

SINTEZA LUCRĂRII – perioada 2007 – 2010
(10 pagini text + 26 figuri + 1,5 pagini bibliografie)

Programul:	IDEI
Tipul proiectului:	Proiecte de cercetare exploratorie
Cod proiect:	ID_54

CONTRACTOR:

**Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare
 pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiației**

Contract de finanțare nr. 19 / 2007**Proiect IDEI_54****Faza Finală: 30 septembrie 2010****Titlul proiectului:**

*“Noi structuri pulsate cu tensiuni înalte,
 generatoare de jeturi de plasmă rece la presiunea atmosferei terestre,
 cu aplicații bio-medicale”*

In ultimul deceniu, mulțimea aplicațiilor posibile a impulsionat puternic cercetările din domeniul plasmelor reci la presiune atmosferică (“atmospheric pressure cold plasmas”). Aceste plasmă sunt sisteme în neechilibru, având temperatura electronică mult mai mare decât cea ionică. Plasma este “rece” (non-termică) la nivel macroscopic, având aproximativ temperatura mediului ambiant. Obținerea plasmei reci la presiune atmosferică reprezintă un avantaj hotărâtor de simplitate și de cost, în comparație cu plasmăle obținute la presiuni reduse, în instalații speciale.

Plasma rece este produsă în mediu gazos, prin descărcări în câmpuri electromagnetice. Pentru obținerea sa la presiune atmosferică, cele mai potrivite medii de lucru sunt gazele inerte : heliu, argon. Din păcate, aceasta intră în contradicție cu necesitatea ca plasma să fie și activă chimic, pentru diversele aplicații avute în vedere. Rezolvarea acestei contradicții constituie cheia succesului în acest domeniu de cercetare.

Plasmăle reci la presiune atmosferică sunt în prezent intens studiate pentru o multitudine de aplicații: modificarea proprietăților unor suprafețe [1 – 3]; modificări fizico-chimice ale polimerilor [4]; depunere de filme subțiri [5 – 7]; nanotehnologii [8]; depoluarea de medii gazoase sau lichide [9, 10]. Dar cea mai mare parte a aplicațiilor aparține domeniului biomedical: distrugerea de microorganisme (sterilizări, decontaminări de medii biologice, tratarea alimentelor termosensibile, etc. [11 – 14]; tratare de celule umane sau animale *in vitro* și *in vivo* [15 – 20]; testarea unor tratamente medicale [21 – 25]. Toate aceste ultime aplicații aparțin celui mai nou domeniu de cercetare al prezentului: medicina plasmei (plasma

medicină) [26, 27]. De aici rezultă și noutatea pe care prezentul proiect a păstrat-o în permanență, deoarece a avut în vedere în primul rând aplicații bio-medicale. Este vorba de tratamente cu jeturi de plasmă rece la presiune atmosferică a unor celule specifice (normale și tumorale).

În perspectivă, se urmărește ca jetul de plasmă să acționeze la nivel celular, pentru a îndepărta țesuturile bolnave, fără ca acest tratament să aibă efecte secundare nedorite (inflamații, sângerări, distrugerii de țesuturi sănătoase). Provocarea morții celulelor bolnave se poate face în două moduri: prin necroză, respectiv prin apoptoză. Necroza este o moarte rapidă, violentă, cu ruperea membranei celulare și răspândirea conținutului celulei în țesutul înconjurător, ceea ce conduce la reacții inflamatorii. Iar inflamația cronică potențează tumorigeneza [28]. Apoptoza este un proces de moarte lentă, programată, care nu induce reacții inflamatorii. De aceea proiectul a urmărit utilizarea jeturilor de plasmă rece la presiune atmosferică pentru a produce cu preponderență efecte apoptotice.

Pe parcursul desfășurării proiectului, au fost realizate o serie de dispozitive de generare de jeturi de plasmă rece la presiune atmosferică [29 – 31]. Tensiunea aplicată între electrozii acestor dispozitive este o tensiune pulsată, cu amplitudini de 20 – 30 kV, durate de sute de ns și frecvențe de repetiție de zeci-sute de pulsuri pe secundă (pps). Gazul care asigură descărcarea la presiune atmosferică a fost heliul (în unele cazuri argonul). Pentru activare chimică, în gazul inert a fost introdus oxigen, în concentrații de ordinul procentelor.

Realizarea obiectivelor proiectului în perioada 2007 – 2009:

Primul obiectiv al proiectului a fost *“Realizarea generatorului de impulsuri de înaltă tensiune, care alimentează dispozitivul emițător de jeturi de plasmă rece la presiune atmosferică.”* În 2007 a fost realizat un generator de impulsuri de înaltă tensiune cu caracteristicile mai sus menționate. Ulterior, au fost construite încă 2 generatoare (a se vedea 2.1. *Sinteza performanțelor obținute în perioada 2007 – 2010*).

În faza a doua a proiectului, obiectivele au fost: *“1. Realizarea de diverse structuri geometrice pentru generarea de jeturi de plasmă pulsată rece la presiune atmosferică. 2. Elaborarea de metode de activizare chimică a jeturilor de plasmă pulsată rece la presiune atmosferică.”* Au fost realizate și testate structuri geometrice de tip vârf-plan, vârf-vârf, plan-plan, fir-plan. Cele mai bune performanțe au fost obținute cu structurile: vârf-plan; vârfuri-plan; fir-plan. A fost optimizată concentrația de oxigen care asigură maximizarea activității chimice a jetului de plasmă.

Obiectivele fazei a treia a proiectului: *“1. Caracterizarea fizico-chimică a jetului de plasmă rece pulsată. 2. Studiul efectelor jeturilor de plasmă rece pulsată la presiune atmosferică asupra celulelor vii.”* Au fost caracterizate electric, spectral și termic jeturi de plasmă pulsate la presiune atmosferică produse de generatoare cu diverse configurații geometrice. Corelând temporal impulsurile de tensiune și curent s-a demonstrat că jetul de plasmă se propagă cu o viteză de ordinul a 10^5 m/s. Analizele spectrale ale jeturilor de plasmă de (heliu + oxigen) sau (argon + oxigen) au demonstrat că în compoziția chimică se găsesc atomi de oxigen și radicali OH, cele mai importante specii chimic active în aplicațiile biomedicale. Pentru toate combinațiile experimentale, temperatura jetului de plasmă nu a depășit 32° C. Acesta este un avantaj esențial pentru aplicațiile biomedicale, deoarece permite administrarea unui tratament lipsit de durere.

Testarea efectului jetului de plasmă la presiune atmosferică asupra liniilor celulare tumorale B16 (cancer de piele) și MDR (cancer de colon rezistent la citostatice) a evidențiat atât desprinderea celulelor de substrat (fenomen ce susține aplicabilitatea jetului de plasmă în chirurgia de mare finețe), cât și inducerea apoptozei în celulele tumorale (analiza morfologică și prin citometrie în flux).

Activitățile prin care au fost realizate cele două obiective ale fazei finale (din 2010) a proiectului

Obiectivul 1: Optimizarea parametrilor jeturilor de plasmă rece la presiune atmosferică, din punct de vedere al maximizării efectelor apoptotice asupra celulelor vii.

Activitatea desfășurată pentru realizarea acestui obiectiv a fost “Determinarea condițiilor experimentale necesare pentru obținerea unor efecte necrotice minime la un procent dat de efecte apoptotice”.

În vederea asigurării unei game largi de condiții experimentale, au fost realizate variantele finale pentru trei tipuri de dispozitive de generare a jeturilor de plasmă rece la presiune atmosferică:

1. Dispozitiv tip “siringă”.
2. Dispozitiv tip “creion”.
3. Dispozitiv cu trei electrozi de înaltă tensiune, conectați în paralel.

