bylo možné stanovit významnost role, kterou při inaktivaci UV představuje. Cílem této práce není získat nový zdroj UV záření, který by mohl být používán v běžné praxi, neboť by se jednalo o zdroj vysoce neefektivní.

Před provedením samotných experimentů je nutné se nejprve seznámit s mechanismy, které vedou k inaktivaci netermálním plazmatem. Podrobněji budou rozebrány jednotlivé produkty výboje. Následně bude představeno několik základních zdrojů elektrických výbojů a jejich vlastnosti. Dále bude čtenáři přiblížena problematika UV záření a budou také představeny použité typy mikroorganismů.

Praktická část této diplomové práce se věnuje konstrukci prototypů generujících elektrické výboje, z jejichž produktů lze oddělit UV a pozorovat tak jeho účinky na použité mikroorganismy. Ke komplexnějšímu srovnání bylo dále provedeno i několik sad měření zachycujících výsledky nepřímého působení všech produktů výboje. Rozbor výsledků je shrnut v sekci diskuse a v závěru.

Teoretická část práce

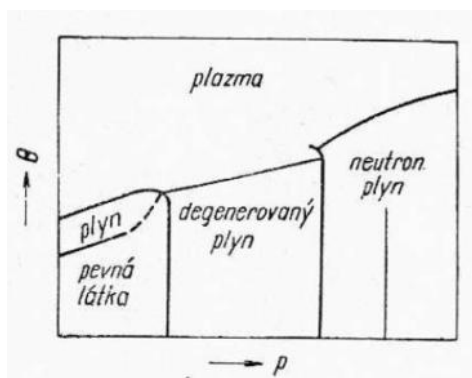
1. Plazmová medicína

V současné době existují přesvědčivé důkazy o tom, že je netermální atmosférické plazma (NAP) schopno při interakci s tkání cíleně odstranit buňky bez způsobení nekrózy. Ukazuje se, že působení NAP nemá stejný vliv na eukaryotické buňky a bakterie. Bakterie jsou vůči plazmatu působení NAP méně odolné a jsou inaktivované již po krátké době působení, ale eukaryotické buňky jsou odolnější a nevratné procesy se v nich začnou dít až po delší době.^[1, 2]

Schopnost NAP usmrcovat bakterie a také zvýšit proliferaci buněk specifických tkání naskýtá možnost uplatnění plazmatu při mnohých medicínských aplikacích. Tato schopnost se v praxi osvědčila a NAP se tak stalo účinným nástrojem používaným při hojení špatně se hojících ran, léčení kožních nemocí, dodržování nemocniční hygieny, sterilizaci, antimykotické léčbě, zubní péči, kosmetickém cíleném odstranění buněk a v neposlední řadě je též nutné zmínit možný potenciál této metody při léčbě nádorových onemocnění. Probíhající výzkum totiž naznačuje, že plazma je schopné selektivního vymýcení nádorových buněk in vitro. A způsobuje též redukci velikosti tumoru při zkoumání in vivo.^{[3]-[10]}

2. Plazma

Kromě pevného, kapalného a plynného skupenství se v přírodě vyskytuje ještě čtvrté skupenství hmoty, plazma (viz. Obr. č. 1). Převážná většina hmoty ve vesmíru je tvořená právě plazmatem. Jedná se o kvazineutrální částicový systém (na venek se projevuje tak, že celkový prostorový náboj je nulový) ve formě plynné směsi volných elektronů a iontů. Velmi často tento systém též obsahuje neutrální částice (atomy, molekuly). Elektrony i ostatní komponenty plazmatu mají vysokou střední hodnotu kinetické energie (částice s energií 0,2 eV až 2 MeV). Nabitě částice a jejich elektromagnetické interakce mají podstatný vliv na vlastnosti celého systému. Částice na sebe v důsledku coulombovských sil navzájem působí, což způsobuje kolektivní chování částic. V rámci menších oblastí se v plazmatu vytváří makroskopické nenulové náboje. Tyto nehomogenity způsobují významnou změnu ve vodivosti, která se díky nim blíží vodivosti kovových vodičů. Horké plazma má vodivost dokonce větší.^[11, 12, 13]



Obr. č. 1: Schematický stavový diagram skupenství látek za různých tlaků p a teplot θ ¹

Plazma lze definovat jako vysoce ionizovaný plyn (viz. Obr. č. 2). Při zahřívání plynu nejprve dochází k disociaci a následně dojde k ionizaci – vznikají kladné a záporné částice. Stejný počet kladně nabitých částic a záporně nabitých částic navenek vyvolává dojem již zmíněné kvazineutality.^[11]



Obr. č. 2: Plazma na povrchu Slunce²

Vzájemné působení částic mezi sebou vede k pružným a nepružným srážkám. Pružné srážky způsobují pouze změnu rychlosti a směru pohybu částic, nepružné srážky mnohdy vedou k vybuzení částic do jiného kvantového stavu, rekombinaci či ionizaci. Přechod vybuzených částic do normálního kvantového stavu způsobuje vysílání fotonů záření (UV a viditelného záření).^[11, 12]

Intenzita elektrického pole v plazmatu klesá s rostoucí vzdáleností exponenciálně. Zvýšení rychlosti poklesu intenzity je způsobeno přítomností nabitých částic, které postupně náboj odstiňují (kladné ionty přitahují elektrony s malou kinetickou energií). Vzdálenost, kde intenzita pole poklesne na cca 37% (tedy na $1/e$), nazýváme Debyeovou stínící délkou d . Pomyslná koule o poloměru d nazýváme Debyeovou sférou. Uvnitř této sféry se předpokládá pokles intenzity elektrického pole daný Coulombovým zákonem (vzorec č. 1), popisující sílu F , jíž na sebe vzájemně ve vzdálenosti r působí 2 náboje Q a q . Zejména u výrazně menších poloměrů, než je d , hraje odstínění minimální roli. Opačně je tomu mimo Debyeovu sféru,

¹ Kracík, J.; Slavík J. B.; Tobiáš, J.: Elektrické výboje, Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 1964

² <http://3atoms.org/what-is-plasma-and-gans/>

kde intenzita pole klesá exponenciálně a pokles síly s rostoucí vzdáleností daný vztahem č. 1 je proti tomu zanedbatelný.^[13]

$$F = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Qq}{r^2} \quad (1)$$

S rostoucí teplotou plynu Debyeova délka roste. Tato vzdálenost je definována pomocí vztahu č. 2, kde ϵ_0 označuje permitivitu vakua (stejně jako v Coulombově zákoně), k Boltzmannovu konstantu, T teplotu plynu, N počet stejně nabitých částic v 1 m^3 a e označuje elementární náboj (náboj jednoho elektronu).^[13]

$$d = \sqrt{\frac{\epsilon_0 k T}{N e^2}} \quad (2)$$

V důsledku proměnlivého vnějšího pole může v plazmatu dojít k vychýlení polohy elektronů oproti iontovému pozadí. Následně dochází k vytvoření takového elektrického pole, které se snaží opět obnovit neutralitu. Setrvačné síly však nedovolují elektronům zastavit v rovnovážné poloze, a proto dochází ke vzniku oscilací elektronů kolem této polohy. Úhlovou frekvenci takovýchto kmitů nazýváme plazmovou frekvencí, která je dána vztahem č. 3, kde N je koncentrace plazmatu, e je elementární náboj, ϵ_0 je permitivita vakua a m_e je hmotnost elektronu.

$$\omega_p = \sqrt{\frac{N e^2}{\epsilon_0 m_e}} \quad (3)$$

Plazma lze vytvořit v různých plynech (He, Ar, atd.), ale velmi často je generováno ve vzduchu za atmosférického tlaku, neboť vzdušná atmosféra není složitá na přípravu a již vytvořené plazma lze velmi snadno aplikovat na pozorované vzorky. Interakce plazmatu s vyššími organizmy (včetně lidského epitelu) je předmětem perspektivního oboru plazmová medicína.

Plazma můžeme obecně rozdělit do dvou skupin a to na termální a netermální plazma. V termálním plazmatu jsou relativní teploty elektronů, iontů a neutrálních částic v rovnováze, tj. mají stejnou teplotu. Netermální plazma se projevuje významně nižší teplotou iontů a neutrálních částic než jakou mají elektrony. Teploty iontů a neutrálních látek se často blíží pokojové teplotě.^[12, 13]

2.1. Produkty plazmatu a jejich schopnost inaktivovat mikroorganismy

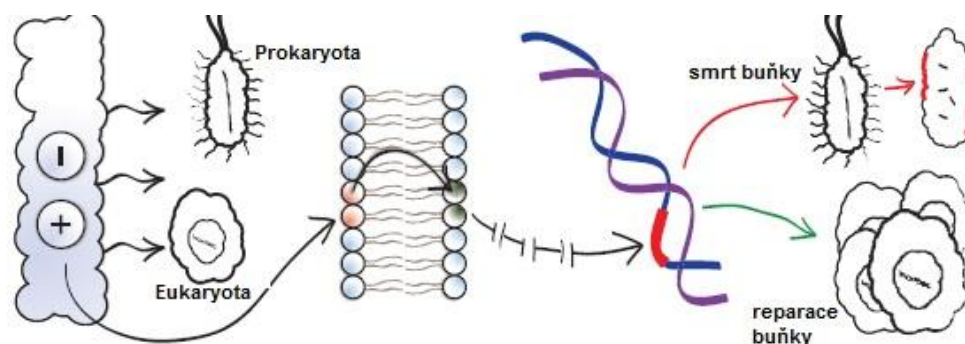
Interakce mezi částicemi (elektrony, ionty, neutrální částice) ve vysoce ionizovaném plynu vedou ke vzniku UV záření a vysoce reaktivních látek – různé reaktivní formy kyslíku

(OH, O, O₃) a volných radikálů. Na inaktivaci mikroorganismů při použití plazmatu za atmosférického tlaku se podílí zejména radikály, reaktivní formy kyslíku a dusíku a nabitě částice. Účinek UV je zřejmý, pouze pokud je generováno záření UVC, které má germicidní účinky (viz. kapitola UV záření). Malé dávky plazmatu způsobí inaktivaci bakterií, střední dávky (2-6 J.cm⁻²) opravitelné poškození DNA a dochází ke změnám růstového faktoru buněk. Vysoké dávky (> 7 J.cm⁻²) vyvolají normální buněčnou smrt a dávky větší než 10 J.cm⁻² dokonce nekrozu.^[14, 15]

V rámci této práce jsou rozlišovány dva typy působení produktů plazmatu na mikroorganismy: přímé a nepřímé. Za přímé je působení považováno pouze tehdy, pokud výboj produkující plazma prochází skrz zkoumaný vzorek. Vzorek je tedy vystaven působení všech produktů výboje. Za nepřímé je považováno tehdy, pokud je vzorek umístěn do těsné blízkosti výboje, ale samotný výboj jím neprobíhá. Nedochozí tedy většinou k interakci vzorku s nabitými částicemi a ionty, neboť ty jsou dle polarity sebrány příslušnými elektrodami.

2.1.1. Nabitě ionty v plazmatu

Ionty hrají při přímých interakcích s mikroorganismy nejvýznamnější roli, přičemž působení kladných i záporných iontů vyvolá stejný efekt v plynu. Ionty vyvolávají peroxidační proces uvnitř i vně zkoumaného organismu. Pro tento proces je nezbytná přítomnost kyslíku. Vzniklé vysoce reaktivní formy kyslíku (meziprodukty peroxidace) následně napomáhají při peroxidaci fosfolipidové nebo polysacharidové (u bakterií) buněčné membrány. Peroxidace lipidové (sacharidové) vrstvy aktivuje intracelulární dráhy, což vede ke změně struktury DNA vyústící v apoptózu buňky nebo její reparaci (viz Obr. č. 3).^[12, 13, 15]



Obr. č. 3: Působení iontů na živé organismy³

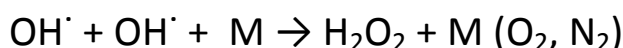
³ Dobrynin, D.; Fridman, G.; et al.: Physical and biological mechanisms of direct plasma with living tissue, New journal of physics, 2009, vol. 11

2.1.2. UV záření

Výsledky působení UV záření na živé mikroorganismy je výrazně ovlivněno volbou zdroje plazmatu. Germicidní účinky se projevují pouze u UV záření o vlnových délkách 220 až 280 nm. Další podstatnou vlastností vedoucí k inaktivaci je dostatečná intenzita záření, neboť při průchodu prostředím směrem ke vzorku dochází k jeho útlumu. Aby bylo možné pozorovat výsledky interakce pouze mezi UV zářením a živými organismy, je nutné jej oddělit od ostatních produktů plazmatu pomocí křemenného skla. Pro UV generované korónovým nebo dielektrickým bariérovým výbojem nebyl například pozorován žádný efekt na ošetřené organismy. ^[15]

2.1.3. Volné radikály

Díky určitému množství vody přítomné ve vzduchu ve formě vodní páry dochází v plazmatu ke vzniku OH radikálu. Rekombinace těchto dvou polárních radikálů na molekulu hydrogen peroxidu, který snadno prostupuje membránou buněk, vede k jejímu letálnímu poškození. ^[12, 15]

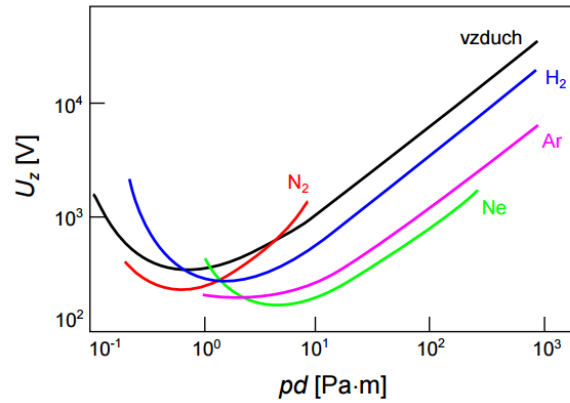


2.1.4. Reaktivní formy kyslíku

Jednou z nejreaktivnějších forem kyslíku je ozón O₃. Jeho baktericidní účinky jsou obecně známé, a proto je ozón používán v průmyslu již několik desetiletí. Koncentrace ozónu vzniklého působením plazmatu ve vzduchu však není dostatečná k tomu, aby došlo k významnější inaktivaci mikroorganismů. Jednou z možných forem kyslíku je tzv. singletový kyslík ¹O₂, který se významně podílí na inaktivaci bakterií. Tato molekula má oproti běžně se ve vzduchu vyskytujícímu tripletovému kyslíku (³O₂) spárované elektronové spiny, a proto je vysoce reaktivní. ^[12, 15, 16]

2.2. Zdroje plazmatu za atmosférického tlaku

Až 99% vesmíru je tvořeno plazmatem. Na Zemi se s ním však můžeme setkat pouze ve formě polární záře, plynu svítícího v zářivkách či blesku a elektrických výbojů. Zdroji plazmatu za atmosférického tlaku jsou míněny takové zdroje, u nichž lze výboj zapálit již při tlaku 1 atm, tj. 1013 hPa. Závislost zápalného napětí, tedy napětí, při kterém výboj vznikne, na tlaku vzduchu a vzdálenosti elektrod popisuje Paschenův zákon (viz. Obr. č 4). ^[17]



Obr. č. 4: Paschenův zákon pro vzduch a další plyny⁴

Z obrázku č. 4 je patrné, že pro vznik výboje ve vzduchu je za stejných podmínek (stejný tlak a vzdálenost elektrod) nutné významně větší napětí než u ostatních plynů. Paschenův zákon je definován dle následujícího vztahu č. 4:

$$U_Z = \frac{Bpd}{\ln(Apd/C)} \quad , \quad (4)$$

$$\text{kde} \quad C = \ln \left(\frac{1}{\gamma} + 1 \right) \quad (5)$$

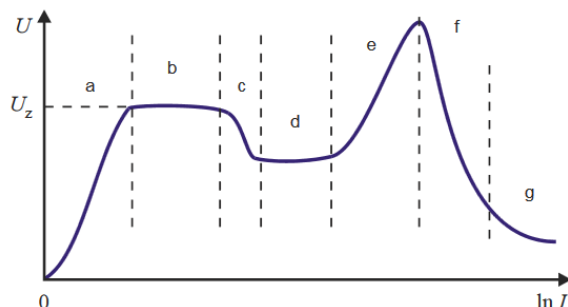
Zápalné napětí U_z je tedy přímo úměrné okolnímu tlaku p a vzdálenosti mezi elektrodami d . Ve vztahu dále vystupují konstanty $A = 1/p\lambda_e$ a $B = U_i/p\lambda_e$, které závisí na volbě plynu mezi elektrodami, kde λ_e určuje střední volnou dráhu elektronů a U_i je ionizační potenciál plynu. Konstanta γ ve vzorci č. 5 popisuje průměrný počet elektronů emitovaných jedním iontem. Nazýváme ji koeficient sekundární emise.

2.2.1. Samostatný a nesamostatný výboj ve vzduchu

Ke vzniku výboje v plynu dochází ve vnějším elektrickém poli teprve v okamžiku, kdy dojde k ionizaci plynu. Ionizátorem může být např. vysoká teplota, silné elektrické pole, záření (UV, rentgenové, gama, kosmické) nebo částice s vysokou energií. Záření přírodního pozadí na Zemi (včetně kosmického záření) vyvolá ve slabém elektrickém poli vznik velmi malého množství iontových párů a tedy i malou proudovou hustotu (10^{-12} až 10^{-6} Am⁻²). Pro získání větší proudové hustoty je nutné dodávat větší množství ionizátoru. Tento typ výboje se nazývá nesamostatný. V silných elektrických polích je počet vytvořených iontů a elektronů dostatečný k udržení samostatného výboje. Křivka výbojů ve vzduchu (viz. Obr. č. 5) zobrazuje závislost zápalného napětí U_z na protékajícím proudu. Část křivky označená písmenem **a** zde popisuje oblast nesamostatného výboje. Část **b** se v praxi projevuje syčením

⁴ http://is.muni.cz/el/1431/jaro2013/F8720/um/Paschenuv_zakon.pdf

a prskáním a je nazývána Townsendovým temným výbojem. Oblast **c** popisuje závislost průběh U_z pro korónový výboj. Oblasti **d** a **e** popisují doutnavý a anomální elektrický výboj. Klesající část křivky označená jako písmeno **f** náleží jiskrovému výboji a poslední část **g** výboji obloukovému.^[17]



Obr. č. 5: Křivka výbojů ve vzduchu za sníženého tlaku⁵

V následující části budou popsány ty zdroje plazmatu, jejichž efektivita dekontaminace mikroorganismů není zanedbatelná. Mezi takovéto zdroje řadíme např. korónový výboj (stejnoseměrný nebo pulzní), dielektrický bariérový výboj (DBD), plazmový hořák (plasma jet), klouzavý obloukový výboj a jiskrový výboj.