Varianta finală a dispozitivului tip “siringă” (Fig. 1) a fost prezentată în Faza 3 (2009). A fost optimizată concentrația de oxigen în heliu/argon care maximizează activitatea chimică a jetului de plasmă: 0,5 % în heliu și 1 % în argon. Ulterior Fazei 3, au fost determinate caracteristicile tensiune-curent ($v(t)$ - $i(t)$) ale acestui nou dispozitiv, în condițiile în care jetul de plasmă era incident pe un strat de apă dintr-un mic vas cilindric de polietilenă. Vasul cilindric era așezat pe o placă de cupru, conectată la masa electrică a sistemului. Tensiunea $v(t)$, aplicată pe electrodul de înaltă tensiune, a fost măsurată cu o sondă Tektronix P6015A. Curentul $i(t)$ a fost măsurat cu o sondă Tektronix P6021A, montată pe firul de legătură dintre placa de cupru și masă.

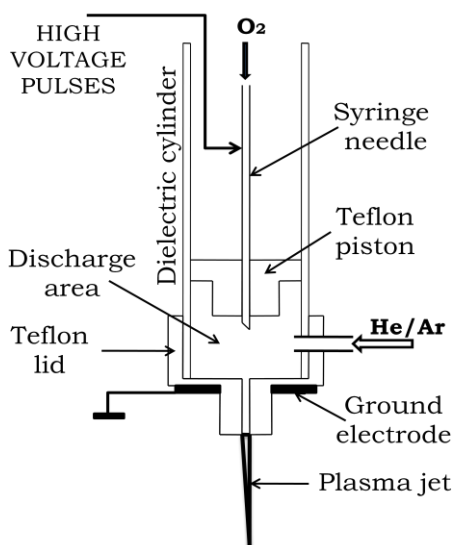


Fig. 1. Schița și fotografia dispozitivului tip “siringă” pentru generarea jeturilor de plasmă rece pulsată la presiune atmosferică.

În Fig. 2 sunt prezentate caracteristicile $v(t)$ - $i(t)$ ale dispozitivului din Fig. 1, pentru diverse concentrații ale gazului de activizare chimică (oxigenul). Gazul majoritar este heliul, care are în aceste cazuri un flux de 2,5 l/min. Lungimea jetului de plasmă este de 2 cm, așa cum este în experimentele pe culturi celulare. Apa din vasul cilindric este apă de la robinet, cu o conductivitate de 800 – 1000 $\eta\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, în gama de conductivități ale mediilor de cultură pentru celule.

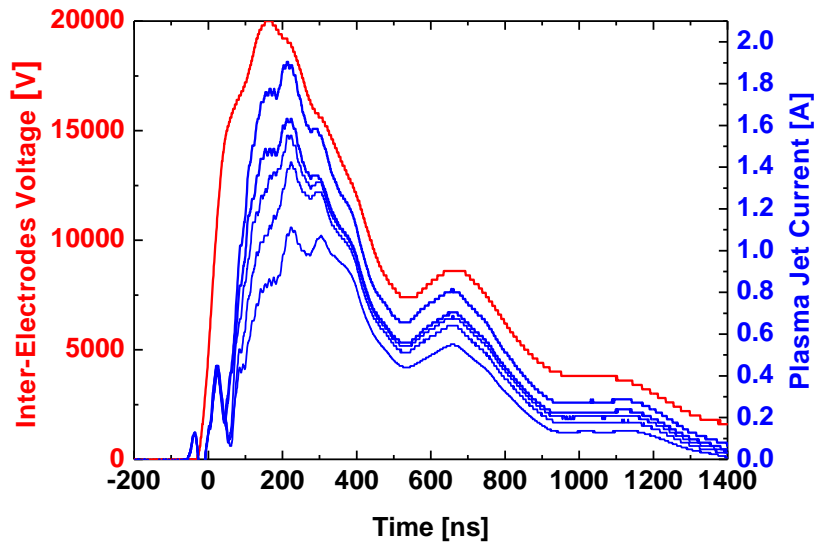


Fig. 2. Caracteristici $v(t)$ - $i(t)$ pentru dispozitivul tip "siringă", pentru diverse concentrații de oxigen în heliu. De la curentul cel mai intens până la curentul cel mai slab, concentrațiile de oxigen sunt respectiv de: 0 %; 0,5 %; 1 %; 1,5 %; 2 %. Lungime jet plasmă = 2 cm. Debitul de heliu = 2,5 l/min.

Pe baza caracteristicilor din Fig. 2 a fost calculată energia disipată de jetul de plasmă în fiecare impuls de durată τ :

În Fig. 3 se prezintă variațiile energiilor disipate pe puls pentru diverse concentrații de oxigen în heliu și pentru diverse lungimi ale jetului de plasmă. Se constată că pentru lungimi ale jetului de plasmă de 1 – 2 cm, energiile pe puls au valori destul de apropiate. La o lungime de 3 cm, jetul de plasmă furnizează energii mult mai mici. De aceea, în experimentele pe culturi de celule lungimea maximă a jetului de plasmă a fost de circa 2 cm. Din Fig. 3 rezultă că la o frecvență de 100 pps, puterea furnizată de jetul de plasmă obiectului tratat este de ordinul a $(10 - 12 \text{ mJ}) \times 100 \text{ s}^{-1} = 1 - 1,2 \text{ W}$.

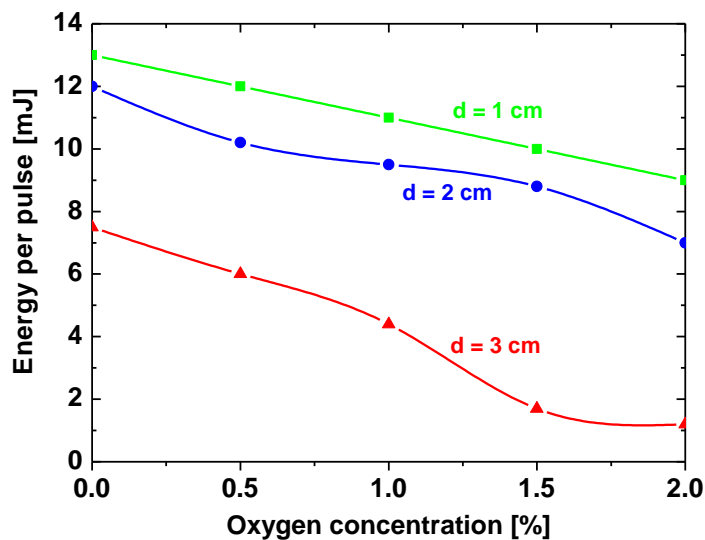


Fig. 3. Energiile disipate pe puls de către jetul de plasmă generat de dispozitivul tip "siringă" pentru diverse concentrații de oxigen în heliu și pentru diverse lungimi ale jetului.

Dispozitivul tip “creion” (Fig. 4) se remarcă prin dimensiuni mai mici decât la dispozitivele anterioare. O altă noutate este aceea că electrodul de masă este montat pe exteriorul cilindrului dielectric. În zona electrodului de masă, diametrele interior/exterior ale cilindrului dielectric (teflon) sunt de 6/8 mm. Electroful de înaltă tensiune este un ac lung de seringă cu diametrele interior/exterior de 1,2/1,6 mm. Poziția coaxială a acului este asigurată de o piesă de teflon de 25 mm lungime montată în capătul de sus al cilindrului. La capătul opus al cilindrului se află orificiul de ieșire a jetului de plasmă cu diametrul de circa 2 mm. Gazul inert (heliu, argon) este introdus printr-un orificiu lateral al cilindrului, iar gazul de activare chimică (oxigen) – prin interiorul acului de seringă. Această nouă structură are avantajul unui volum mai mic al zonei de descărcare, ceea ce facilitează descărcări mai puternice la aceeași tensiune electrică. De asemenea, se poate ușor modifica poziția vârfului acului de seringă în raport cu electrodul de masă aflat la exterior.

Caracteristicile $v(t)$ - $i(t)$ au fost determinate și în acest caz, cu deosebire că a fost măsurat curentul care “lovește” suprafața apei, nu curentul spre masă, ca în cazul prezentat mai sus. Din acest motiv rezultă curenți mult mai mari. Pentru măsurarea acestor curenți, jetul de plasmă cade pe o mică suprafață de cupru, conectată printr-un fir conductor la apa din vasul de polietilenă. Sonda de curent este montată în jurul acestui fir de legătură.

În Fig. 5 se prezintă caracteristicile $v(t)$ - $i(t)$ pentru dispozitivul tip “creion”, corespunzător la diverse concentrații de oxigen în heliu. Se constată că, deși curenții scad cu creșterea concentrației de oxigen, ei sunt semnificativi chiar și la concentrații de oxigen în heliu de 4 %. Studiile spectrale au demonstrat însă că pentru maximizarea activității chimice, concentrația optimă de oxigen este tot 0,5 %, ca și în cazul dispozitivului tip “siringă”.

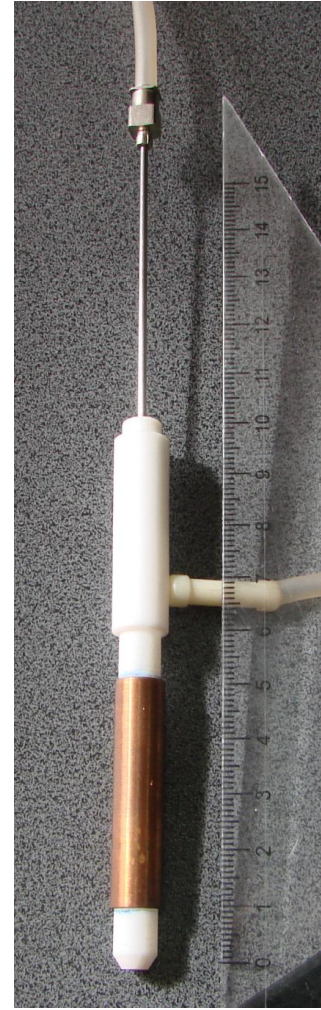


Fig. 4. Dispozitivul tip “creion”, generator de jeturi de plasmă la presiune atmosferică.

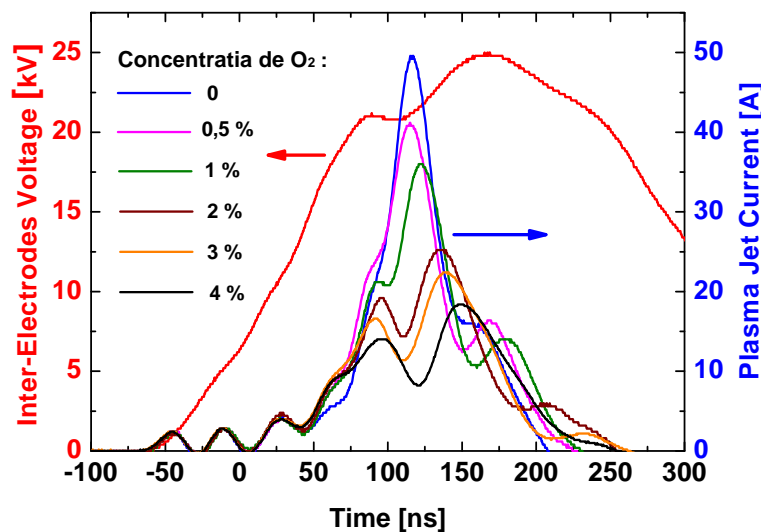


Fig. 5. Caracteristici $v(t)$ - $i(t)$ pentru dispozitivul tip “creion”, pentru diverse concentrații de oxigen în heliu. Lungime jet plasmă = 2 cm. Debitul de heliu = 2,5 l/min.

Cea mai mare parte a cercetărilor din acest an în privința generatoarelor de jeturi de plasmă la presiune atmosferică a fost consacrată creșterii activității chimice a plamei, pentru creșterea eficienței tratamentelor de celule. Activitatea chimică este cuantificată de intensitatea liniei de 777 nm a oxigenului atomic, în spectrul de emisie al plamei. În cercetările de până în acest an, această linie spectrală avea intensitate maximă atunci când concentrația de oxigen în heliu era de 0,5 %. În consecință, am urmărit depășirea acestei valori. Acest lucru a fost posibil cu ajutorul dispozitivului cu trei electrozi de înaltă tensiune, conectați în paralel.

În Fig. 6 se prezintă varianta inițială a acestui dispozitiv, realizată și testată calitativ în cercetările anterioare (Faza 2, din 2008). Avantajul dispozitivului inițial este acela că are perete transparent și permite descrierea sa, precum și demonstrarea funcționării corecte.



Fig. 6. Varianta inițială a dispozitivului cu trei electrozi de înaltă tensiune, alimentați în paralel.

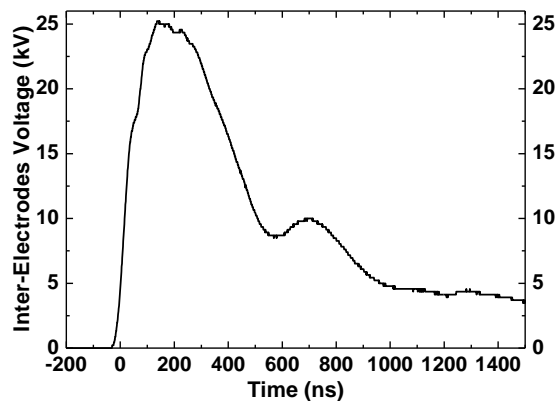


Fig. 7. Forma impulsurilor de înaltă tensiune aplicate între electrozii de înaltă tensiune și electrodul de masă.

În acest dispozitiv, un piston dielectric este montat în interiorul unui cilindru de asemenea dielectric. Diametrul interior al cilindrului este de 20 mm. Pistonul este străpuns de trei ace de seringă medicală, uniform dispuse pe circumferința unui cerc cu raza de 8,5 mm. Porțiunile de ace ieșite din piston au lungimea de 1,5 mm. Capetele opuse ale acelor sunt conectate electric, astfel încât alimentarea lor se face în paralel. Gazul de activare chimică – oxigenul – se introduce prin interiorul celor trei ace. Heliul este introdus prin centrul pistonului. Acele de seringă constituie electrozi de înaltă tensiune. Electroful de masă este montat pe exteriorul cilindrului, aici fiind piesa de cupru care înconjoară ajutorul de ieșire al jetului de plasmă. Descărcările electrice la presiune atmosferică se produc în camera de

descărcare, în amestecul de He/O₂, prin aplicarea între electrozi a unor impulsuri de tensiune de forma din Fig. 7. Pentru buna funcționare a dispozitivului este esențial ca în camera de descărcare să se formeze trei descărcări independente, observabile clar în Fig. 6. Plasmele celor trei descărcări sunt împinse de fluxul de heliu spre ajutorul de ieșire, unde se unesc sub forma unui unic jet de plasmă.

Varianta finală a dispozitivului (Fig. 8) este realizată din Teflon, pentru creșterea fiabilității la lucrul cu tensiuni înalte. În acest caz, marginea inferioară a electrodului de masă se află la o distanță de 1 cm de capătul cilindrului de Teflon.



Fig. 8. Varianta finală a dispozitivului cu trei electrozi de înaltă tensiune, alimentați în paralel.

Înainte utilizării acestui dispozitiv pentru tratarea celulelor, au fost efectuate teste preliminare, pentru a determina condițiile experimentale optime care maximizează eficiența tratamentului. Ca și în cazul dispozitivelor anterioare, jetul de plasmă este incident pe un strat de apă, care simulează mediul pentru culturi celulare. Vasul cu apă este dielectric și este așezat pe o placă de cupru, legată electric la masă.

Debitele gazelor utilizate au fost măsurate cu: 1) Debitmetru Cole Parmer cu gama de 0 – 5 l/min pentru heliu; 2) Debitmetru Aalborg GFC-17 cu gama de 0-50 ml/min pentru oxigen.

Spectrele de emisie ale jeturilor de plasmă au fost obținute cu un spectrometru Ocean Optics HR4000. Rezoluția sa optică este de 0,75 nm. Spectrele sunt vizualizate pe ecranul unui calculator, echipat cu programul SpectraSuite. Spectrometrul permite reglarea timpului de integrare, astfel încât sunt eliminate problemele de saturație.