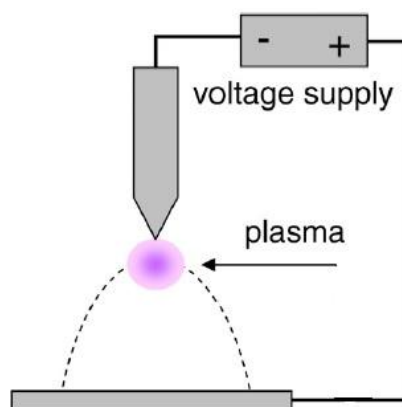
2.2.1.1. Korónový výboj

Korónové výboje se v praxi používají v řadě různých průmyslových aplikací, jakými například jsou povrchové úpravy materiálů nebo odstraňování těkavých organických sloučenin, což je nezbytné při pročišťování plynů. Jednou z dalších aplikací je kompleť vzdušných mikroorganismů použitím elektrostatického srážení. Kromě toho korónový výboj také může sloužit jako zdroj ozónu pro dezinfekci vody. V posledních letech byl korónový výboj rovněž studován jako možný prostředek pro biologickou dekontaminaci.^[18, 19]

Korónový výboj se obvykle objevuje v blízkosti elektrod s malým poloměrem křivosti, například mezi body, hranami nebo drátky, kde je elektrické pole v blízkosti elektrody ještě dostatečně velké, aby urychlilo náhodně vyprodukované elektrony až na takovou úroveň energie, aby byly schopny ionizovat atomy nebo molekuly okolního plynu (vzduchu, vzácného plynu, atd.).^[20]

Nejvíce ionizovaných molekul, ale také největší svítivost pozorujeme především v blízkosti bodové elektrody. Typickou geometrií pro generování korónového výboje představuje aparatura s ostrou zakřivenou elektrodou, která je umístěna nad plošnou elektrodou – point-to-plate konfigurace elektrod (viz Obr. č. 6). Běžně se používá i cylindrická konfigurace.^[21]

⁵ www.aldebaran.cz/studium/vyboje.pdf



Obr. č. 6: Konfigurace elektrod point-to-plate⁶

Korónové výboje je možné udržovat ve stejnosměrném nebo pulzním režimu, kdy ostrá (bodová) elektroda může mít buď záporný, nebo kladný potenciál. Ačkoli byly pozorovány účinky inaktivace mikroorganismů i při použití pulzního režimu, nejčastěji je nadále k experimentům používán stejnosměrný režim se zápornou bodovou elektrodou, dochází tedy k zapálení záporného korónového výboje (Obr. č. 7). Kladná koróna není příliš stálá a již při výrazně nižším napětí přechází v jiskrový výboj.^[22]



Obr. č. 7: Záporný korónový výboj⁷

Právě záporný korónový výboj je jedním ze dvou zdrojů plazmatu, které byly použity v této diplomové práci pro porovnání působení všech produktů výboje a pouze UV záření.

2.2.1.2. Dielektrický bariérový výboj (DBD)

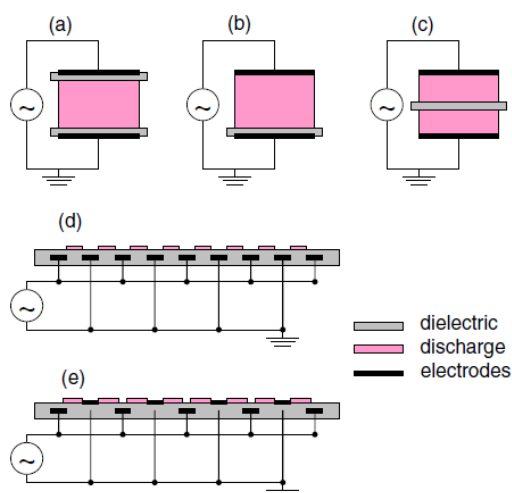
Oproti malé ošetřené ploše (spíše lokálnímu ošetření) u korónového výboje je DBD ideálním plazmovým zdrojem určeným k ošetřování rozsáhlých kontaminovaných povrchů. Tento zdroj plazmatu je napájen pomocí střídavého napětí. Plazma je generováno mezi dvěma elektrodami, z nichž alespoň jedna je pokryta dielektrikem, což limituje proud ve výboji. Vzdálenost mezi elektrodami se může pohybovat od několika mikrometrů až po

⁶ Scholtz, V.; Julák, J., Kříha, V.: The microbicidal effect of low-temperature plasma generated by corona discharge: Comparison of various microorganisms on an agar surface or in aqueous suspension, *Plasma Processes and Polymers*, 2010, vol. 7, p. 237-243

⁷ http://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_22_pla.php

několik centimetrů v závislosti na plynu použitým k vyplnění prostoru mezi elektrodami a provozním napětím. Typicky dochází k zapálení výboje při dosažení napětí několika kilovoltů a plošná hustota výkonu tohoto výboje činí řádově jednotky wattů na dm^2 plochy elektrody. Při vysokých příkonech dochází k ohřátí plynu mezi elektrodami až na 150°C . [23, 24]

Pro DBD existuje celá řada různých geometrií elektrod a jejich nastavení. V závislosti na typu aplikace je možné použít jak planární, tak komplanární sestavy s odlišným rozmístěním elektrod (Obr. č. 8). Tímto způsobem pak dochází k vytvoření výboje v určitém objemu mezi elektrodami (viz Obr. č. 9), nebo na povrchu sestavy. [23, 24]



Obr. č. 8: Základní geometrie rozložení elektrod DBD: a) až c) planární sestavy, d) komplanární soustava, e) sestava pro tvorbu povrchového výboje⁸

Hlavní výhodou tohoto výboje je velice snadné zapálení výboje, ale také to, že lze použít v podstatě jakoukoli kombinaci plnicích plynů – od vzácných plynů, vodní páry, vzduchu až po speciální směsi. Další výhodou je rozličná přizpůsobivost daná variabilitou geometrií elektrod – může být vytvořen například homogenní výboj o délce až několika metrů. Nevýhodou tohoto typu výboje je vysoké zápalné napětí cca 10kV a více (závisí na vzdálenosti mezi elektrodami). [23, 24]



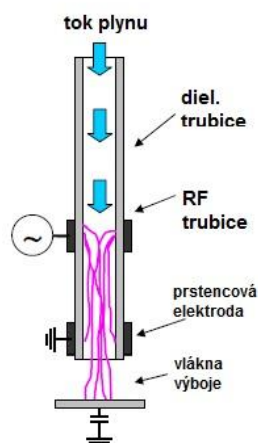
Obr. č. 9: Planární DBD výboj mezi dvěma elektrodami⁹

⁸ Wagner, H. E.; Brandenburg, R.; et al.: Vacuum, Science Direct, 2003, vol. 71, p. 417-36

⁹ http://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_22_pla.php

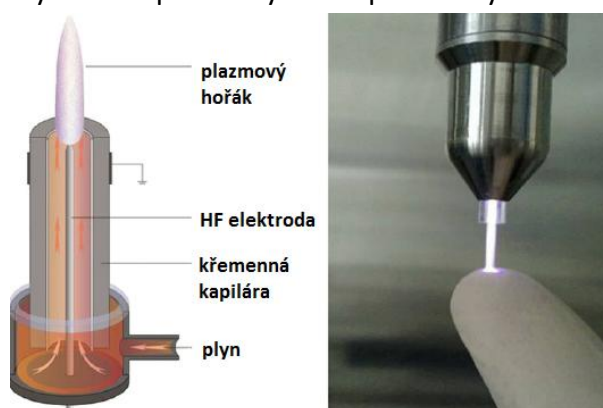
2.2.1.3. Plazmový hořák

Jedním z dalších velmi hojně používaných zdrojů plazmatu za atmosférického tlaku je plazmový hořák neboli plasma jet. Tento zdroj netermálního plazmatu pracuje na škále frekvencí od 13,56 do 27,12 MHz. Obecně lze říci, že se skládá ze dvou elektrod různého uspořádání. Sestava se může skládat z koaxiální a speciální prstencovité elektrody, ale může být tvořena také pouze jednou virtuálně uzemněnou elektrodou. Běžnější sestava s prstencovou elektrodou je zachycena na Obr. č. 10.



Obr. č. 10: Experimentální sestava plazmového hořáku¹⁰

Vzdálenost mezi elektrodami bývá řádově několik milimetrů. Expoziční vzdálenost, tedy vzdálenost mezi elektrodami a kontaminovaným povrchem několik centimetrů. V závislosti na volbě plynného média mezi elektrodami a již zmíněné vzdálenosti mezi elektrodami se zápalné napětí výboje pohybuje mezi 100 V a několika kV. Nejčastěji používanými plynnými látkami, v nichž výboj probíhá, jsou zejména vzácné plyny (helium, argon,...). Teplota uvnitř sestavy významně závisí na rychlosti průtoku plynu. Obrázek č. 11 zachycuje schéma a reálný kINPen plazmový hořák používaný ve zdravotnictví.^[24, 25]



Obr. č. 11: kINPen plazmový hořák¹¹

¹⁰ stacks.iop.org/JPhysD/44/013002

¹¹ https://www.researchgate.net/figure/230989078_fig1_Figure-1-Schematic-setup-of-the-APPJ-plasma-source-left-original-plasma-jet-right

Hlavní výhodou plazmové trysky jsou malé rozměry generovaného plazmatu a tedy schopnost proniknout i do velmi úzkých štěrbin, což umožňuje aplikace u geometrií s mikro dutinami nebo kapilárami. Pro své malé rozměry (míněně průměr generovaného sloupce plazmatu) je tento výboj poměrně často využíván při biomedicínských aplikacích – koagulace krve, kožní aplikace, dentální ošetření apod.^[26]

2.2.1.4 Jiskrový výboj

Přechodná (krátkodobá) forma elektrického výboje v plynu se nazývá jiskrový výboj. Jiskrový výboj se projevuje jako silně zářící, klikaté a rozvětřující kanálky (nitky) vznikající v prostoru mezi elektrodami nebo přímo na nich. Teplota těchto nitek dosahuje hodnot až 10^4 °C. V okolí výboje dochází k ionizaci teplem; okolní plyn se rozpíná a v důsledku toho dochází ke vzniku různých akustických jevů. Prudké změny tlaku v plynu následně vyvolávají rázovou vlnu, která může mít významný vliv na ionizaci prostředí. Typickým zástupcem tohoto výboje je blesk (Obr. č. 12).^[27]



Obr. č. 12: Jiskrový výboj¹²

Pokud je na elektrody přivedeno napětí umožňující vznik jiskry, pak je toto napětí nazýváno průrazným napětím. Velikost tohoto napětí je nezávislá na materiálu katody a řídí se Paschenovým zákonem. Malý vnitřní odpor zdroje elektrické energie může způsobit přechod od jiskrového k obloukovému výboji. Pokles napětí na zdroji způsobený zatížením jiskrovým výbojem vede k přerušení výboje. K opětovnému zapálení výboj dochází až po regeneraci zdroje napětí.^[27]

Při velké koncentraci plynu dochází mezi elektrodami ke vzniku laviny s významnou koncentrací nabitých částic (Teorie strimeru). Rychle se pohybující elektrony za sebou zanechávají kladný iontový prostorový náboj, který generuje elektrické pole o intenzitě větší než je intenzita pole mezi elektrodami. Do takto vytvořeného prostoru jsou přitahovány elektrony vzniklé fotoionizací u čela laviny. Tyto elektrony vytvoří další menší laviny, které však nesměřují směrem k anodě, ale k čelu primární laviny. Pokud doputují až k čelu laviny,

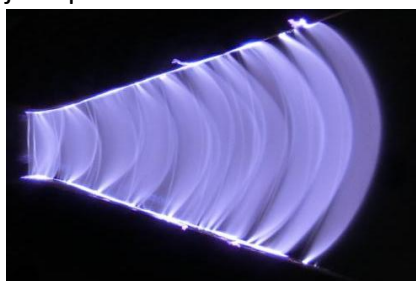
¹² <http://physics.mff.cuni.cz/kevf/s4r/plazma/?p=3>

zneutralizují kladný náboj a vytvoří významně vodivý sloupec plazmatu. Následně dojde ke vzniku vodivého kanálu mezi katodou a anodou díky plazmatickému sloupci.^[11]

2.2.1.5. Klouzavý výboj

Klouzavý elektrický výboj (glider – glid-arc) je speciálním typem obloukového výboje. Řadí se mezi neizotermické plazma. Výboj vzniká mezi dvěma elektrodami divergentního uspořádání (vzdálenost mezi elektrodami se postupně zvětšuje). Samotný výboj vzniká průrazem v nejužším místě mezi elektrodami po přiložení dostatečně velkého stejnosměrného nebo střídavého napětí; v tomto místě vzniká jiskrový plazmový kanál. Ten je unášen ve směru proudění plynu aparaturou. Jakmile je jiskrový kanál tak velký, že dodávané napětí nestačí k udržení výboje, dochází k přetržení proudového vlákna. V důsledku toho dojde ke zvýšení napětí na elektrodách a následně dojde k opětovnému zapálení výboje v nejužším místě (viz Obr. č. 13).^[27, 28]

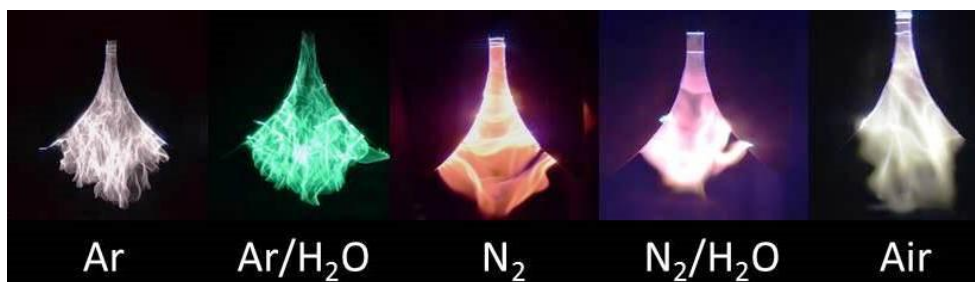
Obecně by se dalo říci, že mezi elektrodami dochází ke dvěma typům výboje. V nejužším místě mezi elektrodami a jeho těsné blízkosti dochází k zapálení jiskrového výboje v důsledku velké intenzity elektrického pole. Nad touto oblastí (elektrody jsou zde dále od sebe) se nachází oblast, kde zanikají jiskrové výboje, jedná se tedy o oblast korón klouzajících podél elektrod díky proudění plynu (nejčastěji vzduchu). Charakter výboje je ovlivňován mnoha parametry: použitá geometrie elektrod, druh použitého plynu a rychlost jeho proudění a také typu zdroje napětí.^[27, 28]



Obr. č. 13: Klouzavý výboj v argonu¹³

Klouzavého výboje se v praxi využívá nejen k povrchové dekontaminaci a opracování povrchu pevných látek, ale také ke koncentrování, ředění či čištění použitého plynu proudícího skrz výboj; k přeměně plynů vyskytujících se volně v přírodě na plyny syntetické; transformaci metanu na acetylen a vodík; k rozkladu a valorizaci koncentrovaných freonů; žhavení páry, kyslíku a dalších plynů (viz. Obr. č. 14); k tvorbě UV záření či aktivaci umělých vláken.^[27, 28, 29]

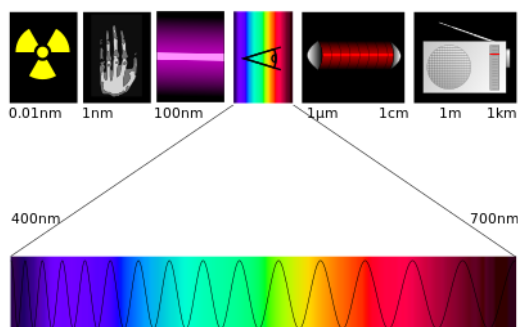
¹³ <https://www.online.muni.cz/veda-a-vyzkum/3995-studenti-uz-podruhe-experimentovali-v-kosmicke-agenture>



Obr. č. 14: Klouzavý výboj v různých plynných prostředích¹⁴

3. UV záření

Ultrafialové záření je specifickým typem elektromagnetického vlnění, jež je v elektromagnetickém spektru z jedné strany ohraničeno oblastí viditelné části spektra a z druhé strany rentgenovým zářením (viz Obr. č. 15). UV záření se na této škále pohybuje v rozmezí hodnot vlnové délky 100 až 400 nm. Dle biologických účinků se rozlišují 3 typy UV záření – dlouhovlnné UVA (315-400 nm), středněvlnné UVB (280-315 nm) a krátkovlnné UVC (100-280 nm).^[30, 31, 32]



Obr. č. 15: Elektromagnetické spektrum¹⁵

3.1. Základní vlastnosti UV

Jednou z vlastností UV záření, která je závislá na vlnové délce, je hloubka penetrace do ozářené tkáně. Čím větší vlnová délka záření, tím větší hloubky penetrace jsou fotony o stejné energii schopny dosáhnout. Nejpronikavější je tedy UVA. Svými karcinogenními účinky člověku jsou nejvíce nebezpečné paprsky záření UVB. UVB je schopno proniknout jen několika vrstvami buněk a společně s UVA k inaktivaci buněk přispívají zejména reakcí s látkami v okolním prostředí za vzniku reaktivních látek (především obsahujících kyslík), jako jsou volné radikály OH^- , H^+ a O^{2-} nebo sloučeniny H_2O_2 , H_2 , O_2 a O_3 . Ultrafialové záření typu C