Pentru a întări credibilitatea rezultatelor, spectrele de emisie au fost observate pe două direcții:

1) Axa de observație perpendiculară pe jetul de plasmă (vedere laterală – side view). Zona observată a fost la o distanță de 2 mm de orificiul de ieșire al jetului de plasmă.

2) Axa de observație coliniară cu jetul de plasmă (vedere axială – axial view). În acest caz (Fig. 9), jetul de plasmă lovește o placă de sticlă pe partea acoperită cu un strat subțire (200 nm) de oxid indiu-staniu (ITO). Acest strat este transparent optic și are o bună conductivitate electrică. Un fir metallic realizează contactul electric între acest strat subțire și stratul de apă din vasul dielectric. Lentilele și fibra optică de legătură cu spectrometrul HR4000 “privesc” de pe cealaltă parte a plăcii de sticlă, de-a lungul axului jetului de plasmă.

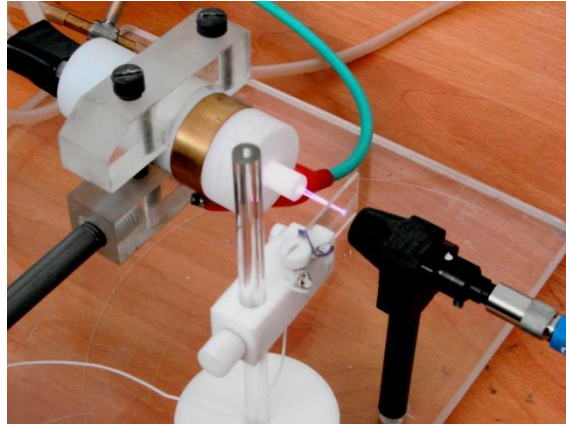


Fig. 9. Montajul pentru observarea axială a spectrelor de emisie ale jeturilor de plasmă.

În experimentele inițiale am monitorizat evoluția liniei spectrale O I 777 nm, în funcție de tensiunea aplicată între electrozii dispozitivului. Această linie spectrală corespunde tranziției $3^5P - 3^5S^0$ a oxigenului atomic, în conformitate cu baza de date a National Institute of Standards and Technology din SUA. Fig. 10 prezintă dependența liniei spectrale O I 777 nm de amplitudinea impulsurilor de înaltă tensiune dintre electrozi, pentru două valori ale concentrației de oxigen în heliu: 1 % și 1,5 %. Celelalte condiții experimentale sunt: Debit heliu: 2,5 l/min; Frecvența pulsurilor: 100 pps; Timp de integrare spectrometru; 600 ms; Vedere laterală. Se constată că la concentrația de 1,5 % oxigen în heliu se obțin intensități mult mai mari ale liniei spectrale O I 777 nm.

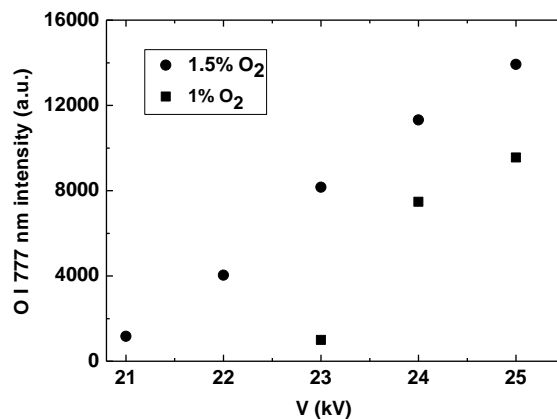


Fig. 10. Dependenta intensității liniei spectrale O I 777 nm de amplitudinea tensiunii dintre electrozi. Debit heliu: 2,5 l/min; Frecvența pulsurilor: 100 pps; Timp de integrare spectrometru: 600 ms; Vedere laterală.

Fig. 11 prezintă spectrele de emisie ale jeturilor de plasmă pentru diverse concentrații de oxigen în heliu, în cazul observației laterale. Debitul de heliu este de 2,5 l/min. Impulsurile de tensiune dintre electrozi au forma din Fig. 7 și se repetă cu o frecvență de 100 pps.

Toate spectrele din Fig. 11 indică prezența în jetul de plasmă a heliului și a oxigenului atomic. De asemenea sunt prezente linii spectrale ale moleculelor excitate de azot, gaz din aerul traversat de jetul de plasmă. Liniile He (587 și 706 nm) și N₂ (337 – 406 nm) au amplitudini maxime atunci când nu se introduce oxigen în fluxul de heliu (Fig. 12). Adăugarea de oxigen (Fig. 11) produce scăderi puternice ale liniilor He și N₂, în timp ce emisiile oxigenului atomic (în special linia O I 777 nm) păstrează valori foarte mari. Aceasta înseamnă că o cantitate majoritară de electroni din plasmă contribuie la formarea oxigenului atomic. Doar o mică parte dintre electroni ciocnesc și excită atomii de heliu și moleculele de azot.

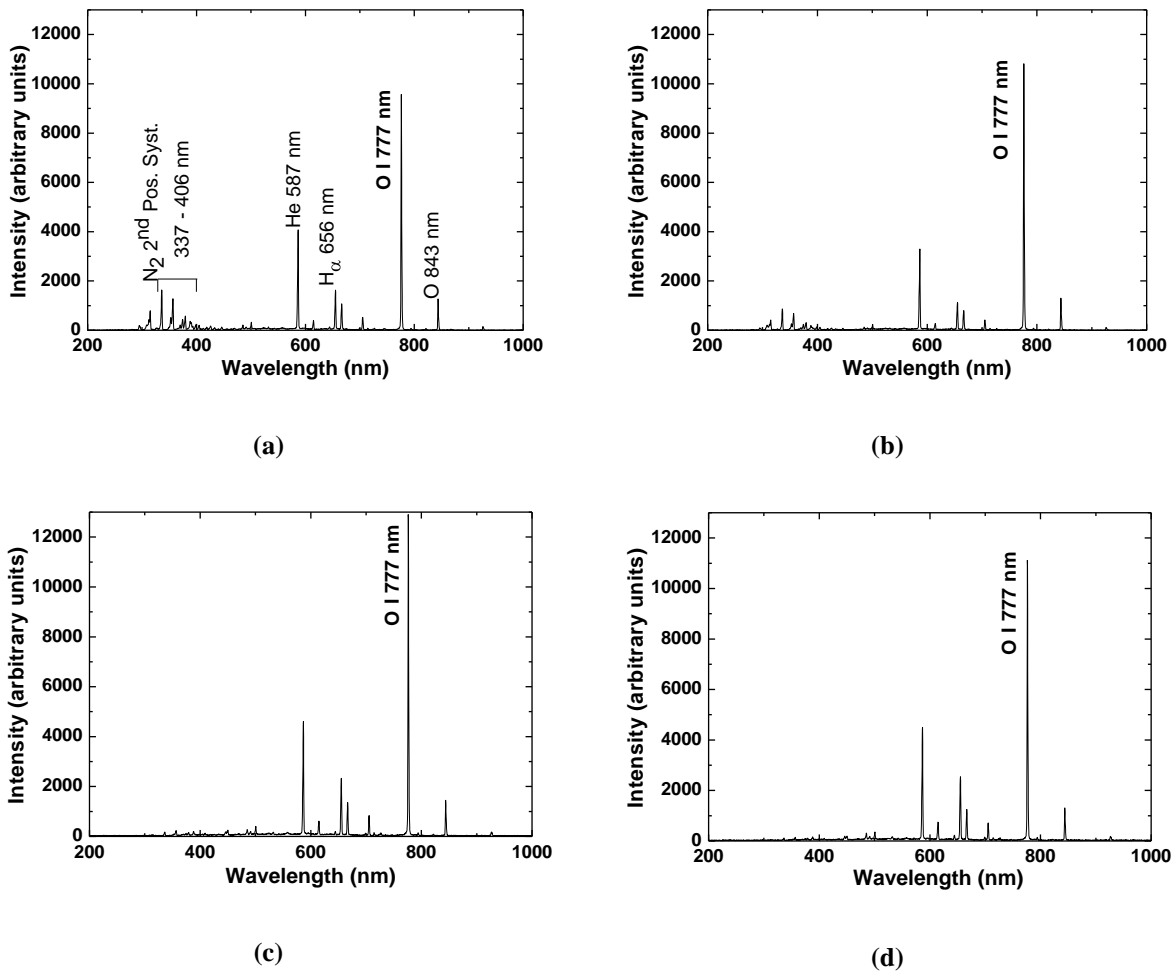


Fig. 11. Spectrele de emisie ale jeturilor de plasmă pentru diverse concentrații de oxigen în heliu: (a) 0,5 %, (b) 1 %, (c) 1,5 %, (d) 2 %. Vedere laterală.
Debit He: 2,5 l/min; Tensiune maximă: 25 kV; Frecvență: 100 pps; Timp de integrare spectrometru: 600 ms.