¹⁴ <http://aeconscienceblog.edublogs.org/tag/nuclear-decommission/#.V0BLZnovutY>

¹⁵ http://fr.questmachine.org/Lumi%C3%A8re,_spectre_et_radiation

způsobuje v hojně míře právě vznik molekul ozónu, který je pozorován po zapálení elektrického výboje. [31, 33, 34]

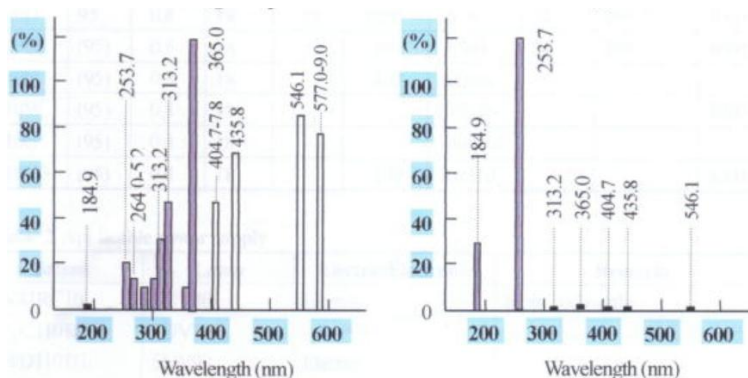
Všechny typy UV záření však při použití tenké vrstvy mikroorganismů mohou být absorbovány jejich DNA a způsobit jeho poškození – nastartování apoptózy. [31]

Rozsah biologických účinků v živých organismech vystavených UV záření je ovlivňován mnoha parametry: energií dopadajících fotonů (s tím je spjat již zmiňovaný dosah), dobou ozáření, intenzitou záření (dáno hlavně vzdáleností od zdroje záření – účinnost klesá se čtvercem vzdálenosti), schopností organismu absorbovat UV a také na citlivosti organismu na UV (odolnosti vůči UV působení). V rozsahu vlnových délek 210-330 nm je UV baktericidní. [35, 36, 37]

3.2. Zdroje UV

Nejvýznamnějším přirozeným zdrojem UV záření je Slunce. UV záření je při průchodu zemskou atmosférou filtrováno a na povrch již nedopadá záření UV C, které reaguje ve vyšších vrstvách atmosféry se vzdušným kyslíkem za vzniku molekul ozónu. Ozónová vrstva ve stratosféře zabraňuje průchodu až 90 % UVB. Ultrafialové záření, jemuž je člověk vystaven, je tvořeno z 90-99 % paprsky UVA a z 1-10 % UVB (v závislosti na tloušťce ozónové vrstvy, ročním období, atd.). [30, 32]

Hojně využívaným umělým zdrojem UV záření jsou nízkotlaké nebo vysokotlaké rtuťové výbojky. Velikost hodnoty tlaku rtuti ovlivňuje výsledné spektrum záření (viz. Obr. č. 16). Nízkotlaké (germicidní) výbojky se používají všude tam, kde je nutné udržovat sterilní prostředí (laminární boxy, pitevny, mikrobiologické laboratoře a farmakologické laboratoře). Takto generované UV svými vlnovými délkami odpovídá absorpčnímu maximu DNA (260 nm), následně tedy dojde k inaktivaci zasažených mikroorganismů. Výbojky jsou však účinné jen na vzdálenost cca 0,5 m. [36, 38, 39]



Obr. č. 16: Relativní zastoupení jednotlivých vlnových délek v nanometrech při použití vysokotlaké Hg výbojky (vlevo) a nízkotlaké (vpravo)¹⁶

¹⁶ <http://www.senlights.com/lamp/lplamp/lamp.htm>

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, zdrojem UV záření jsou i různé typy elektrických výbojů. Intenzita a elmag. spektrum UV produkovaného probíhající výbojem závisí na parametrech nastavení aparatury a typu výboje. Obecně platí, že s rostoucí velikostí napětí roste také intenzita UV. Ultrafialové záření může být chápáno jako jedna z možností, jak může dojít k disipaci energie obloukových výbojů.^[40]

Klouzavý a korónový výboj byly vybrány pro demonstraci účinků UV záření generovaného výbojem tak, aby byl rozdíl v účinnosti z výsledků měření jasně patrný. Dle dostupné literatury představuje působení UV z klouzavého výboje významný proces zodpovědný za inaktivaci ošetřených mikroorganismů. Naopak UV záření z korónového výboje nehraje při inaktivaci podstatnou roli.^[41]

4. Mikrobiologická část

Pro účely této diplomové práce byly použity dva typy běžně dostupných mikroorganismů – bakterie *Escherichia coli* a pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, proto bude tato část věnována právě jim. *E. coli* byla zvolena z toho důvodu, že většina renomovaných odborníků používá pro zkoumání účinků plazmatu právě *E. coli* a bylo by tedy možné výsledky porovnat. Použití kvasinek podmínila nejen relativní bezpečnost jejich použití, ale také větší odolnost vůči vnějším vlivům než u druhého typu použitých mikroorganismů. Bylo prokázáno, že pro kompletní inaktivaci stejného množství kvasinek a bakterií je nutné u kvasinek navýšit dobu expozice až 6krát (5 min expozice u bakterií, 30 min expozice u kvasinek). Vzhledem k tomu, že jak bakterie, tak kvasinky jsou mikroorganismy, které je možné kultivovat na vzduchu, není tedy nutné vytvářet speciální anaerobní kultivační prostředí.^[36, 37]

4.1. *Escherichia coli*

E. coli je gram-negativní fakultativně anaerobní bakterie tyčinkovitého tvaru (Obr. č. 17), která se hojně vyskytuje ve střevní mikroflóře teplokrevných živočichů. V lidském organismu je nejvíce obsažena v tenkém a tlustém střevě společně s dalšími aerobními i anaerobními bakteriemi. Přítomnost této bakterie (resp. bakterií střevní mikroflóry) v jiné lokalitě lidského těla nebo například ve vodě není běžná. Tyto potenciálně patogenní bakterie mohou vyvolat vznik různého typů onemocnění.^[36, 42]



Obr. č. 17: Bakterie *E. coli*¹⁷

K největšímu růstu těchto bakterií dochází v prostředí s velkým obsahem cukrů a aminokyselin, z nichž získávají pro svůj život potřebný uhlík. Nejvhodnějším kultivačním médiem je glukóza. Vzorky *E. coli* pro praktickou část této diplomové práce byly naaplikovány na Mueller-Hintonův agar bohatý na aminokyseliny, uhlík, dusík, vitamíny a další látky.^[43]

4.2. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae (viz Obr. č. 18) je kvasinkou, nazývanou též pivní, vinnou či pekařskou. Oblast jejího běžného použití je z názvů naprosto zjevná. Kulovité buňky *S. cerevisiae* dosahují rozměrů řádově jednotek mikrometrů. Tato eukaryotická buňka je vědci velice často používána a výsledky působení různých látek na tento mikroorganismus bývají často srovnávány s předpokládanými účinky na složitějších eukaryotických organismech.^[44]



Obr. č. 18: Buňky *Saccharomyces cerevisiae*¹⁸

Vhodným kultivačním médiem pro *S. cerevisiae* je opět glukóza. Jako vhodné médium může sloužit např. nažloutlá Sabouraudova půda obsahující pepton a glukózu nebo maltózu.^[36, 45]

¹⁷ <http://www.cdc.gov/ecoli/>

¹⁸ https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Saccharomyces_cerevisiae_NEU2011

Praktická část práce

5. Úvod k praktické části diplomové práce

Cílem této diplomové práce není nalezení nového zdroje UV záření, který by byl následně využitelný v mnoha oblastech lidského působení. Tato práce se zaměřuje na zkoumání baktericidních účinků UV záření generovaných jednak záporným korónovým, jednak klouzavým výbojem.

Vliv UV záření generovaného těmito výboji bude následně podroben srovnání s působením všech produktů u obou typů výboje, čímž bude zjištěno, zda UV záření hraje při inaktivaci zvolených mikroorganismů majoritní nebo naopak minoritní roli. Typy výboje pro tuto diplomovou práci byly voleny tak, aby rozdíl v účinnosti působení výboje jako celku, ale také vzniklého UV, byl diametrálně rozdílný.

Zkoumané mikroorganismy byly pro provedené experimenty zvoleny dle znalosti jejich odolnosti vůči působení vnějších vlivů – více odolné kvasinky a méně odolné bakterie střevní mikroflóry.

Výstupem této diplomové práce by měl být souhrn úspěšností inaktivace mikroorganismů v závislosti na typu výboje, na nastavených parametrech experimentální sestavy, typu použitých organismů, koncentraci mikroorganismů a také na době expozice.

6. Použitý biologický materiál

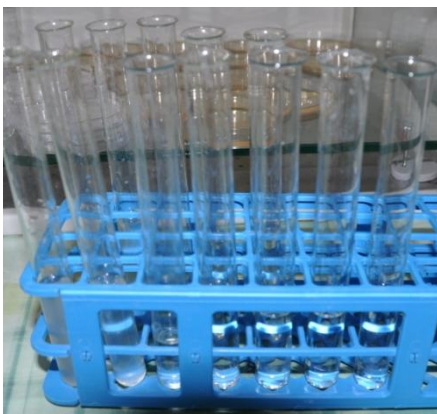
Jednotlivé experimenty byly provedeny na dvou typech mikroorganismů – na gramnegativních bakteriích *Escherichia coli* a také pivovarských kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae*. Vlastnosti těchto organismů jsou uvedeny v teoretické části této diplomové práce.

Bakterie *E. coli* i pivovarské kvasinky byly získány z České sbírky mikroorganismů (Czech Collection of Microorganisms) Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně.

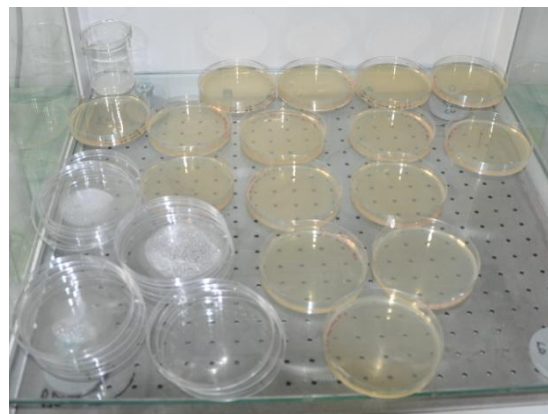
Vzhledem k tomu, že se jedná o velice rozdílné mikroorganismy, bylo nutné pro ně připravit odpovídající kultivační prostředí. Bakterie byly pěstovány na Mueller-Hintonově agaru a kvasinky na Sabouraud agaru. Obě kultivační média byla připravena dle odpovídajícího návodu dodaného výrobcem – Oxoid, Brno.

6.1. Postup přípravy

Celý proces přípravy vzorků, které byly následně podrobeny expozici výboji, byl zahájen ředěním koncentrované směsi tekutiny a mikroorganismů (*E. coli* nebo kvasinky), která obsahovala cca 10^7 až 10^8 kolonii formujících jednotek (CFU) v jednom mililitru. Jako ředící roztok byl použit fyziologický roztok (9 g NaCl na 1 l destilované vody). Ředění bylo prováděno vždy alespoň na koncentraci 10^{-7} původního roztoku (viz. Obr. č. 19), tedy do té doby, dokud roztok neobsahoval řádově desítky až jednotky mikroorganismů v jednom mililitru. Pro usnadnění procesu bylo toto rozředění prováděno vždy stejně, a to tak, že byl 1 ml původního roztoku zředěn 9 ml fyziologického roztoku. Z nově vzniklého roztoku byl po důkladném promísení opět odebrán 1 ml a naředěn 9 ml fyziolog. roztoku. Stejným způsobem bylo postupováno až 7krát. Uvažujeme chybu pipetování $\pm 10\%$.



Obr. č. 19: Ředění mikroorganismů



Obr. č. 20: Příprava vzorků

Pro kultivaci na agaru v Petriho miskách byly voleny koncentrace bakterií od cca 10^2 po 10^5 . Jeden mililitr takto připraveného roztoku byl pomocí pipety přenesen na povrch

příslušného kultivačního média a kývavými pohyby rovnoměrně rozprostřen po celém povrchu. Inokulované Petriho misky byly následně ponechány v laboratorním laminárním boxu tak dlouho, dokud kapalina na povrchu nezaschla (viz. Obr. č. 20). Nutnost vysušení povrchu agaru vyplývá z pohyblivosti bakterií a jejich větší odolnosti ve vodním roztoku. Vzhledem k časové náročnosti při provádění celé sady měření s jedním typem výboje (mnoho experimentů) nebylo mnohdy možné připravit všechny vzorky ve stejný čas, neboť by mohlo dojít k růstu organismů a tím by se mohly významně změnit podmínky měření. V různých růstových stádiích jsou totiž použité mikroorganismy různě odolné vůči vnějšímu působení. Proto bylo vždy připraveno pouze takové množství Petriho misek s mikroorganismy, které bylo možné ošetřit během 2 hodin, kdy k významnému růstu nedochází.

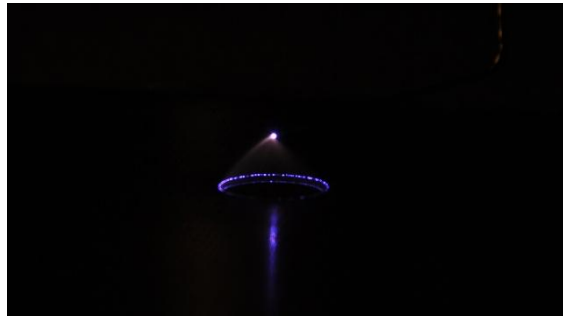
Po ošetření korónovým nebo klouzavým výbojem byly jednotlivé Petriho misky umístěny do termostatu s přednastavenou teplotou 36,7°C, kde byly kultivovány po dobu 18 až 24 hodin. Po této časové prodlevě bylo možné již mikroorganismy pozorovat a jejich množství hodnotit pouhým okem. Všechny Petriho misky byly nasímány pro další zpracování a vyhodnocení.

7. Experimentální sestava pro korónový výboj

Pro účely této diplomové práce byl sestaven za pomoci dostupných prostředků experimentální prototyp generující korónový výboj (Obr. č. 21). Základem tohoto prototypu je soustava bodové a plošné elektrody, na niž je napojen zdroj vysokého stejnosměrného napětí UTES HT 2103 (na Obr. č. 22 označen jako HV – „high voltage“). Bodová elektroda byla vytvořena pomocí jehly jednorázové injekční stříkačky, která byla ohnuta pod úhlem 60° vzhledem k ose stříkačky. Tento úhel byl zvolen jako výsledek série pozorování vlastností výboje v závislosti na velikosti úhlu. Ohyb o větší úhel vedl ke vzniku parazitních výbojů mezi jinými částmi jehly a plochou elektrodou. Hrot jehly byl otočen zkosenou stranou směrem vzhůru, aby nedocházelo k buzení výboje z dalších míst s minimálním poloměrem křivosti, ale aby byl generován pouze na hrotu jehly.

Plošná elektroda (na Obr. č. 22 označena č. 1) byla realizována pomocí měděného plátu, k němuž byl připájen přívodní kabel. Uprostřed této elektrody byl vytvořen kruhový otvor o průměru 9 mm. Tento rozměr byl stanoven jako nejvhodnější po provedení sady měření s otvory o průměru 7, 9, 11, 13 a 15 mm. Pozorovala se svítivost a stabilita výboje. Otvor s nejmenším průměrem byl velice náchylný na přesnost nastavení bodové elektrody nad střed otvoru. Při drobném vychýlení bodové elektrody od středu otvoru docházelo ke změně korónového výboje do přechodové jiskry. Větší otvory vyžadovaly k dosažení průtoku stejného proudu významně větší napětí. Proto byl průměr 9 mm stanoven jako optimální. Plošná elektroda byla kladná, zatímco bodová elektroda byla záporná. Takto zapojená

elektrodová soustava slouží při vysokém napětí k vytvoření záporného korónového výboje kuželového tvaru (Obr. č. 21).



Obr. č. 21: Kuželový tvar záporného korónového výboje

K oddělení UV záření od ostatních produktů výboje byla použita destička z křemenného skla o tloušťce 3 mm (v Obr. č. 22 označena číslem 2). Křemenné sklo se od běžně používaného skla liší pro tyto experimenty zásadní vlastností – propustností UV záření. Křemenné sklo totiž propouští UV záření již od vlnových délek cca 170 nm. Dalšími vhodnými vlastnostmi jsou vysoká chemická odolnost tohoto typu skla, velmi nízký koeficient roztažnosti, odolnost vůči teplotním změnám a také vysoká izolační schopnost.

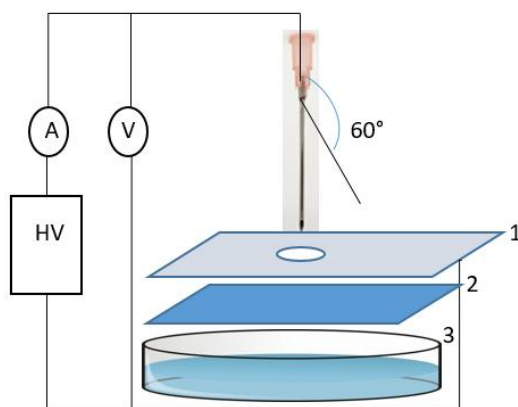
Destička z křemenného skla byla umístěna přímo pod plošnou elektrodu tak, aby na ni dokonale dosedala. Pro upevnění tohoto spojení bylo na okrajích použito malé množství lepicí pásky. Takto spojená součást prototypu byla při každém experimentu ověřujícím účinky UV záření generovaného záporným korónovým výbojem umístěna přímo na horní hranu Petriho misky s kvasinkami nebo bakteriemi (v Obr. č. 22 označena číslem 3). Při opakovaném použití byla plocha křemenného skla ošetřena izopropyl alkoholem, aby nedošlo ke kontaminaci dalších měřených vzorků. Po úplném odpaření alkoholu bylo možné destičku opět použít.