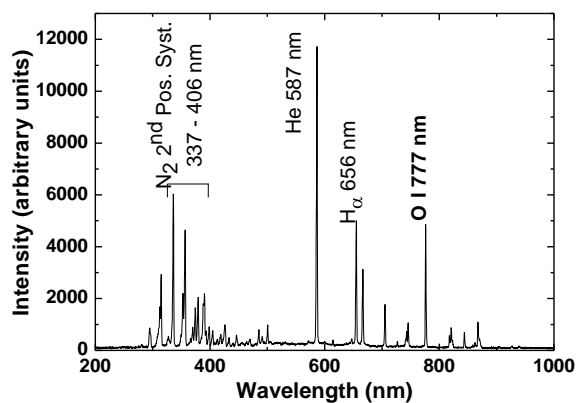


Fig. 12. Spectrul de emisie al jeturilor de plasmă produse prin descărcări în heliu (concentrație de O_2 zero).
Vedere laterală.
Debit He: 2,5 l/min; Tensiune maximă: 25 kV; Frecvență: 100 pps; Timp de integrare spectrometru: 600 ms.

În Fig. 11 se observă că intensitatea liniei O I 777 nm are o creștere continuă până la o concentrație de 1,5 % O₂ în He. Aceasta reflectă creșterea cantității de oxigen atomic, deci creșterea activității chimice a plasmei. La concentrații mai mari de 1,5 % O₂ în He, scăderea curentului jetului de plasmă (similar cu Fig. 2 și Fig. 5) devine suficient de importantă pentru a conduce și la scăderea liniei O I 777 nm, deci la scăderea activității chimice a plasmei.

Același tip de evoluție a intensității liniei O I 777 nm a fost constatat în cazul observației axiale a jetului de plasmă (Fig. 13). Este de remarcat intensitatea mult mai puternică a liniilor spectrale în comparație cu observația laterală: în Fig. 13, timpul de integrare al spectrometrului este de numai 100 ms, în timp ce la observația laterală (Fig. 11, 12), acest timp este de 600 ms. Explicația constă în aceea că la observația axială, spotul luminos (Fig. 9) “văzut” de spectrometru are o arie mai mare decât în cazul observației laterale.

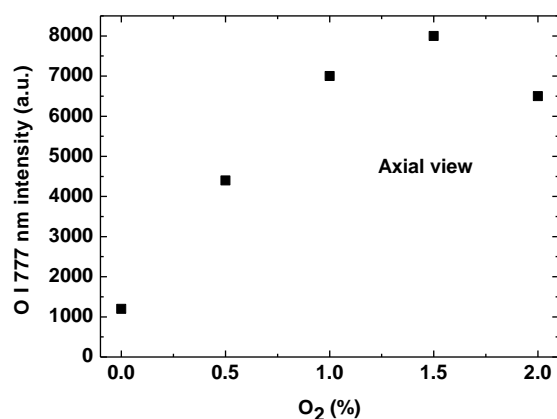


Fig. 13. Dependența intensității liniei spectrale O I 777 nm de concentrația de oxigen în heliu. Observație axială.

Debit heliu: 2,5 l/min; Tensiune maximă: 25 kV; Frecvența pulsurilor: 100 pps;
Timp de integrare spectrometru: 100 ms.

Din rezultatele experimentale prezentate rezultă că activitatea chimică a jeturilor de plasmă obținute cu dispozitivul cu trei electrozi de înaltă tensiune este maximă atunci când în fluxul de heliu se introduce o concentrație de 1,5 % oxigen. Această valoare este de trei ori mai mare decât în cazul cercetărilor anterioare, atât experimentale [30, 32, 33] cât și teoretice [34]. Drept consecință, cantitatea de oxigen atomic din plasmă este mult mai mare, iar jetul de plasmă este mult mai activ chimic. Explicația este aceea că în camera de descărcare a noului dispozitiv sunt trei electrozi de înaltă tensiune, iar dispunerea lor spațială permite formarea a trei descărcări independente. În fiecare din cele trei descărcări, procentul de oxigen în heliu care maximizează activitatea chimică este de 0,5 %. În noul dispozitiv, plasmăle celor trei descărcări se unesc într-un singur jet, cu activitate chimică mult mai mare decât a fiecărei descărcări în parte.

Din considerentele prezentate, în acest an, experimentele pe culturi celulare au fost efectuate cu noul dispozitiv cu trei electrozi de înaltă tensiune.

Au fost utilizate fibroblaste normale izolate din plămânul de hamster - linia celulară V79-4 (ECACC no. 93010723) și linia de celule tumorale HeLa (cancer de cervix uterin).

Celulele au fost cultivate la o densitate de 1×10^6 /ml în mediu DMEM-F12 suplimentat cu 1mM L-glutamină, antibiotic și 10% ser fetal de vițel. Când celulele au ajuns la confluență, au fost expuse acțiunii jetului de plasmă (Fig. 14) pentru diferite intervale de timp (30, 60, 90, 120 și 150 s), utilizând diferite combinații de heliu și oxigen (He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min; He:2.5l/min + O₂:25ml/min; He:2.5l/min + O₂:37.5ml/min).

Jetul de plasmă produce Speciilor Oxidante Reactive (ROS) care difuzează în mediul de cultură. Concentrația lor scade proporțional cu creșterea distanței față de interfața lichid – aer [35]. De aceea, într-un prim model experimental, mediul de cultură a fost înlăturat înainte de tratament și o nouă cantitate a fost adăugată imediat după ce jetul de plasmă a acționat asupra celulelor. Pentru a minimiza efectele pe care micromediul înconjurător le poate avea asupra mediului de cultură și prin acesta asupra celulelor, toate godeurile cu excepția celui aflat în timpul tratamentului, au fost acoperite (Fig. 14).

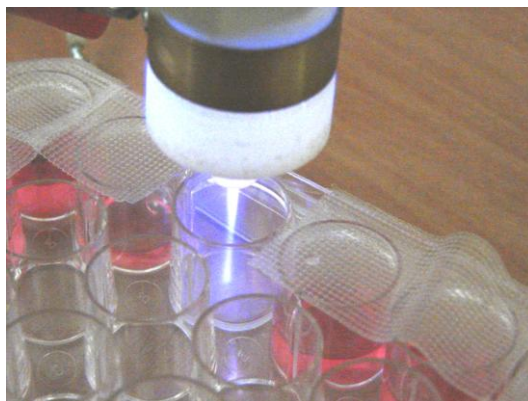


Fig. 14. Tratamentul celulelor cu jetul de plasmă la presiune atmosferică

Existența unei pelicule de lichid permite difuzia ROS generate în plasmă atât pe verticală cât și pe orizontală, asigurând un tratament relativ omogen al tuturor celulelor din godeu. De aceea, al doilea model experimental a presupus păstrarea a 100μl mediu de cultură în godeu în timpul tratamentului cu plasmă.

La scurt timp după tratamentul cu plasmă, plăcile de cultură au fost analizate utilizând un microscop optic Krüss (obiectiv 10X). Celulele au fost fotografiate cu o cameră foto digitală Canon PowerShot A510. Analiza microscopică a evidențiat detașarea celulelor de substrat (Fig. 15a), în acord cu date din literatura recentă [35]. În cazul probei control celulele formau un monostrat (Fig 15c).

După înlăturarea mediului, au fost fotografiate godeurile în ideea evidențierii unor posibile modificări ale distribuției celulare. Într-adevăr, s-a putut observa o arie întinsă neacoperită de celule în centrul godeului, zonă expusă acțiunii jetului de plasmă (Fig. 15d). În proba control distribuția celulară s-a păstrat omogenă (Fig 15b).

Viabilitatea celulară a fost determinată prin testul cu MTT. Celulele V79-4 și HeLa (1×10^5 celule/50 μl DMEM-F12 suplimentat cu 1mM L-glutamină, 10% ser fetal de vițel și antibiotic) au fost incubate cu MTT (100μl) pentru 4 ore la 37°C, 5% CO₂ și 90% umiditate relativă. Apoi au fost adăugați în fiecare godeu 100μl DMSO pentru a solubiliza cristalele de formazan. Densitatea optică a formazanului (produs numai în prezența celulelor vii) a fost citită la 540 nm, utilizând un spectrofotometru Thermo Multiskan.

Ținând cont de faptul că celulele care proliferază sunt din punct de vedere metabolic mult mai active decât cele care nu proliferază, tehnica MTT permite determinarea nu numai a viabilității celulare și toxicității mediate de anumiți factori, ci și determinarea activării celulare sau proliferării. Cu toate acestea, răspunsul la MTT poate varia semnificativ în funcție de statusul metabolic al celulelor. De aceea rezultatele experimentale sunt exprimate procentual față de control (celule netratate). Fiecare probă a fost analizată în triplicat.

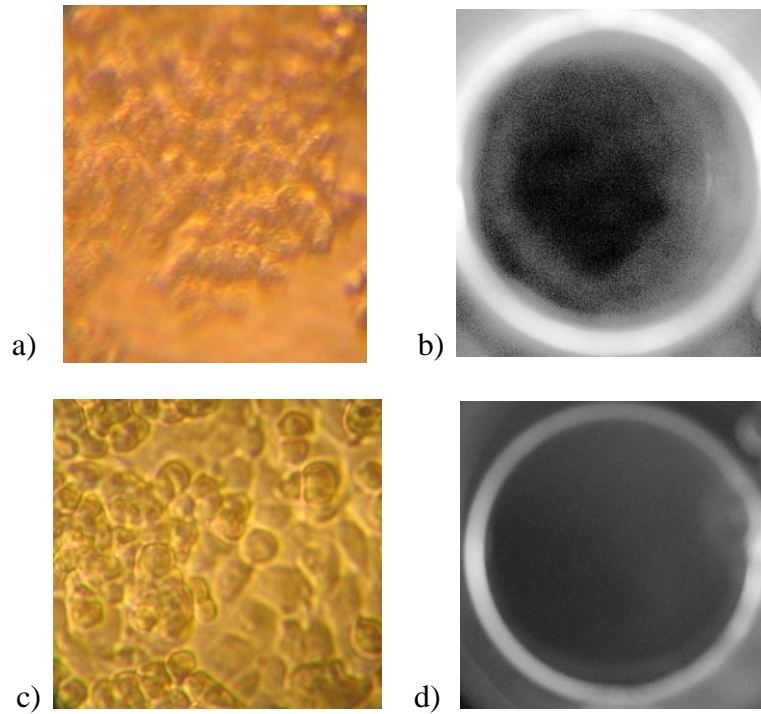


Fig.15. *Tratamentul cu jetul de plasmă la presiune atmosferică (He: 2.5l/min + O₂: 25ml/min, 90s) este urmat de desprinderea celulelor V79-4 de substrat (a, b), în timp ce în probele control (netratate) celulele rămân aderate (c, d).*

În ceea ce privește efectul jetului de plasmă asupra viabilității celulelor V79-4, în primul model experimental s-a observat că procentul de celule vii a scăzut proporțional cu creșterea duratei tratamentului numai în cazul He:2.5l/min + O₂: 25ml/min (Fig. 16b). Acest fenomen nu a fost observat în celelalte două cazuri (He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min și He:2.5l/min + O₂:37.5ml/min) (Fig. 16a,c). În plus, combinația He:2.5l/min + O₂: 37.5ml/min a scăzut semnificativ viabilitatea celulară, fără însă a se putea identifica un efect dependent de timpul de tratament.

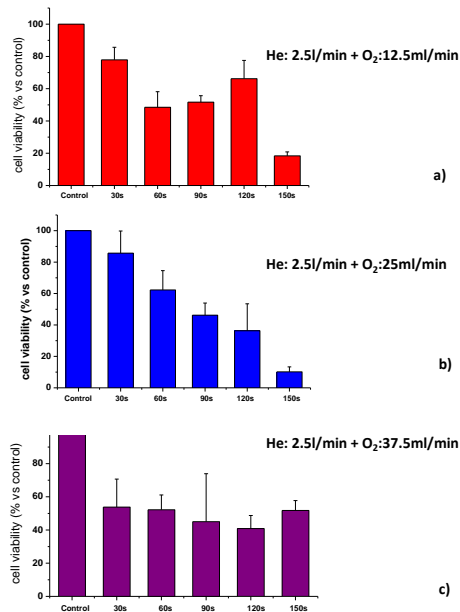


Fig. 16. *Efectul jetului de plasmă la presiune atmosferică asupra viabilității celulelor V79-4 – model experimental 1.*

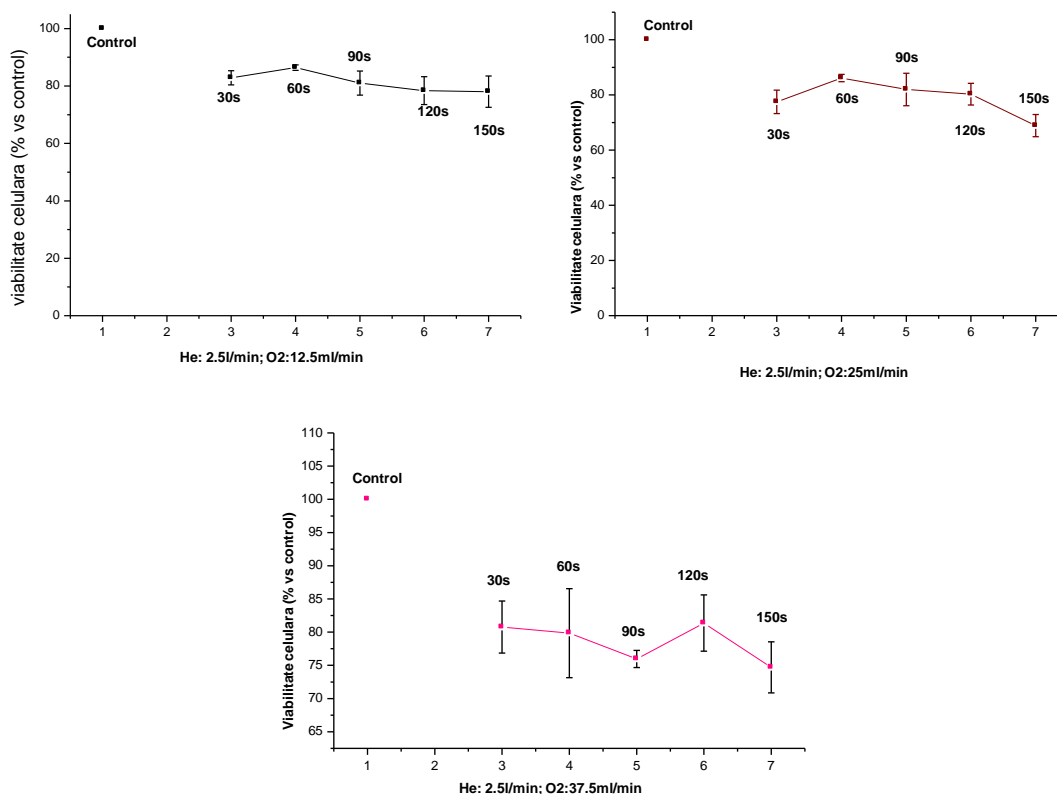


Fig. 17. Efectul jetului de plasmă la presiune atmosferică asupra viabilității celulelor V79-4 – model experimental 2.