Pro měření nepřímých účinků záporného korónového výboje byla destička z křemenného skla nahrazena nevodivým materiálem s dostatečně velkým otvorem (v tomto případě destičkou plexiskla), aby skrz něj mohlo docházet k působení na mikroorganismy na povrchu agaru. Nevodivý materiál byl volen jednak kvůli zabezpečení soustavy před únikovými proudy, jednak aby nedocházelo k působení elektricky nabitých ploch v těsném kontaktu s mikroorganismy. Tloušťka materiálu byla zvolena tak, aby geometrie takovéto měřicí soustavy odpovídala původní geometrii, tedy 3 mm. Destička z plexiskla byla také před opakovaným použitím ošetřena dezinfekční látkou pro zabránění kontaminace.

Parametry probíhajícího výboje (velikost napětí a protékajícího proudu) byly neustále sledovány na ampérmetru a voltmetru (v Obr. č. 22 označeny A a V). Ke každému experimentu byly vždy zaznamenány příslušné hodnoty.

Během experimentů se výjimečně vyskytla situace, kdy v důsledku posunu měděné plošné elektrody došlo k přerušení korónového výboje a byla vyvolána již zmiňovaná

přechodová jiskra. V takovém případě byly prováděny drobné korekce měřící sestavy pomocí nevodivého plastového materiálu tak, aby se soustava opět dostala do požadované pozice (tvar výboje byl rovnoměrný do všech stran – tvar kuželu). Parametry soustavy jsou uvedené v Tab. č. 1.



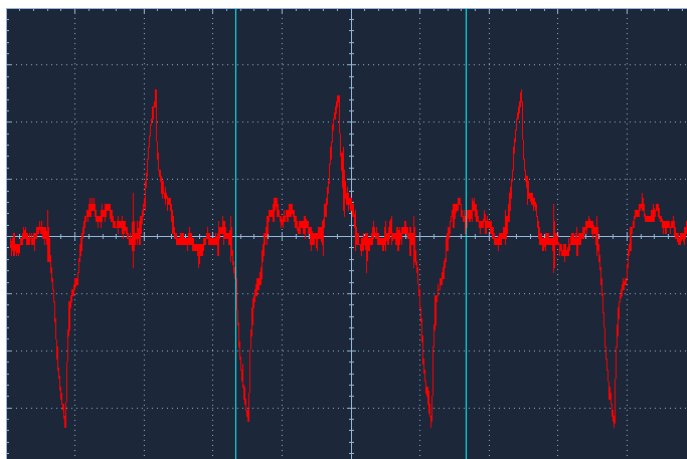
Obr. č. 22: Schéma prototypu generujícího záporný korónový výboj (1 měděná elektroda s 9 mm otvorem, 2 destička z křemenného skla, 3 Petriho miska se vzorkem)

Tab. č. 1: Parametry experimentální sestavy pro korónový výboj

Sklon bodové elektrody	60° ku ose jehly
Průměr kruhového otvoru v plošné elektrodě	9 mm
Vzdálenost mezi bodovou a plošnou elektrodou	4 mm
Protékající proud	400 μ A
Napětí	12 – 13,5 kV
Použité koncentrace <i>S. cerevisiae</i>	řádově 10^3 a 10^2 cfu/ml
Použité koncentrace <i>E. coli</i>	řádově 10^4 , 10^3 a 10^2 cfu/ml

Z tabulky vyplývá, že proměnlivým parametrem bylo napětí nastavované na zdroji. Hodnota napětí se mírně měnila v závislosti na přesném nastavení vzdálenosti obou elektrod. Vždy však bylo nastaveno tak, aby protékající proud byl stejný, a to 400 μ A.

Změna napětí v čase byla změřena pomocí osciloskopu připojeného přes měřící odpor. Výsledný tvar křivky je zaznamenán do Obr. č. 23, kde na vodorovné ose je čas (5 μ s na dílek) a na svislou osu jsou vyneseny hodnoty napětí (s rozlišením 200 mV na dílek). Z křivky je patrný opakovaný průběh s periodou 13,251 μ s, frekvencí 75,468 kHz a amplitudou -1,208 V špička-špička.



Obr. č. 23: Průběh napětí v čase při korónovém výboji

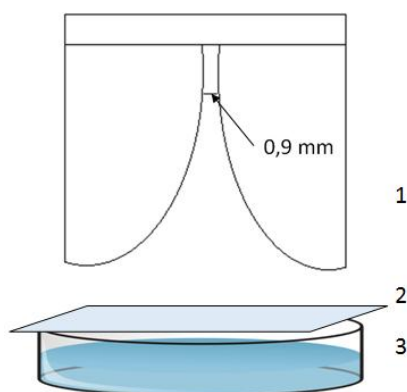
V následující tabulce (Tab. č. 2) jsou přehledně zobrazeny časy ošetření pro jednotlivé koncentrace obou typů mikroorganismů. Všechna měření byla provedena alespoň 3krát, aby bylo prokázáno, že se nejedná o nahodilý výsledek způsobený jinými vnějšími vlivy.

Tab. č. 2: Expoziční časy pro korónový výboj a různé koncentrace *E.coli* a *S. cerevisiae*

koncentrace na povrchu agaru (řádově)	<i>Escherichia Coli</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
	UV	všechny produkty výboje	UV	všechny produkty výboje
10^2 cfu/ml	-	3, 5 min	10, 20 min	-
10^3 cfu/ml	10, 20 min	3, 5, 7, 10 min	10, 20 min	3, 5, 7, 10 min
10^4 cfu/ml	10, 20 min	3, 5, 7, 10 min	-	3, 5, 7, 10 min

8. Experimentální sestava pro klouzavý výboj

K inaktivaci mikroorganismů pomocí klouzavého výboje (glid arc) byl využit existující prototyp doc. RNDr. Jana Píchala, CSc¹⁹. Jeho hlavní součástí jsou dvě divergentní elektrody eliptického profilu (viz. Obr. č. 24), mezi nimiž je v nejužším místě nastavena vzdálenost 0,9 mm. Právě mezi těmito elektrodami dochází ke vzniku obloukového výboje. Mezi elektrody je vháněn pomocí kompresoru vzduch, v němž výboj probíhá.



Obr. č. 24: Experimentální sestava pro klouzavý výboj (1 divergentní elektrody aparatury pro klouzavý výboj, 2 destička z křemenného skla, 3 Petriho miska se vzorkem)

Klouzavý výboj vyvolá významné zvýšení teploty vzduchu v blízkosti aparatury. Proto bylo nutné zvolit takovou vzdálenost od Petriho misky, aby nedošlo k rozpuštění kultivačního média a inaktivaci mikroorganismů vysokou teplotou, ale zároveň aby produkty výboje mohly působit na mikroorganismy na povrchu agaru. Při použití destičky z křemenného skla (označeno číslem 2 v Obr. č. 24) určeného k oddělení UV záření od ostatních produktů výboje byla vždy nastavena vzdálenost 1 cm od horní hrany skleněné destičky ke spodní hraně prototypu. Destička se během ošetření významně zahřála ze strany, která byla vystavena působení produktů výboje, neboť pro UV experimenty byla volena relativně dlouhá doba působení (10 až 25 minut). Destička sloužila jako dobrý tepelný izolant. Po ošetření každého vzorku bylo nutné destičku ochladit a vydezinfikovat. K obojímu opět posloužil izopropyl alkohol.

Měření bez skleněné destičky vyžadovalo zvětšení vzdálenosti prototypu od Petriho misky (v Obr. č. 24 označena číslem 3). Vzdálenost proto byla nastavena na 2 cm od horní hrany misky po spodní hranu aparatury. Dalšího snížení teploty v bodě na povrchu agaru bylo dosaženo rotací Petriho misky stálou rychlostí cca 6 otáček za minutu. Rotace byla v případě použití destičky z křemenného skla vyloučena, neboť by mohlo dojít k posunu destičky v důsledku odstředivé síly a mohlo by tedy dojít ke změně podmínek vedoucí ke zkreslení výsledků.

¹⁹ Katedra fyziky, FEL ČVUT v Praze

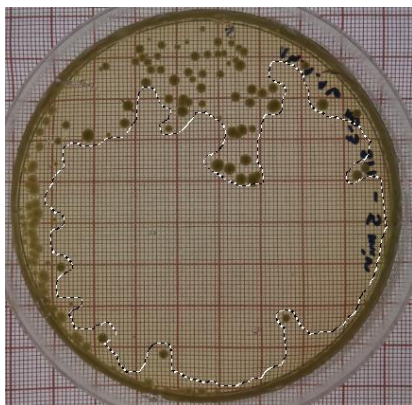
Tabulka č. 3 zobrazuje doby ošetřování obou použitých mikroorganismů. Vzhledem k tomu, že o UV záření produkovaném klouzavým výbojem je známé, že hraje významnější roli v inaktivaci než je tomu v případě UV generovaného korónou, bylo provedeno více experimentů s různou dobou expozice. Ozařovací časy pro pozorování nepřímých účinků klouzavého výboje byly voleny tak, aby výsledky byly porovnatelné s výsledky u korónového výboje.

Tab. č. 3: Expoziční časy pro klouzavý výboj a různé koncentrace *E.coli* a *S. cerevisiae*

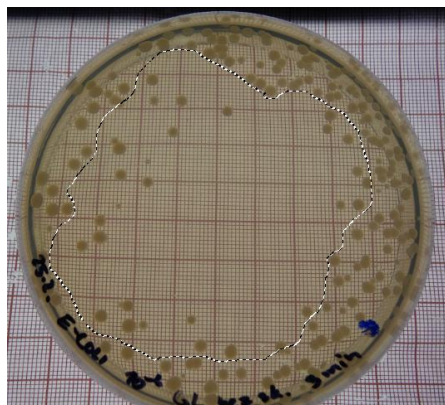
koncentrace na povrchu agaru (řádkově)	<i>Escherichia Coli</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
	UV	všechny produkty výboje	UV	všechny produkty výboje
10 ² cfu/ml	10, 15, 20, 25 min	3, 5, 7, 10 min	-	-
10 ³ cfu/ml	10, 15, 20, 25 min	3, 5, 7, 10 min	10, 15, 20, 25 min	3, 5, 7, 10 min
10 ⁴ cfu/ml	-	-	10, 15, 20, 25 min	3, 5, 7, 10 min

9. Výsledky měření

Připravené vzorky mikroorganismů (*E. coli* a *S. cerevisiae*) byly podrobeny ozařování UV záření generovaného dvěma typy elektrických výbojů. Po kultivaci v termostatu byly pozorovány změny počtu mikroorganismů ve srovnání s kontrolními neozářenými vzorky. Dále byly hodnoceny velikosti dekontaminované oblasti. Velikosti oblastí jsou uváděny v procentech - poměrné části z celkové plochy Petriho misky, jejíž plocha činí 63,6 cm². Pořízené fotografie ošetřených vzorků jsou pro přehlednost práce umístěny až do sekce příloh (viz příloha číslo 1). Vyhodnocení ošetřených oblastí bylo rozděleno do dvou částí: zcela dekontaminovaná oblast označená jako „oblast 1“, která neobsahuje žádné mikroorganismy, a ošetřená oblast označená „oblast 2“, v níž se nachází jednotlivé mikroorganismy (jejich koncentrace na ploše je však mnohonásobně nižší než původní) viz vzorový příklad na Obr. č. 25 a 26. Oblast 2 byla volena tak, aby do ní spadaly pouze jednotlivé kolonie. Tyto kolonie jsou větší a nachází se ve značné vzdálenosti od ostatních.



Obr. č. 25: Příklad stanovení „oblasti 1“



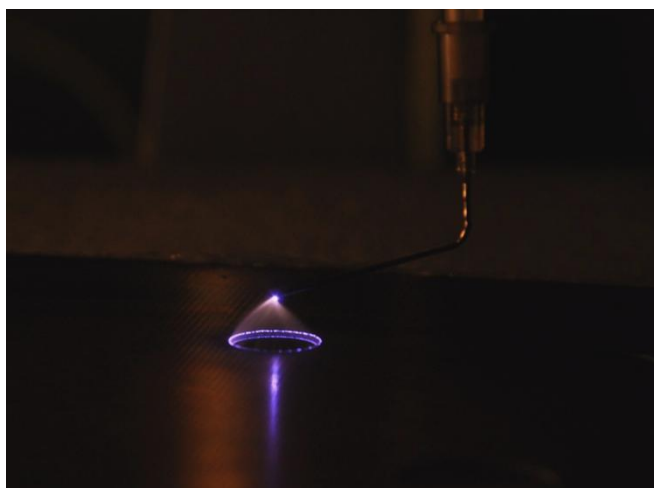
Obr.č. 26: Příklad stanovení „oblasti 2“

9.1. Záporný korónový výboj

Pomocí prototypu byl zapálen korónový výboj kuželovitěho tvaru o výšce 4 mm a šířce podstavy 9 mm (dáno velikostí průměru otvoru v plošné elektrodě). Vzdálenost mezi elektrodami – plošnou a bodovou byla 6 mm ve všech směrech.

Vzdálenost nad středem otvoru v plošné elektrodě byla nastavována pomocí posuvného měřítka, které bylo připevněno k bodové elektrodě. Přesnost nastavení tohoto parametru výrazně ovlivňovala velikost napětí potřebného k nastavení konstantního proudu o velikosti 400 μ A. Hodnoty se pohybovaly v rozmezí 12-13,5 kV. Elektrodotový systém s probíhající výbojem je zachycen na Obr. č. 27. Prototyp byl vždy umístován nad střed Petriho misky tak, aby byla případná změna např. v koncentraci byla jasně detekovatelná.

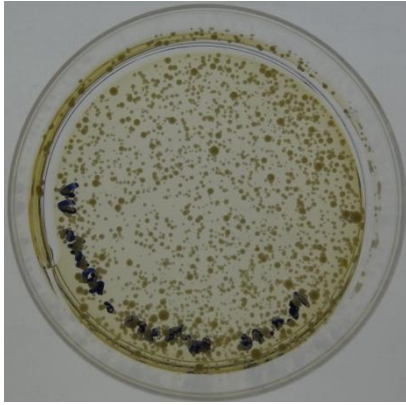
Vzniklý korónový výboj vykazoval nízkou intenzitu UV záření a byl pozorovatelný pouze za naprostého zatemnění místnosti.



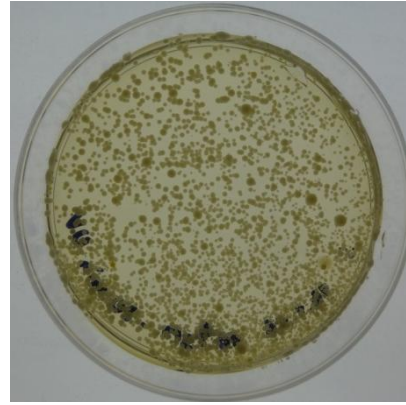
Obr. č. 27: Elektrodotový systém s probíhající korónovým výbojem

9.1.1. *Saccharomyces cerevisiae*

K hodnocení účinků na tomto typu kvasinek bylo přistupováno s vědomím, že se jedná o významně odolnější typ mikroorganismů, než např. bakterie *E. coli*. Mizivé resp. zanedbatelné účinky působení velice slabého UV záření na inaktivaci proto nebyly překvapující. Na povrchu agaru nebyla zaznamenána pro žádnou z hodnocených koncentrací sebemenší změna v počtu ani v rozmístění namnožených kvasinek (pro kvasinky o koncentraci $7 \cdot 10^2$ cfu/ml viz. Obr. č. 28). Ani po prodloužení doby ozařování na dvojnásobek - 20 min - nedošlo k hodnotitelné změně (pro kvasinky o koncentraci $7 \cdot 10^2$ cfu/ml viz. Obr. č. 29).



Obr. č. 28: Kvasinky ošetřované pomocí UV
10 minut

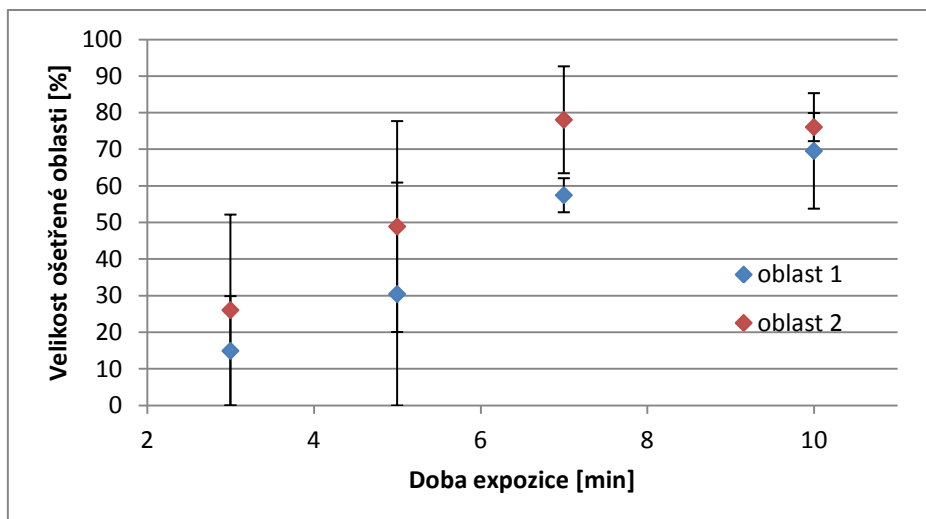


Obr. č. 29: Kvasinky ošetřované pomocí UV
20 minut

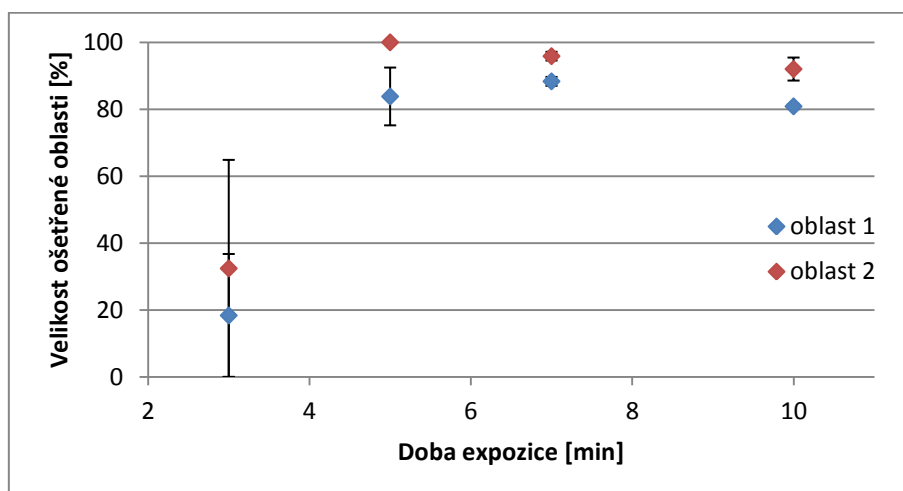
Nepřímé ošetření kontaminovaného agaru korónovým výbojem má naopak nezanedbatelný efekt na *S. cerevisiae*. Při zvyšování doby expozice dochází u obou hodnocených koncentrací k významnému nárůstu ošetřené plochy, tedy k významné inaktivaci kvasinek. U nižší koncentrace kvasinek na povrchu kultivačního materiálu byl pozorován prudší nárůst velikosti inaktivovaných oblastí se zvyšujícím se časem. Obecně však platí, že po určité době dochází ke stabilizaci a velikost ošetřené plochy se již nemění. Koncentrace řádově 10^2 dokonce vykazovala po 5 minutách již 100% inaktivaci. Výsledky jsou pro koncentraci 10^3 a 10^2 uvedeny v Tab. č. 4, v Grafu č. 1 a Grafu č. 2.

Tab. č. 4: Velikosti oblastí 1 a 2 a jejich směrodatných odchylek pro různé koncentrace *S. cerevisiae* při ošetření záporným korónovým výbojem

koncentrace	doba expozice [min]	oblast 1 [%]	oblast 2 [%]	sm. odchylka oblasti 1	sm. odchylka oblasti 2
10^3 cfu/ml	3	14,95	26,09	±14,95	±26,09
	5	30,47	48,92	±30,47	±28,81
	7	57,48	78,09	±4,65	±14,61
	10	69,56	76,10	±15,78	±3,84
10^2 cfu/ml	3	18,37	32,44	±18,37	±32,44
	5	83,84	100	±8,64	±0
	7	88,34	95,87	±1,33	±1,30
	10	80,87	92,02	±0,72	±3,44



Graf č. 1: Velikosti korónou inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10³ cfu/ml



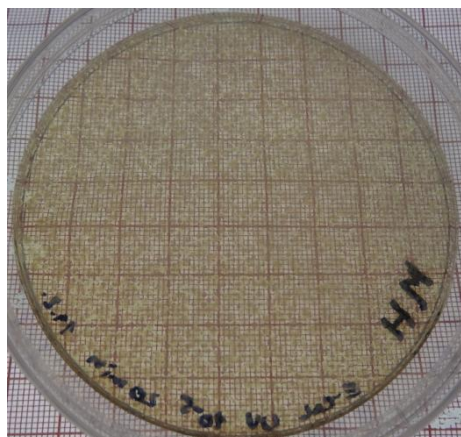
Graf č. 2: Velikosti korónou inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10² cfu/ml

Z naměřených hodnot je patrné, že účinnost inaktivace je vyšší při nižším počtu mikroorganismů na povrchu (až o 20 %). Tento jev lze vysvětlit tím, že UV záření nemá nekonečnou hloubku průniku, a tak působí hlavně na mikroorganismy, které jsou na povrchu. U vyšších koncentrací, kdy se mikroorganismy mohou nacházet na povrchu ve vrstvách, je letálně poškozena hlavně horní vrstva. Při delším působení je možné docílit poškození i spodních vrstev mikroorganismů. V případě plazmatu intenzita UV záření a námi zvolená doba působení není pro inaktivaci několika vrstev bakterií optimální.

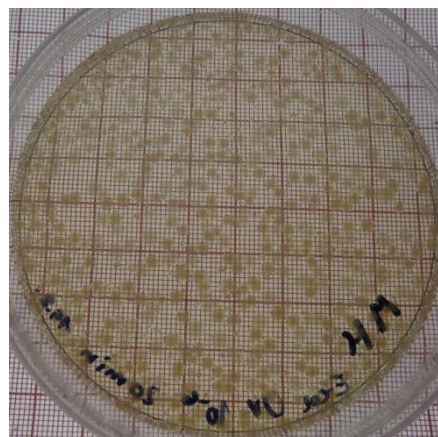
9.1.2. *Escherichia coli*

UV záření generované záporným korónovým výbojem u gramnegativní bakterie *E. coli* podobně jako u pivovarské kvasinky nebylo účinné. Pro žádnou z koncentrací nebyl zaznamenán signifikantní výsledek. Prodloužení doby expozice opět nevedlo k signifikantním

výsledkům, koncentrace bakterií se změnila maximálně o jeden řád, ale povrch nebyl zcela vyčištěn (viz. Obr. č. 30 a 31).



Obr. č. 30: *E. coli* (řádově 10^3) ošetřované pomocí UV 20 minut

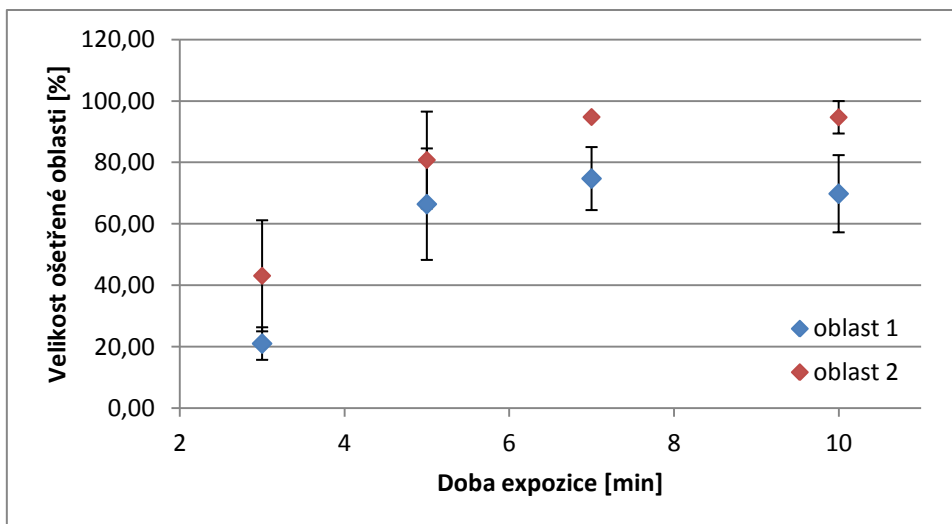


Obr. č. 31: *E. coli* (řádově 10^2) ošetřované pomocí UV 20 minut

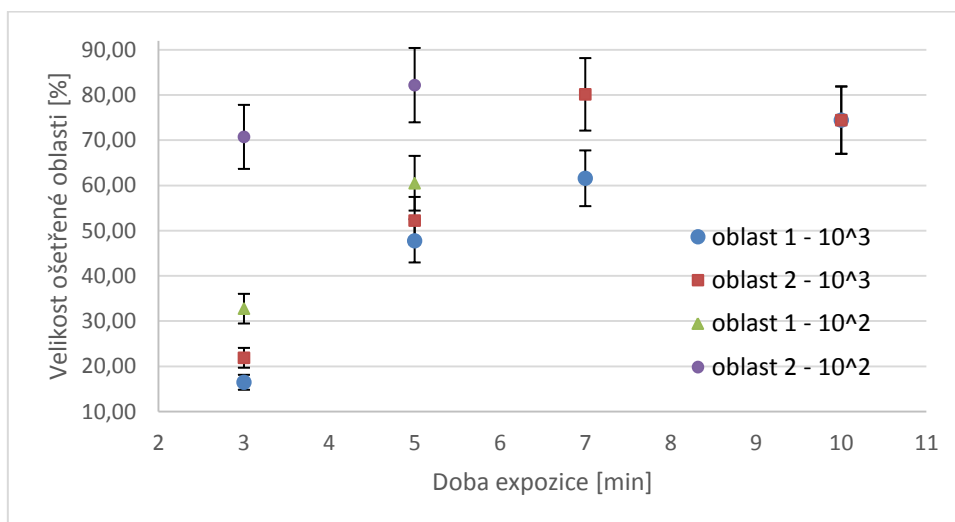
Obdobně jako tomu bylo v předchozím případě, vystavení vzorků působení všem produktům výboje se od účinků UV záření významně liší. Rychlý nárůst inaktivované oblasti s rostoucím časem expozice je toho důkazem. Výsledky se od kvasinek liší v tom, že pro vyšší koncentraci bakterií byla inaktivace při delší době expozice účinnější. Statisticky významnější (vyšší) účinky procesu inaktivace jsou však při nižších dobách expozic registrovány u vzorků s nižší koncentrací bakterií (viz Tab. č. 5 a Graf č. 3). Podobně pro koncentrace 10^3 a 10^2 cfu/ml v Tab. č. 5 a Grafu č. 4.

Tab. č. 5: Velikosti oblastí 1 a 2 a jejich směrodatných odchylek pro různé koncentrace *E. coli* při ošetření záporným korónovým výbojem

koncentrace	doba expozice [min]	oblast 1 [%]	oblast 2 [%]	sm. odchylka oblasti 1	sm. odchylka oblasti 2
10^4 cfu/ml	3	21,09	43,15	±5,3	±18,07
	5	66,45	80,82	±18,14	±15,75
	7	74,78	94,81	±10,25	±0,13
	10	69,85	94,72	±12,56	±5,28
10^3 cfu/ml	3	16,51	21,92	±1,65	±2,19
	5	47,78	52,27	±4,78	±5,23
	7	61,62	80,18	±6,16	±8,02
	10	74,47	74,47	±7,45	±7,45
10^2 cfu/ml	3	32,78	70,77	±3,28	±7,08
	5	60,52	82,21	±6,05	±8,22



Graf č. 3: Velikosti korónou inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10⁴ cfu/ml



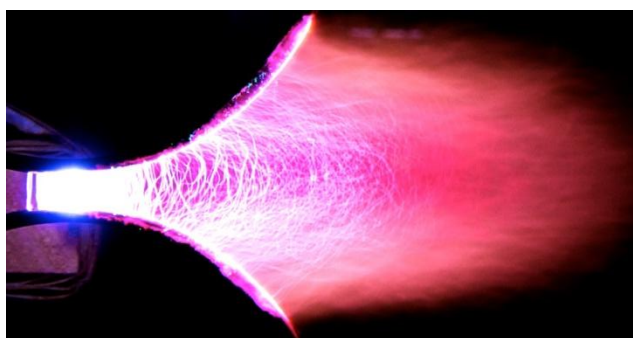
Graf č. 4: Velikosti korónou inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10³ a 10² cfu/ml

Velmi nízké koncentrace bakterií jsou tedy citlivější k působení již při krátké expozici. Se vzrůstající dobou se však nemění úspěšnost inaktivace tak markantně, jako je tomu u vyšších koncentrací. Společný rostoucí trend křivek, který po specifické době inklinuje k maximální ošetřené ploše, je potvrzením očekávaného průběhu, tj. že po specifické době již nedochází ke zvětšování dosahu působení – maximální velikost ošetřené plochy je dána parametry nastavení.

9.2. Klouzavý výboj

Připojením ke zdroji napětí byl pomocí aparatury schematicky zobrazené na Obr. č. 24 generován klouzavý elektrický výboj. Už na první pohled je patrné, že výboj nabývá výrazně větších rozměrů než korónový výboj. Bylo tedy snadné odhadnout, že intenzita UV záření u něj je mnohonásobně vyšší a že by v tomto případě již mohly být pozorovány signifikantní výsledky působení UV na živé mikroorganismy.

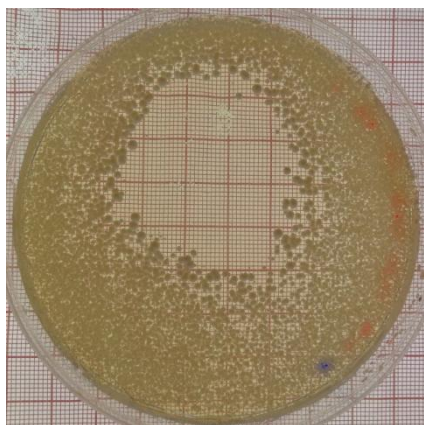
Sestava byla vždy nastavena tak, aby podmínky odpovídaly parametrům shrnutým v sekci Experimentální sestava pro klouzavý výboj. Střed Petriho misek se vzorkem byl umístěn přesně pod divergentní elektrody, mezi nimiž probíhal výboj (viz. Obr. č. 32).



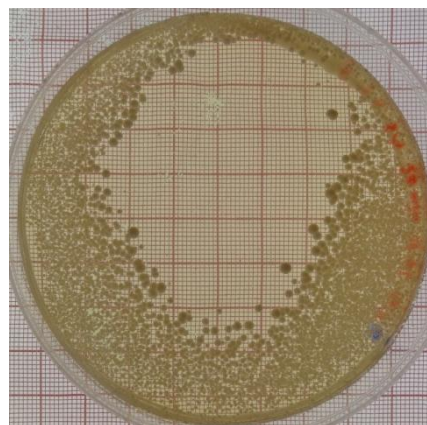
Obr. č. 32: Elektrodotový systém s probíhajícíím klouzavým výbojem

9.2.1. *Saccharomyces cerevisiae*

Vzorky vystavené UV záření vykazovaly po kultivaci výrazné snížení koncentrace kvasinek v ošetřené oblasti. Rozdíly mezi velikostmi oblastí 1 a 2 se pro obě zkoumané koncentrace pohybovaly pouze v řádech jednotek procent. Ošetřená oblast byla zřetelně odlišitelná od oblasti neošetřené, přičemž několik málo kvasinek tvořících rozdíl mezi pozorovanými oblastmi se vyskytovalo na rozhraní ošetřené a neošetřené oblasti. Inaktivovaná oblast byla naprosto homogenní, přeživší kvasinky se vyskytovaly pouze po okraji Petriho misky viz. Obr. č. 33 a 34 (rozdíl oproti korónovému výboji, kde oblast 2 mohla být rozsáhlá vzhledem k oblasti 1, ale také mnohdy obsahovala roztroušené mikroorganismy po celé ploše).



Obr. č. 33: Kvasinky ošetřované pomocí UV
10 minut

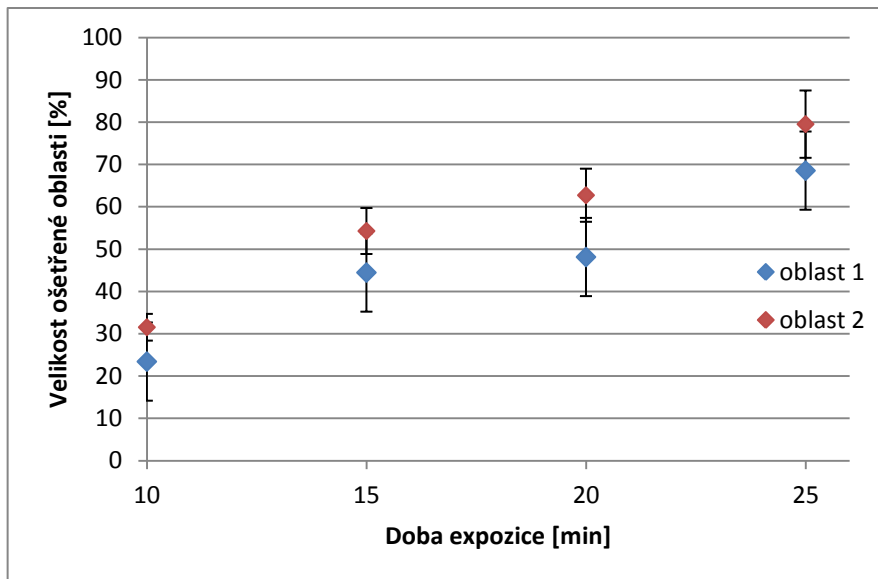


Obr. č. 34: Kvasinky ošetřované pomocí UV
20 minut

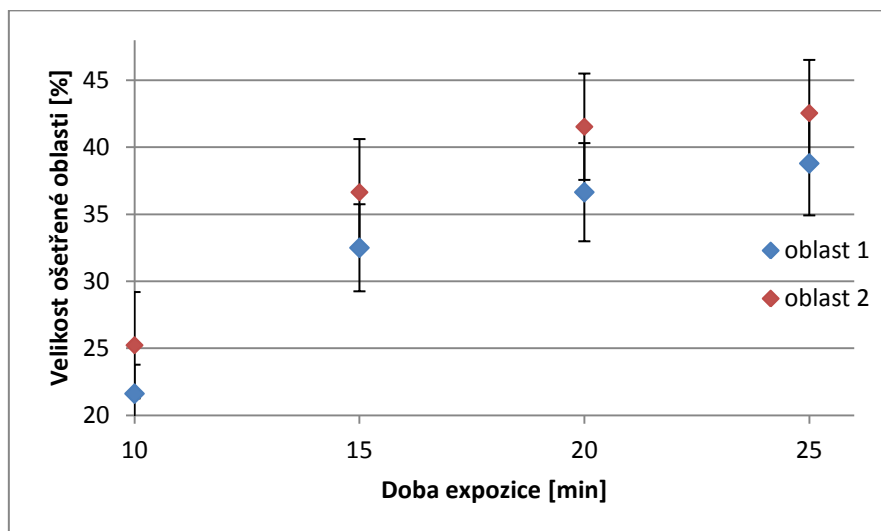
Mimo ošetřenou oblast se koncentrace pohybovala kolem hodnot řádově odpovídajících hodnotám koncentrací neozařených vzorků. Se zvyšující se dobou expozice úměrně vzrůstala i velikost ošetřené plochy. Výsledky jednotlivých měření pro obě použité koncentrace ($8 \cdot 10^3$ a $8 \cdot 10^4$ cfu/ml) zachycuje Tab. č. 6 a Grafy č. 5 a 6. Porovnáním obou grafů bylo zjištěno, že u nižší koncentrace kvasinek docházelo k inaktivaci významně větší plochy, řádově o desítky procent.