În ansamblu, se observă că în modelul experimental 1 are loc o scădere semnificativă a viabilității celulare, în primele 2 ore după tratament. Această modificare se datorează morții celulare prin necroză.

În cazul modelului experimental 2 se observă că utilizarea combinațiilor He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min și He:2.5l/min + O₂:25ml/min nu este urmată de o scădere semnificativă a viabilității în primele 2 ore după tratament (Fig. 17). În cazul He:2.5l/min + O₂: 37.5 ml/min viabilitatea celulelor V79-4 scade semnificativ chiar după 30 s de tratament.

O modificare nesemnificativă a viabilității în primele două ore după tratament indică faptul că jetul de plasmă a produs necroza într-un procent mic, moartea celulară detectată ulterior fiind datorată apoptozei, proces care, fiind indus, este caracterizat printr-o perioadă de latență necesară modificărilor celulare specifice. Acesta este motivul pentru care în cazul celulelor tumorale HeLa am luat în considerare doar rezultatele obținute prin al doilea model experimental.

Viabilitatea celulelor tumorale HeLa tratate cu plasmă (Fig. 18) scade semnificativ în cazul unui tratament de 120s și 150s cu un jet conținând He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min. Pentru celelalte două amestecuri gazoase viabilitatea celulelor HeLa rămâne relativ neschimbată.

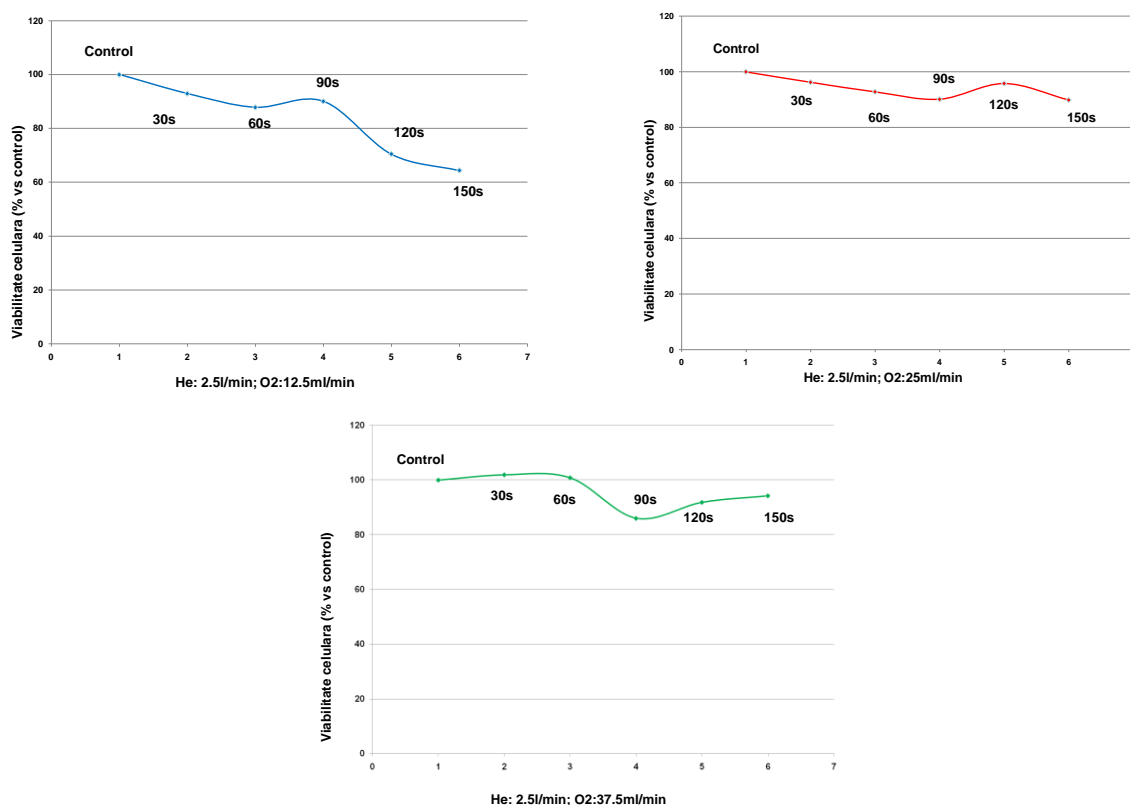


Fig. 18. Efectul jetului de plasmă la presiune atmosferică asupra viabilității celulelor HeLa – model experimental 2.

Pentru identificarea tipului de moarte celulară indus prin tratamentul cu jetul de plasmă, celulele aderente au fost detașate cu tripsină și spălate de două ori prin centrifugare (2 min, 2000 rpm). Determinarea apoptozei s-a făcut utilizând ApoGlow Assay Kit (Lonza). Principiul metodei constă în faptul că moartea celulară este un proces guvernat de modificări energetice. Apoptoza este însoțită de degradarea ATP și creșterea nivelului intracelular de ADP. Luând în considerare un indicator bazat pe raportul ADP/ATP, kitul ApoGlow permite identificarea apoptozei, necrozei și proliferării celulare. Apoptoza este caracterizată printr-o creștere moderată a raportului ADP/ATP față de control, în timp ce necroza poate fi recunoscută printr-o creștere semnificativă a acestui raport față de control. Fiecare probă a fost analizată în triplicat.

În anumite condiții, celulele detașate sub acțiunea jetului de plasmă își păstrează caracteristicile și redevin aderente și reintră în ciclul celular normal dacă sunt transferate pe o placă de cultură [35]. Din acest motiv, în experimentele noastre am utilizat atât celulele desprinse de substrat sub acțiunea plasmei, cât și cele rămase aderente în timpul tratamentului și desprinse după aceea cu tripsină.

Utilizând primul model experimental pentru celulele V79-4, în cazurile He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min și He:2.5l/min + O₂:25ml/min s-a constatat o creștere a raportului ADP/ATP dependent de timpul de tratament (Fig. 19). Pentru prima mixtură gazoasă am obținut o creștere semnificativă a raportului ADP/ATP după 60s de tratament; în al doilea caz, acțiunea jetului de plasmă timp de 30s și 60s a indus apoptoza (evidențiată printr-o creștere moderată a raportului ADP/ATP), pe când un tratament mai îndelungat (90, 120 și 150s) a produs necroza (creștere semnificativă a raportului ADP/ATP).

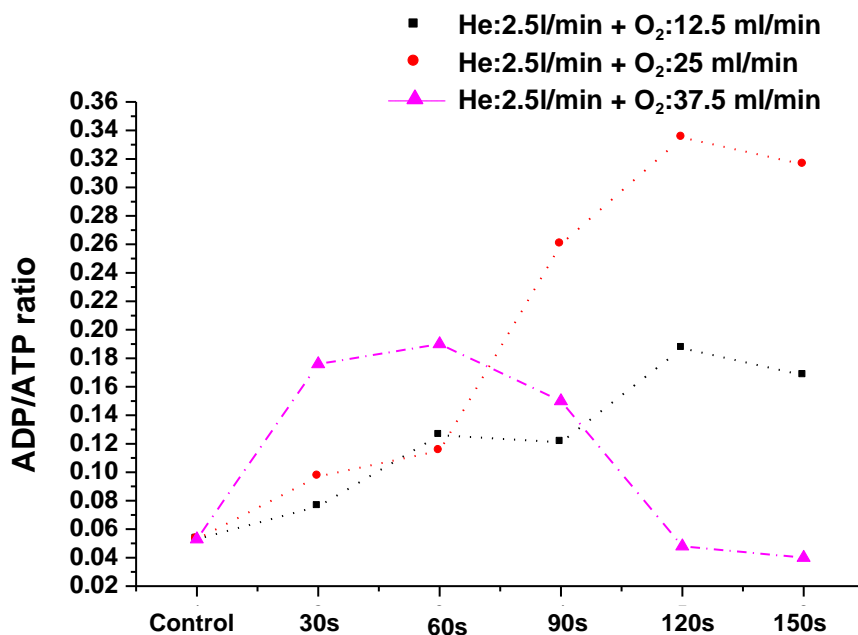


Fig. 19. Tratamentul cu jetul de plasmă la presiune atmosferică induce moartea celulelor V79-4 – model experimental 1. CV ≤25%.