Tab. č. 6: Velikosti oblastí 1 a 2 a jejich směrodatných odchylek pro různé koncentrace *S. cerevisiae* při ošetření UV z klouzavého výboje

koncentrace	doba expozice [min]	oblast 1 [%]	oblast 2 [%]	sm. odchylka oblasti 1	sm. odchylka oblasti 2
$8 \cdot 10^4$ cfu/ml	10	21,61	25,22	±2,16	±2,52
	15	32,49	36,64	±3,25	±3,66
	20	36,64	41,53	±3,66	±4,15
	25	38,79	42,54	±3,88	±4,25
$8 \cdot 10^3$ cfu/ml	10	23,45	31,56	±2,35	±3,16
	15	44,5	54,30	±4,45	±5,43
	20	48,16	62,75	±4,82	±6,28
	25	68,57	79,55	±6,86	±7,96



Graf č. 5: Velikosti UV inaktivovaných oblastí při použití koncentrace $8 \cdot 10^3$ cfu/ml



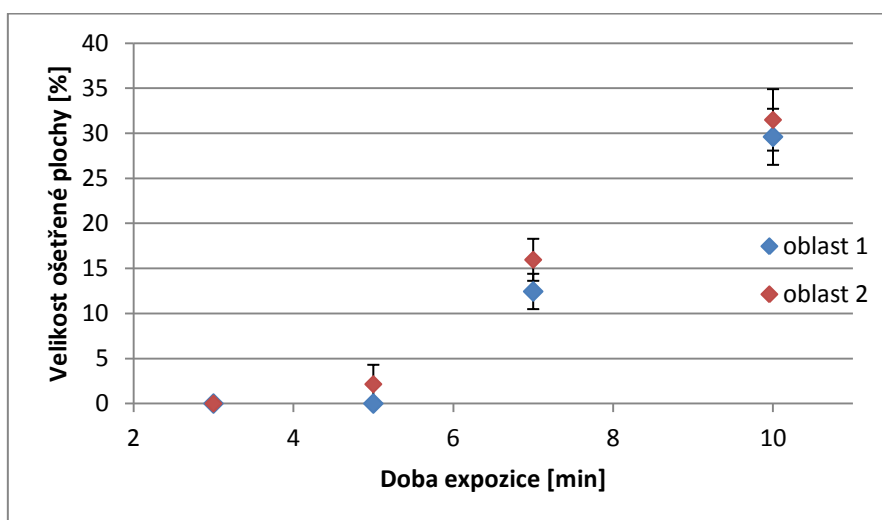
Graf č. 6: Velikosti UV inaktivovaných oblastí při použití koncentrace $8 \cdot 10^4$ cfu/ml

Účinnost inaktivace všemi produkty plazmatu byla hodnocena po provedení série měření bez použití křemičitého skla. Pro snížení teploty nad povrchem kultivačního média bylo se vzorkem rotováno, proto se může zdát, že plocha ošetřená při stejné době expozice (např. 10 minut) je větší. Větší ošetřená plocha je však nejspíše způsobena právě rotací vzorku, a tedy působením výboje na větší plochu.

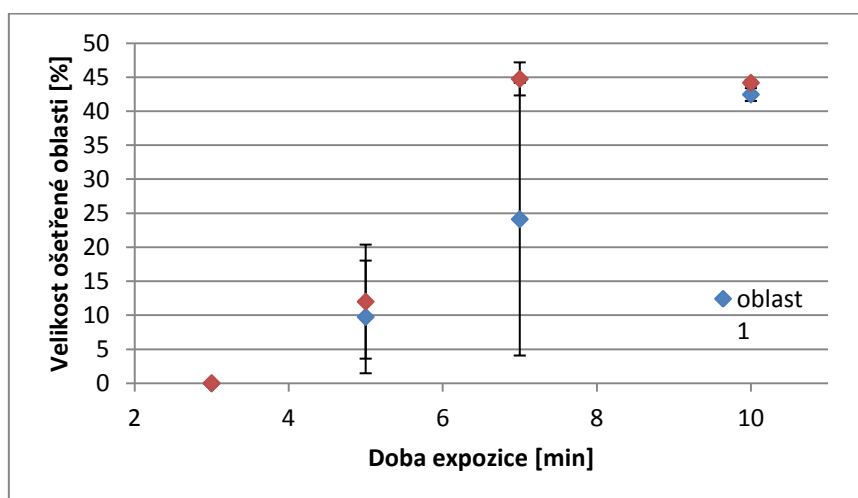
Závislost velikosti ošetřené oblasti je opět rostoucí, ve srovnání s korónovým výbojem však nebyla u tohoto typu výboje pozorována oblast postupného poklesu strmosti křivky při delších expozicích. Křivka pro zkoumané časové úseky stále roste (strmost se nesnižuje). Jednotlivé získané hodnoty velikostí oblastí zobrazuje Tab. č. 7 pro koncentraci kvasinek $8 \cdot 10^3$ cfu/ml a pro koncentraci kvasinek $8 \cdot 10^4$ cfu/ml a jim odpovídající Grafy č. 7 a 8.

Tab. č. 7: Velikosti oblastí 1 a 2 a jejich směrodatných odchylek pro různé koncentrace *S. cerevisiae* při ošetření všemi produkty klouzavého výboje

koncentrace	doba expozice [min]	oblast 1 [%]	oblast 2 [%]	sm. odchylka oblasti 1	sm. odchylka oblasti 2
$8 \cdot 10^3$ cfu/ml	3	0	0	± 0	± 0
	5	0	2,15	± 0	$\pm 2,15$
	7	12,44	15,95	$\pm 1,96$	$\pm 2,33$
	10	29,61	31,49	$\pm 3,11$	$\pm 3,41$
$8 \cdot 10^4$ cfu/ml	3	0	0	± 0	± 0
	5	9,76	12,00	$\pm 8,28$	$\pm 8,38$
	7	24,13	44,75	$\pm 20,04$	$\pm 2,43$
	10	42,45	44,18	$\pm 0,94$	$\pm 0,42$



Graf č. 7: Velikosti klouzavým výbojem inaktivovaných oblastí při použití koncentrace $8 \cdot 10^3$ cfu/ml

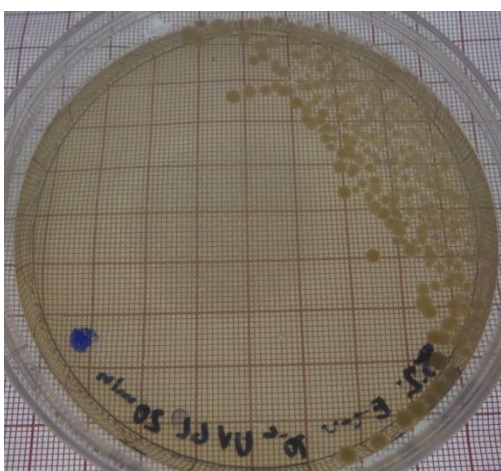


Graf č. 8: Velikosti klouzavým výbojem inaktivovaných oblastí při použití koncentrace $8 \cdot 10^4$ cfu/ml

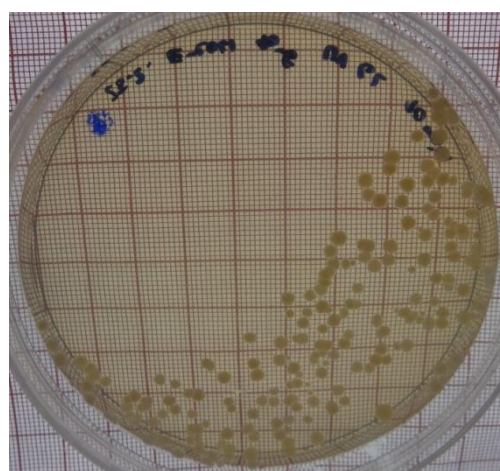
9.2.2. *Escherichia coli*

Podobně jako v předchozích případech bude nejprve hodnocen účinek separovaného UV záření na inaktivaci tohoto typu bakterií. Z Grafů č. 9 a 10 zachycující situaci číselně popsanou v Tab. č. 8 je patrné, že již 10 minut expozice bylo dostatečné k inaktivaci přibližně 60 % z celkové plochy pro obě zkoumané koncentrace bakterií. Hodnoty se ani po navýšení doby ošetření výrazně nelišily. Jejich drobná rozdílnost je spíše dána statistickou fluktuací hodnot než jiným fyzikálním nebo chemickým dějem. Pokud by bylo se vzorky rotováno, pravděpodobně by došlo k inaktivaci bakterií na celé ploše.

Plocha ošetřená UV zářením byla bez výjimek naprosto homogenní a neošetřená plocha byla naprosto zřetelně oddělena od plochy ošetřené (viz. Obr. č. 35 a 36).



Obr. č. 35: *E. coli* ošetřované pomocí UV
10 minut

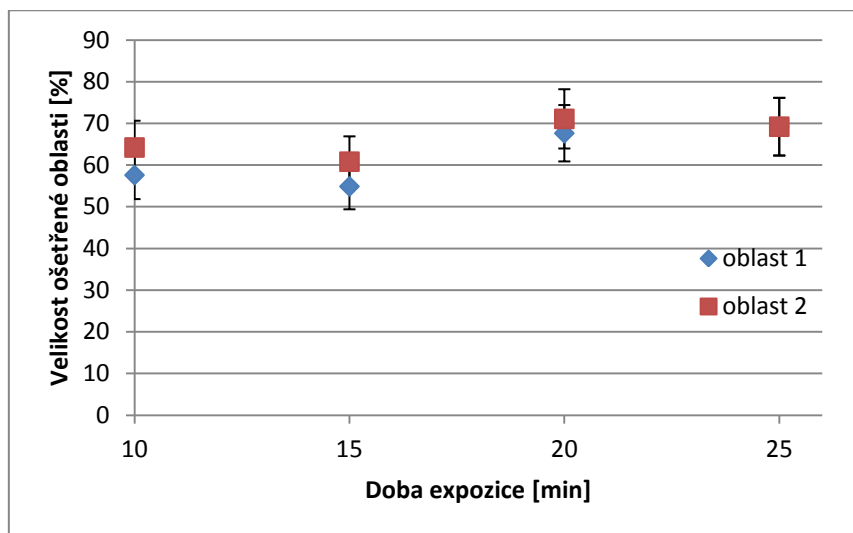


Obr. č. 36: *E. coli* ošetřované pomocí UV
20 minut

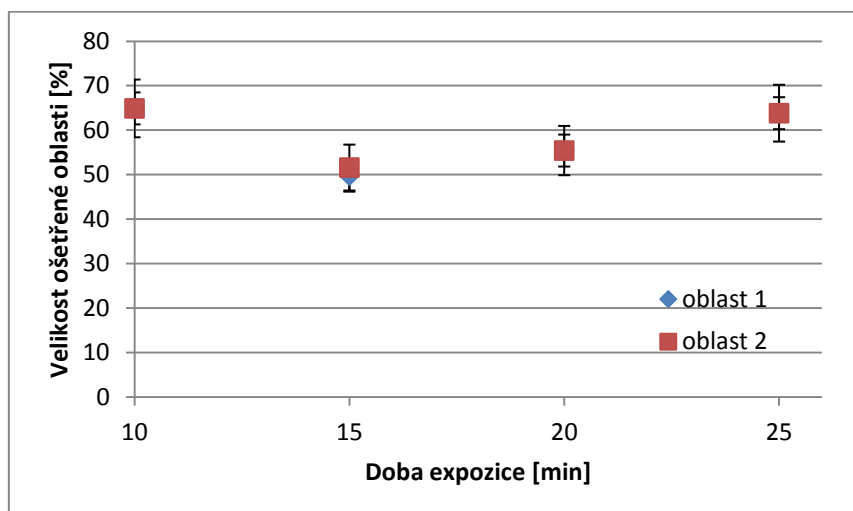
Při důsledném pozorování všech exponovaných vzorků byl zaznamenán nápadně podobný tvar hranice oddělující obě oblasti. Přímkový tvar hranice by mohl naznačovat, že došlo k lomu UV záření na hraně aparatury generující výboj. Divergentní elektrody prototypu jsou totiž z 5 stran obehnány krytem z plexiskla, který sahá asi 2 mm pod hroty elektrod. Volný průchod produktů výboje ke vzorku mohl být tímto parametrem aparatury ovlivněn. Při volném šíření UV by měla mít ošetřená oblast tvar kruhu či elipsy.

Tab. č. 8: Velikosti oblastí 1 a 2 a jejich směrodatných odchylek pro různé koncentrace *E. coli* při ošetření UV z klouzavého výboje

koncentrace	doba expozice [min]	oblast 1 [%]	oblast 2 [%]	sm. odchylka oblasti 1	sm. odchylka oblasti 2
10 ² cfu/ml	10	57,57	64,19	±5,76	±6,42
	15	54,84	60,79	±5,48	±6,08
	20	67,61	71,06	±6,76	±7,11
	25	69,18	69,18	±6,92	±6,92
10 ³ cfu/ml	10	64,90	64,9	±6,49	±6,49
	15	49,78	51,61	±4,98	±5,16
	20	55,43	55,43	±5,54	±5,54
	25	63,83	63,83	±6,38	±6,38



Graf č. 9: Velikosti UV inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10² cfu/ml



Graf č. 10: Velikosti UV inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10³ cfu/ml

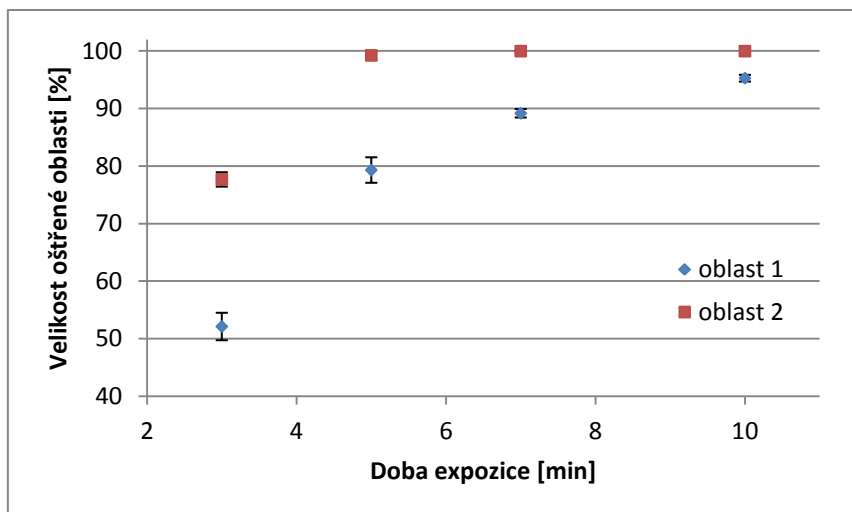
Měření inaktivace *E. coli* všemi produkty klouzavého výboje ve vzduchu potvrdilo charakter ošetřené oblasti, který byl pozorován při vyhodnocování stejných experimentů s kvasinkami. Ošetřená oblast byla i v tomto případě velice výrazně odlišena od oblasti neošetřené. Ve většině případů se po expozici vyskytovaly pouze jednotlivé bakterie po okraji ošetřené oblasti. Výjimkou nebyla ani 100% ošetřená oblast. Při použití nižší koncentrace bakterií (v tomto případě řádově stovky bakterií) docházelo k rychlejšímu nástupu inaktivace. Již po 5 minutách bylo dosaženo dekontaminace přibližně 80 % z celkové plochy povrchu agaru.

S rostoucí dobou expozice prudce rostla velikost inaktivované oblasti. Podobně jako v předchozích případech docházelo postupně k tlumení rychlosti růstu křivky a hodnoty se ustalovaly na maximální hodnotě, která se blížila 100 %. Rozdíl ve velikosti oblasti 1 a oblasti 2 se s uplynulou dobou podstatně snižuje. Velikost ošetřené plochy je ve srovnání se vzorky exponovanými UV zářením přibližně o 30 % větší. Rozdíl je s největší pravděpodobností způsoben rotací vzorků, a tedy zvětšení exponované plochy.

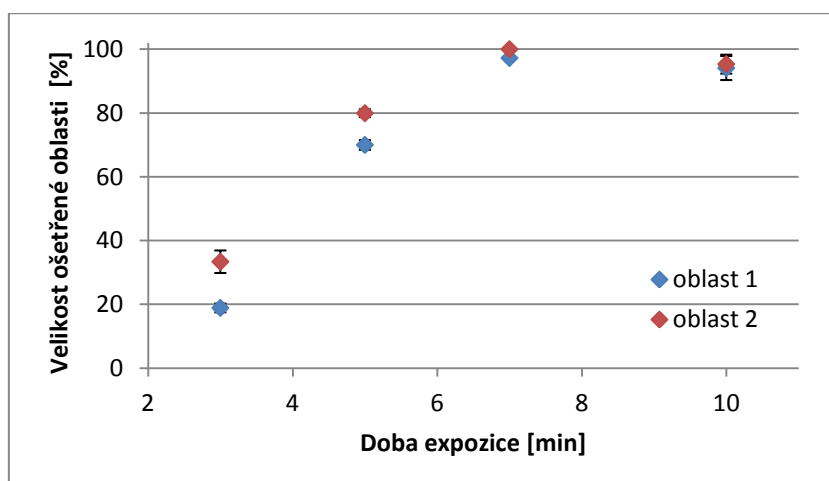
Výsledky měření jsou dále shrnuty v Tab. č. 9, dále pak v Grafu č. 11 pro koncentraci *E.coli* 10^2 cfu/ml, pro koncentraci o řád vyšší v Grafu č. 12.

Tab. č. 9: Velikosti oblastí 1 a 2 a jejich směrodatných odchylek pro různé koncentrace *E. coli* při ošetření všemi produkty klouzavého výboje

koncentrace	doba expozice [min]	oblast 1 [%]	oblast 2 [%]	sm. odchylka oblasti 1	sm. odchylka oblasti 2
10^2 cfu/ml	3	52,14	77,70	±2,39	±1,25
	5	79,33	99,26	±2,22	±0,74
	7	89,20	100	±0,74	±0
	10	95,20	100	±0,59	±0
10^3 cfu/ml	3	18,88	33,37	±1,37	±3,54
	5	69,99	79,93	±1,53	±1,23
	7	97,24	100	±0,52	±0
	10	94,09	95,32	±3,76	±2,98



Graf č. 11: Velikosti klouzavým výbojem inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10^2 cfu/ml



Graf č. 12: Velikosti klouzavým výbojem inaktivovaných oblastí při použití koncentrace 10^3 cfu/ml

10. Diskuse

Srovnání vlivu obou zdrojů UV záření na inaktivaci přináší jednoznačný výsledek. Záření generované klouzavým výbojem prokazatelně inaktivuje významné množství mikroorganismů. Naopak UV záření generované korónovým výbojem nemá významný vliv na mikroorganismy. Germicidní účinky se projevují zejména u UV C záření, mohlo se tedy stát, že použitý korónový výboj produkoval jiný typ UV záření (s vyšší vlnovou délkou), a proto nedošlo k inaktivaci.

Otázkou však zůstává, zda by bylo možné sestrojít prototyp tak, aby UV z korónového výboje bylo schopno inaktivace. V zásadě se při zachování elektrických parametrů korónového výboje nabízejí dvě proveditelné varianty. Jedním z možných řešení je snížení útlumu záření v prostředí snížením tloušťky křemenného skla, které odstiňuje všechny produkty výboje kromě UV. Dalším parametrem je vzdálenost mezi destičkou z křemenného skla a povrchem kultivačního materiálu. Tuto vzdálenost by bylo možné ovlivnit změnou množství kultivačního materiálu v Petriho misce. Zvýšení množství agaru, jenž je následně inokulován zkoumanými mikroorganismy, by snížilo vzdálenost, kterou UV záření musí urazit po průchodu destičkou. Na druhou stranu by se u takto připravených vzorků zvýšila pravděpodobnost mechanického poškození při umísťování destičky do těsného kontaktu s povrchem, ale také pravděpodobnost kontaminace při manipulaci v elektrické laboratoři.

Pozorování nepřímých účinků dvou typů výbojů (korónového a klouzavého) přináší výsledky hodné zamyšlení. Zatímco produkty korónového výboje lépe inaktivují pivovarské kvasinky, klouzavý výboj je významně účinnější u *E. coli*. V obou případech mluvíme o rozdílech řádově desítek procent ošetřené plochy.

V rámci této diplomové práce byly porovnávány 2 diametrálně rozdílné výboje – koróna a klouzavý výboj (jak ve smyslu intenzity, tak ve smyslu mechanismu). Korónový výboj je zástupcem netermálního plazmatu, zatímco klouzavý výboj vzniká z elektrického oblouku, který se průchodem vzduchu rozpojuje. U korónového výboje tedy neočekáváme přítomnost nabitých částic, neboť jsou vychytávány elektrodou, ale očekáváme působení pouze neutrálních částic, metastabilních produktů výboje a UV. K interakci dochází jen mezi odolnými produkty a produkty s delší životností. Působení klouzavého výboje zahrnuje také nabité částice. Všechny vyprodukované částice mají větší energii, takže jsou schopny doputovat až k povrchu agaru a tam inaktivovat mikroorganismy.

11. Závěr

Cílem této práce bylo seznámit čtenáře s možností inaktivace mikroorganismů pomocí UV záření generovaného různými typy výbojů. Problematika UV záření byla rozebrána v teoretické části společně s dalšími možnými inaktivátory produkovanými při průchodu el. výboje vzduchem za atmosférického tlaku.

V rámci praktické části diplomové práce byl zkonstruován prototyp schopný po připojení zdroje napětí generovat záporný korónový výboj. Posléze byl modifikován tak, aby bylo v rámci této diplomové práce možné oddělit UV záření od ostatních produktů výboje. Podobně bylo postupováno i v případě klouzavého výboje.

Korónový a klouzavý výboj jsou velice odlišné typy výbojů, proto také byly očekávány rozdílné výsledky jejich působení na živé organismy. Výsledky měření provedených ke stanovení účinků UV záření byly zejména u korónového výboje překvapující. Nižší účinnost UV generovaného při korónovém výboji byla sice očekávána, nebyla však očekávána účinnost nulová. Je tedy zjevné, že ačkoli korónový výboj produkuje UV záření, jeho intenzita je velice nízká, dokonce tak nízká, že dojde po průchodu skleněnou destičkou o tloušťce 3 mm a přibližně 3 mm vzduchu mezi destičkou a povrchem kultivačního média ke snížení jeho intenzity natolik, že interakce tohoto záření s pozorovanými mikroorganismy nevyvolá hodnotitelný efekt. Podobně jako v publikaci [46] tedy platí, že UV záření generované korónovým výbojem nehraje při inaktivaci biologického materiálu významnou roli.

Záření UV generované klouzavým výbojem naopak vykazovalo velice významnou schopnost interagovat s použitými mikroorganismy do té míry, že jeho účinky jsou srovnatelné s účinností všech produktů výboje. Pokud by bylo se vzorky ozařovanými pomocí UV rotováno, s velmi vysokou pravděpodobností by došlo k ošetření významně větší plochy. Inaktivovaná oblast vykazovala striktně vytyčený okraj, za nímž již bylo možné pozorovat mikroorganismy o původní koncentraci.

V souhrnu by se tedy dalo říci, že UV záření generované záporným korónovým výbojem s parametry nastavení prototypu zmíněnými výše nehraje při inaktivaci různých typů mikroorganismů významnou roli. U klouzavého výboje však nastává situace opačná. Vzhledem k počtu inaktivovaných mikroorganismů, resp. velikosti ošetřených ploch, by se dalo říci, že interakce UV záření dopadajícího na povrch kultivačního materiálu v tomto případě představuje nezanedbatelný proces vedoucí k inaktivaci.

Reference

- [1] Laroussi, M.; Kong, M.; Morfill, G. Et al.: Plasma medicine - Applications of low-temperature gas plasmas in medicine and biology, Cambridge university press, Cambridge, 2012
- [2] Fridman, A.; Fridman, G.: Plasma medicine, Wiley, 2013, ISBN: 978-0-470-68970-7
- [3] Fridman, G.; Shekhter, A. B.; et al.: Applied plasma medicine, Plasma Processes and Polymers, 2008, vol. 5, p. 503–33
- [4] Morfill, G. E.; Kong, M. G.: et al.: Focus on plasma medicine, New Journal of Physics, 2009, vol. 11, online: <https://dspace.lboro.ac.uk/dspace-jspui/bitstream/2134/6386/1/67-PlasmaMed-Editorial-NJP.pdf> (citováno 11.5.2016)
- [5] Sladek, R. E. J.; Stoffels, E.; et al.: Plasma treatment of dental cavities: a feasibility study, IEEE Transactions on Plasma Science, 2004, vol. 32, p. 1540-1543
- [6] Ben Gadri, R.; Roth, J. R.; et al.: Sterilization and plasma processing of room temperature surfaces with a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP), Surface and Coatings Technology, 2000, vol. 131, p. 528–42
- [7] Shekhter, A. B.; Serezhenkov, V. A.; et al.: Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds, Nitric Oxide, 2005, vol. 12, p. 210–19
- [8] Mohades, S.; Laroussi, M. et al.: Evaluation of the effects of a plasma activated medium on cancer cells, Physics of Plasmas, online: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4933367> (citováno 11.5.2016)
- [9] Yang, H.; Lu, R. et al.: Effects of atmospheric pressure cold plasma on human hepatocarcinoma cell and its 5-fluorouracil resistant cell line, Physics of Plasmas view online: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4933405> (citováno 11.5.2016)
- [10] Tanaka, H.; Mizuno, M. et al.: Cancer therapy using non-thermal atmospheric pressure plasma with ultra-high electron density, Physics of Plasmas view online: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4933402> (citováno 11.5.2016)
- [11] Kracík, J.; Slavík J. B.; Tobiáš, J.: Elektrické výboje, Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 1964
- [12] Hippler, R.; Kersten, H.; et al.: Low temperature plasmas, Wiley-VCH, Greifswald, 2008
- [13] Piel, A.: Plasma Physics – An introduction to laboratory, Space and fusion plasmas, Springer 2010
- [14] Machala, Z.; Chládeková, L.; Pelach, M.: Plasma agents in-biodecontamination by dc discharges in atmospheric air, Journal of physics D: Applied physics, 2010, vol. 43

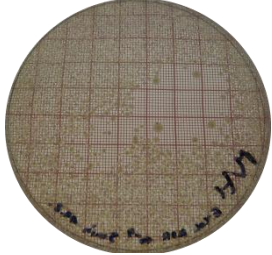
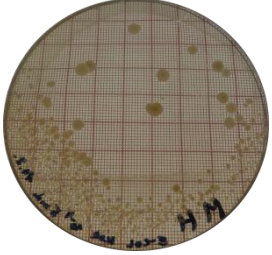
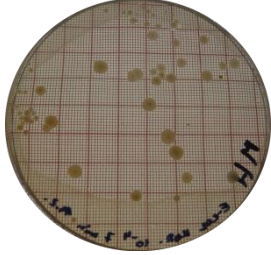
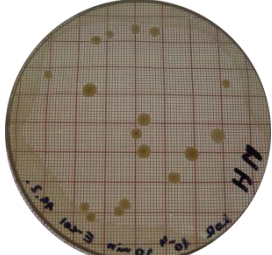
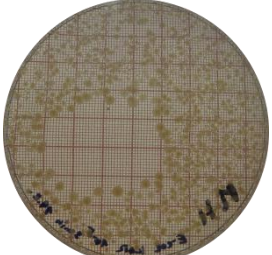
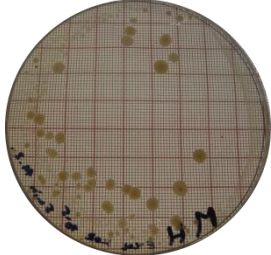
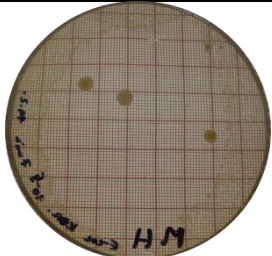

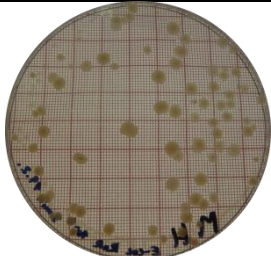
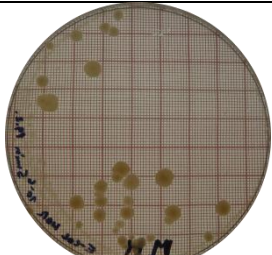
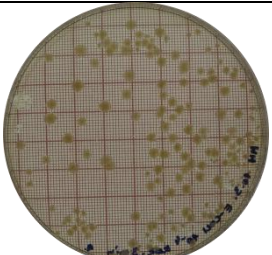
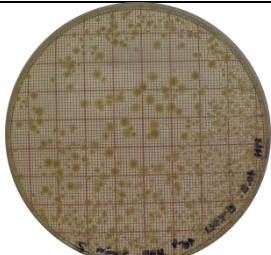
- [15] Dobrynin, D.; Fridman, G.; et al.: Physical and biological mechanisms of direkt plasma with living tissue, *New journal of physics*, 2009, vol. 11
- [16] Broadwater, W.; Hoehn, R.; et al.: Sensitivity of three selected bacterial species to ozone, *Appl. Environm. Microbiol.*, 1973, vol. 26, p. 391–3
- [17] Výukový server Aldebaran: Výboje, online: www.aldebaran.cz/studium/vyboje.pdf (citováno: 21.5.2016)
- [18] Friedman, A.; Chorikov, A, et al.: *J. Phys. D.: Appl. Physics*, 2005, vol. 38, R1-R24
- [19] Shin, G. A.; Sobsey, M. D.: Reduction of Norwalk virus, poliovirus 1, and bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, vol. 69, p. 3975-3978
- [20] Raizer, Y. P.: *Gas discharge physics*, Springer, Berlin, 1997
- [21] Pekárek, S.: DC Corona discharge ozone production enhanced by magnetic field, *The European Physical Journal D*, 2010, vol. 56, p. 91-98
- [22] Cramariuc, R.; Tudorache, A.; et al.: Corona discharge in electroporation of cell membranes, *Journal of physics*, 2008, vol. 142
- [23] Wagner, H. E.; Brandenburg, R.; et al.: *Vacuum*, Science Direct, 2003, vol. 71, p. 417-436
- [24] Ehlbeck, J.; Schanabel, U.; et al.: Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination, *Journal of Physics D*, 2010, online: stacks.iop.org/JPhysD/44/013002 (citováno: 20.5.2016)
- [25] Weltmann, K. D.; Kindel, E.; et al.: Atmospheric Pressure Plasma Jet for Medical Therapy: Plasma Parameters and Risk Estimation, *Contributions to plasma physics*, 2009, vol. 49, p. 631-640
- [26] Weltmann, K. D.; von Woedtke, T.; et al.: Biomediacal applications of atmospheric pressure plasma, *Chemické listy*, 2008, vol. 102, p. 1450-1451
- [27] Richard, F.; Cormier, J.M.; et al.: Physical study of a gliding arc discharge, *Journal of applied physics*, 1996, vol. 79
- [28] Fridman, A.; Nester,S.; et al.: Gliding arc gas discharge, *Progress in energy and combustion science*, 1999, vol. 25, p.211-231
- [29] Czernichowski, A.: Gliding arc. Applications to engineering and environment control, *Pure and Appl. Chemistry*, 1994, vol. 66, p. 1301-1310

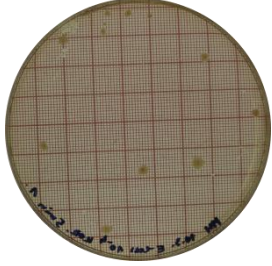
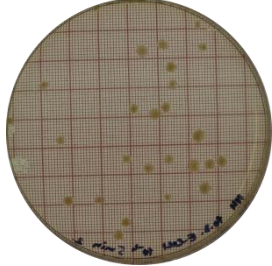
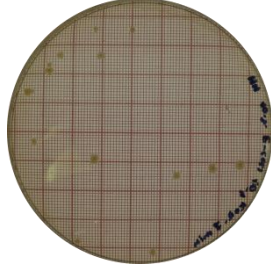
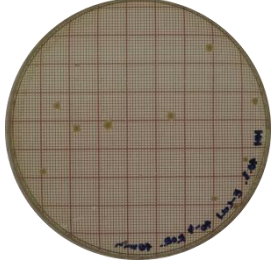
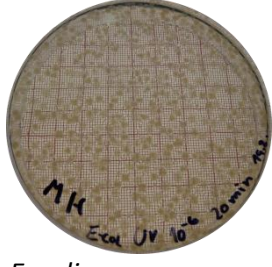
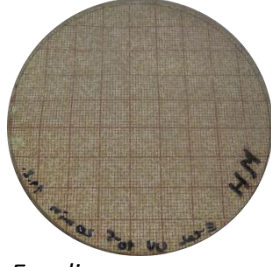
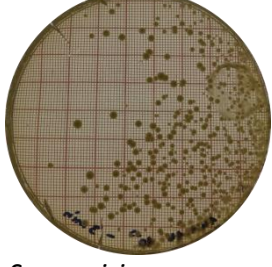
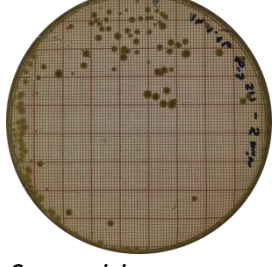
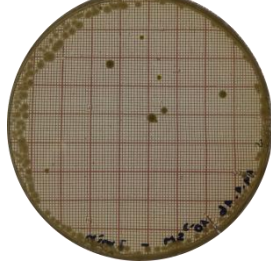
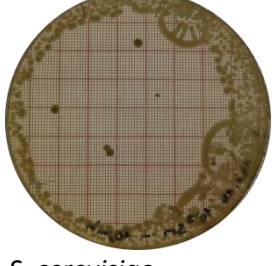
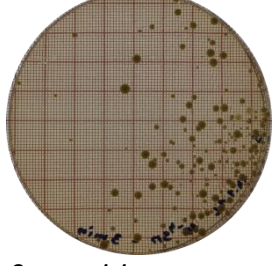
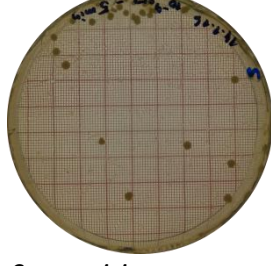
- [30] Státní zdravotní ústav: UV záření, online: <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupani-ve-volne-prirode/uv-zareni> (citováno: 19.5.2016)
- [31] Pustisek, N.; Situm, M.: UV-Radiation – Apoptosis and Skin, *Collegium antropologicum*, 2011, vol. 35, p. 339-341
- [32] Beneš, P.; Novotná, J.: *Chemie a radiační hygiena prostředí*, Vydavatelství ČVUT, Praha, 1995
- [33] Kirkpatrick, M.; Locke, B. R.: Hydrogen oxygen, and hydrogen peroxide formativ in electrohydraulic discharge, *Industrial and Engineering chemistry research*, 2005, vol. 44, p. 4243-42438
- [34] Sahní, M.; Locke, B. R.: Quantification of reductive species produced by high voltage electrical discharges in water, *Plasma Processes and Polymers*, 2006, vol. 3, p. 342-354
- [35] Sabol, J.; Navrátil, L.; et al.: Radiobiologie, online: <http://fbmi.sirdik.org/9-kapitola/93.html> (citováno 19.5.2016)
- [36] Julák, J.: *Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie*, Karolinum, Praha, 2003
- [37] Scholtz, V.; Julák, J., Kříha, V.: The microbicidal effect of low-temperature plasma generated by corona discharge: Comparison of various microorganisms on an agar surface or in aqueous suspension, *Plasma Processes and Polymers*, 2010, vol. 7, p. 237-243
- [38] Laroussi, M.; Leipold, F.: Evaluation of the role of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure, *International journal of mass spectrometry*, 2004, vol. 233, p. 81-86
- [39] Červeňák, J.: *Ovplyvňovanie mikroorganizmov ionizujúcim a UV žiarením v prítomnosti vychytávačov radikálov*, Diplomová práce, FJFI ČVUT, 2014
- [40] Lukes, P.; Clupek, M.; et al.: Ultraviolet radiation from the pulsed corona discharge in water, *Plasma sources science and technology*, vol. 11, 2008
- [41] Guo, J.; Huang, K.; et al.: Bactericidal effect of various non-thermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review, *Food control*, 2015, vol. 50, p. 482-490
- [42] Centers for disease control and preventiv: *Escherichia coli – General information*, online: <http://www.cdc.gov/ecoli/> (citováno: 19.5.2016)

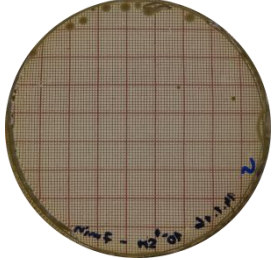
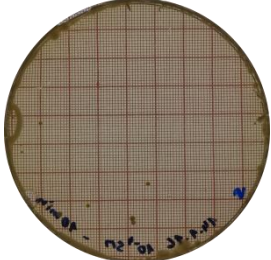
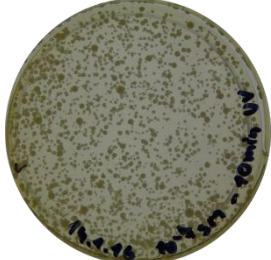
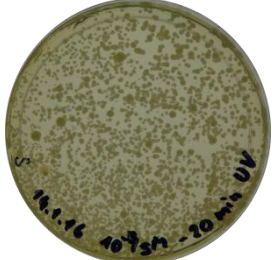
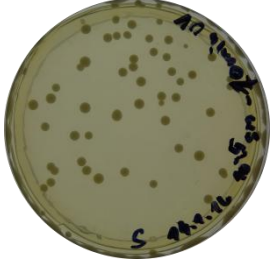
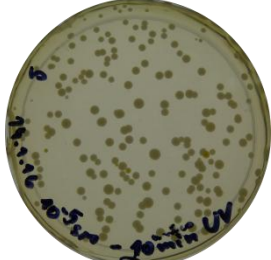
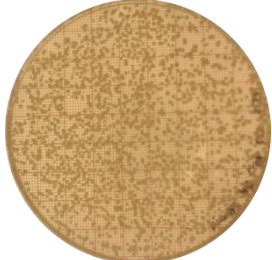

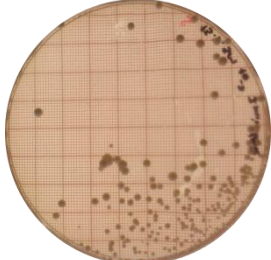
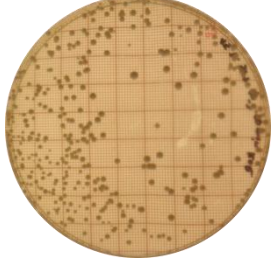
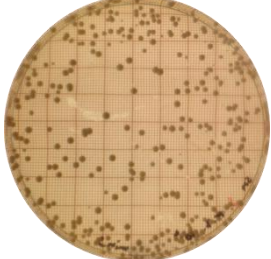
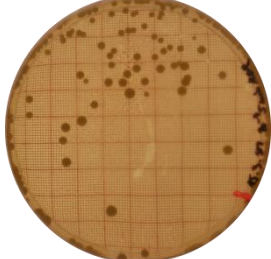
- [43] Mikrobiology notes: Mueller Hinton Agar (MHA) – Composition, Principle, Uses and Preparation, online: <http://www.microbiologyinfo.com/mueller-hinton-agar-mha-composition-principle-uses-and-preparation> (citováno: 19.5.2016)
- [44] Miniatlaz mikroorganismů: *Saccaromyces cerevisce*, online: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/sacch.htm> (citováno: 19.5.2016)
- [45] Bioweb: *Saccharomyces cerevisce*, online: http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2007/nelson_andr/ (citováno: 19.5.2016)
- [46] Timoshkin, I. V.; Maclean, M.; et al.: Bactericidal effect of corona discharges in atmospheric air, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 2012, vol. 40(10), p. 2322-2333.

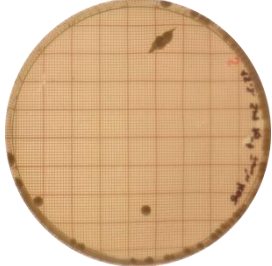
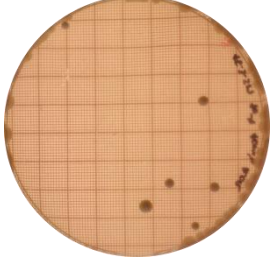

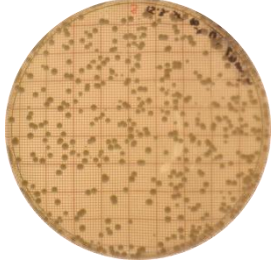
Příloha č. 1

A. Negativní korónový výboj

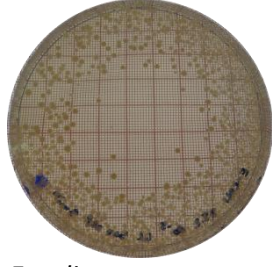
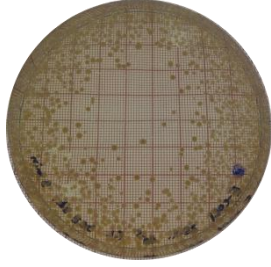
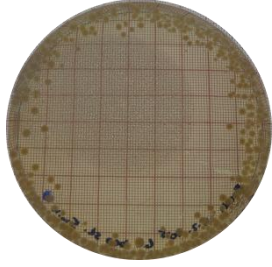
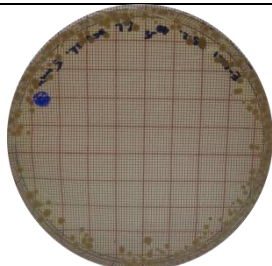
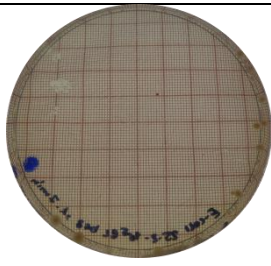
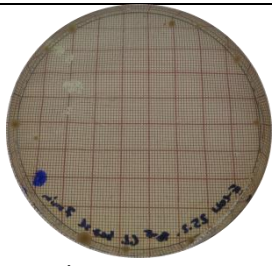
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^4 Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^4 Doba expozice: 5 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^4 Doba expozice: 7 min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^4 Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 5 min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 7 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 3 min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 5 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^4$ Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^4$ Doba expozice: 3 min</p>

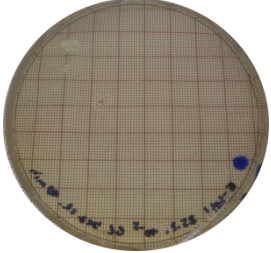
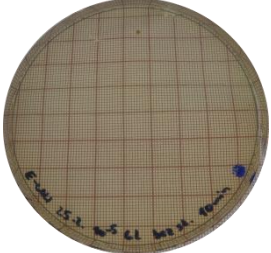
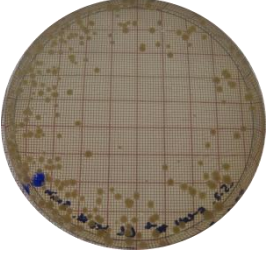
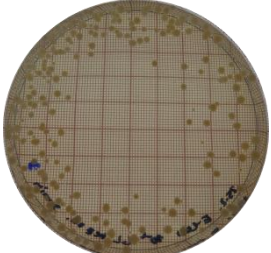
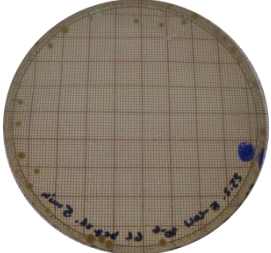
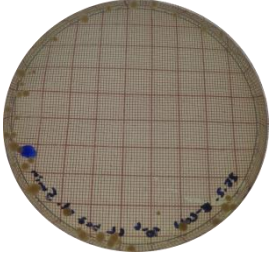
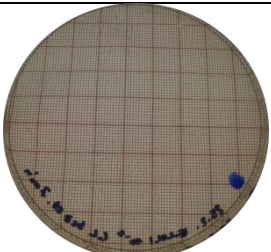
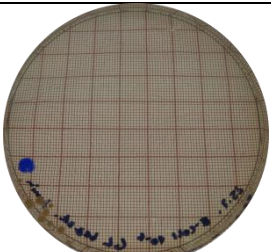
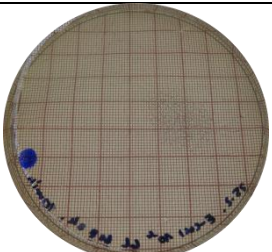
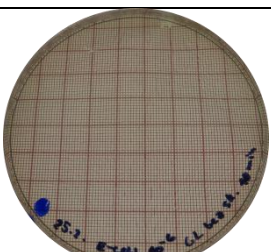
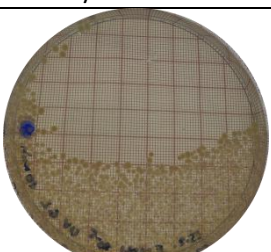
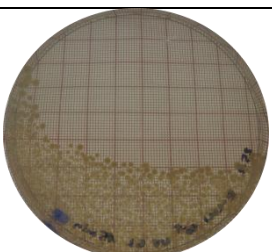
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^4$ Doba expozice: 5 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^4$ Doba expozice: 5 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^4$ Doba expozice: 7 min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^4$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 20 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 20 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^3$ Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^3$ Doba expozice: 5 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^3$ Doba expozice: 7 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^3$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^2$ Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^2$ Doba expozice: 5 min</p>

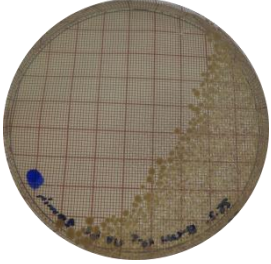
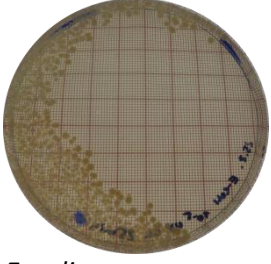
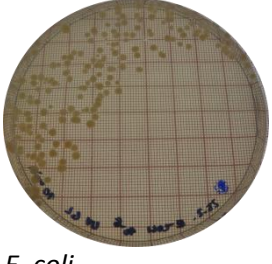
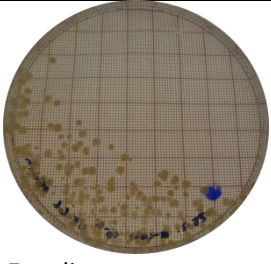
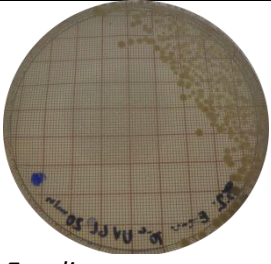
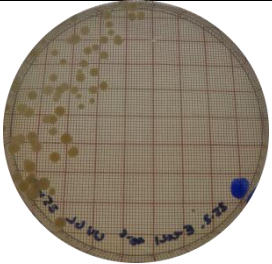
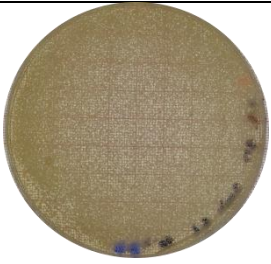
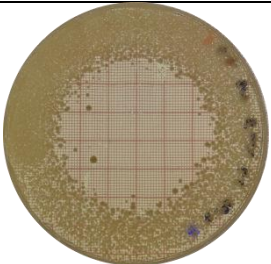
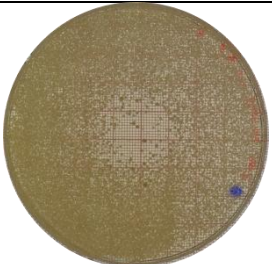
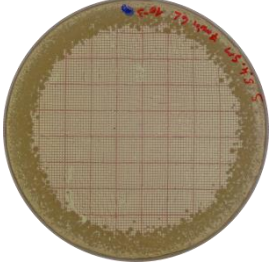
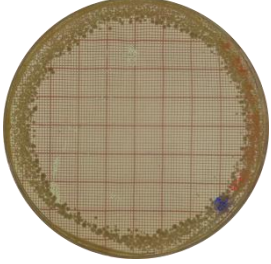
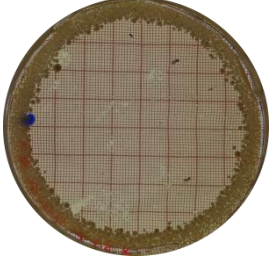
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^2$ Doba expozice: 7 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $7 \cdot 10^2$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $7 \cdot 10^2$ Doba expozice: 10 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $7 \cdot 10^2$ Doba expozice: 20 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $7 \cdot 10^1$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $7 \cdot 10^1$ Doba expozice: 20 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^3$ Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^3$ Doba expozice: 5 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^3$ Doba expozice: 7 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^3$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^2$ Doba expozice: 3 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^2$ Doba expozice: 5 min</p>

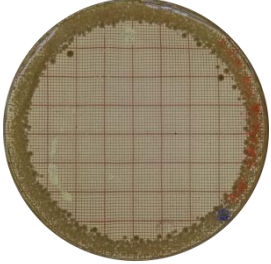
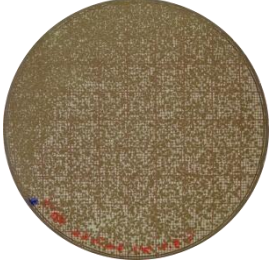
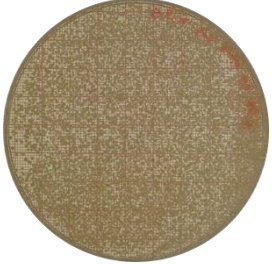

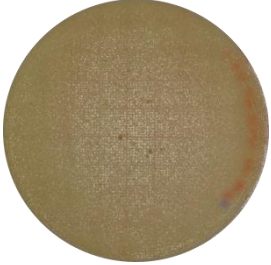
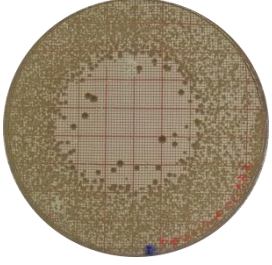
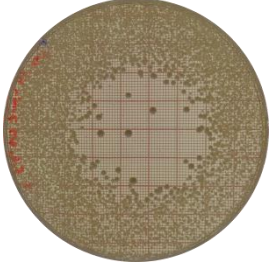
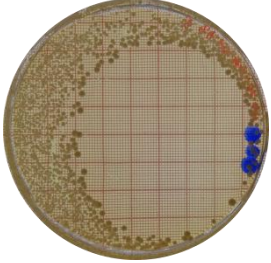
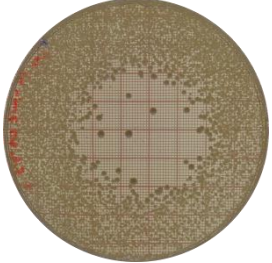
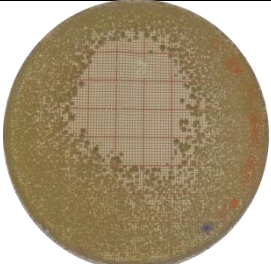
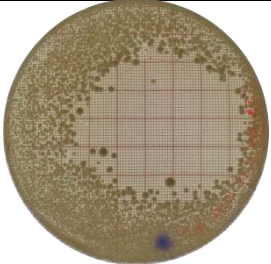
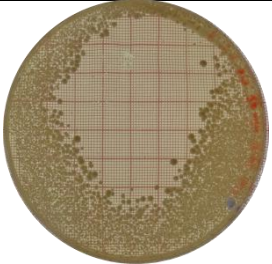
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^2$ Doba expozice: 7 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $5 \cdot 10^2$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $5 \cdot 10^3$ Doba expozice: 20 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $5 \cdot 10^2$ Doba expozice: 20 min</p>		

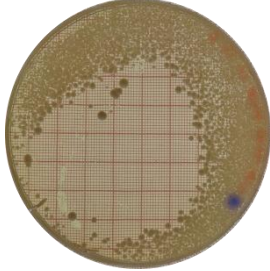
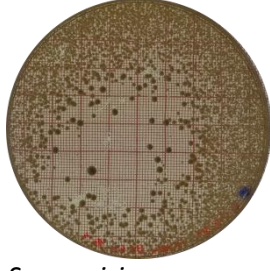
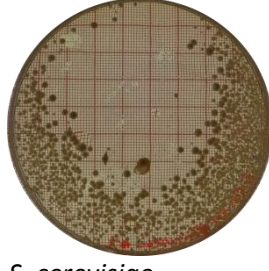
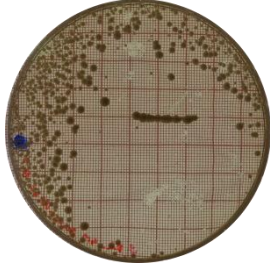
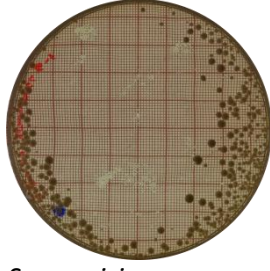
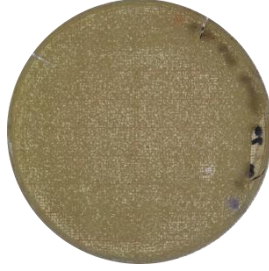
B. Klouzavý výboj

 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 3 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 3 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 5 min Rotace: 60t/min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 5 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 7 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 7 min Rotace: 60t/min</p>

 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 10 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 10 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 3 min Rotace: 6ot/min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 3 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 5 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 5 min Rotace: 6ot/min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 7 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 7 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 10 min Rotace: 6ot/min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 10 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 15 min</p>

 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 20 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^3 Doba expozice: 25 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 10 min</p>
 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 15 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 20 min</p>	 <p>Typ: <i>E. coli</i> Inaktivace: UV Koncentrace: 10^2 Doba expozice: 25 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 3 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 5 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 5 min Rotace: 6ot/min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 7 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 7 min Rotace: 6ot/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 10 min Rotace: 6ot/min</p>

 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 10 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 3 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 3 min Rotace: 60t/min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 5 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 5 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 7 min Rotace: 60t/min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 7 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 10 min Rotace: 60t/min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 10 min Rotace: 60t/min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 15 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 20 min</p>

 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 25 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 10 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 15 min</p>
 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 20 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: UV Koncentrace: $8 \cdot 10^3$ Doba expozice: 25 min</p>	 <p>Typ: <i>S. cerevisiae</i> Inaktivace: všechny produkty Koncentrace: $8 \cdot 10^4$ Doba expozice: 3 min Rotace: 60t/min</p>