În cel de-al treilea caz din Fig. 19 (He:2.5l/min + O₂:37.5ml/min), am observat o creștere semnificativă a ADP/ATP față de control pentru 30, 60 și 90s și o scădere moderată pentru 120 și 150s. Rezultatele obținute pentru 120 și 150s pot reflecta distrugerea totală a majorității celulelor din probă după tratamentul cu plasmă.

Ținând cont că densitatea ROS în micromediul celular depinde de procentul O₂ în amestecul gazos și de timpul de tratament, putem presupune că moartea celulară se datorează acțiunii ROS produse în jetul de plasmă.

Rezultatele obținute prin tratarea celulelor V79-4 respectând cel de-al doilea protocol experimental (Fig. 20) urmăresc relativ același profil ca în cazul modelului experimental 1. Pentru combinațiile He:2.5l/min + O₂:25ml/min și He:2.5l/min + O₂:37.5ml/min, viabilitatea celulară scade semnificativ, valorile crescute ale raportului ADP/ATP față de control fiind datorate necrozei. În primul caz (He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min), viabilitatea celulară nu variază semnificativ, ceea ce justifică ideea inducerii apoptozei într-un număr mare de celule.

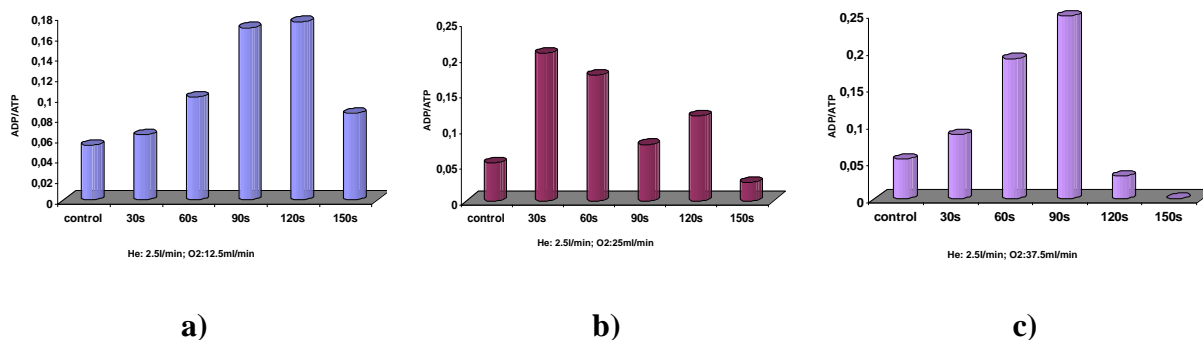


Fig. 20. Tratamentul cu jetul de plasmă la presiune atmosferică induce moartea celulelor V79-4 – model experimental 2. CV ≤25%.

În ceea ce privește celulele tumorale HeLa, în cazul He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min (Fig. 21a) se obține un efect maxim după 30s de tratament. După 60s, raportul ADP/ATP nu se modifică semnificativ față de martor, crescând însă semnificativ după 90, 120 și 150s. Ținând cont că viabilitatea celulară nu variază semnificativ, un raport ADP/ATP crescut față de control reflectă inducerea apoptozei într-un număr mai mare de celule – putem vorbi de o moarte celulară “blândă” dar extinsă, nu de necroză, moarte violentă care ar afecta un număr mai mic de celule dar care ar duce la eliberarea aceleiași cantități de ADP ca în primul caz.

Pentru amestecul He:2.5l/min + O₂:25ml/min (Fig. 21b) se observă o creștere a raportului ADP/ATP față de control dependentă de timpul de tratament pentru 30, 60 și 90s, valorile scăzând apoi la 120 și 150s.

În cazul He:2.5l/min + O₂:37.5ml/min (Fig. 21c) se observă valori maxime ale raportului ADP/ATP față de control pentru 30 și 90s, o variație nesemnificativă pentru 60s, o creștere moderată pentru 120s și o scădere accentuată pentru 150s.

Și rezultatele obținute pentru ultimele două amestecuri sunt asociate cu lipsa unor variații semnificative ale viabilității celulare, fiind vorba și în acest caz de inducerea apoptozei.

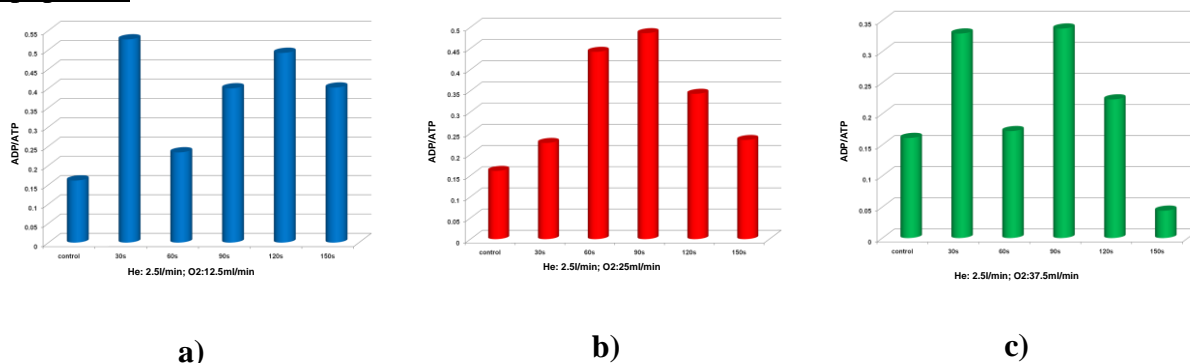


Fig. 21. *Tratamentul cu jetul de plasmă la presiune atmosferică induce moartea celulelor HeLa – model experimental 2. CV ≤25%.*

Utilizarea în clinică a jetului de plasmă la presiune atmosferică pentru tratamentul tumorilor cutanate necesită capacitatea unui control fin al parametrilor dispozitivului, pentru a permite un tratament mai agresiv (producerea necrozei) în masa tumorală și un tratament mult mai puțin invaziv la periferia tumorii, în scopul evitării distrugerii celulelor sănătoase adiacente. Din acest punct de vedere prezintă un interes deosebit combinațiile He:2.5l/min + O₂:12.5ml/min și He:2.5l/min + O₂:25ml/min.

Asemenea tratamente sunt însă dificil de realizat în condiții corespunzătoare datorită lipsei unei delimitări clare între țesutul tumoral și cel normal. O variantă mai sigură este utilizarea unui jet de plasmă având acei parametri care permit obținerea unui procent maxim de apoptoză și a unui procent minim de necroză. Studiile noastre au evidențiat un asemenea efect pentru combinația He:2.5l/min + O₂:37.5ml/min, când se obține apoptoza pentru celulele normale dar, foarte important, și pentru cele tumorale. Este esențială existența pe suprafața ce urmează a fi tratată a unei pelicule de lichid care să permită difuzia speciilor reactive și acțiunea relativ omogenă asupra întregii zone de interes. De asemenea, de o importanță majoră este determinarea acelor parametri, caracteristici fiecărui tip celular în parte, pentru care se obține un procent maxim de apoptoză, ținând cont de tipurile celulare implicate în afecțiunea respectivă și de faptul că distrugerea moderată a celulelor normale din zona tumorală este un “rău asumat” în balanța beneficiu/risc caracteristică afecțiunilor canceroase.

Datele sunt prezentate ca media +/- s.e.m. pentru 3 probe identice în fiecare experiment. Coeficientul de variație pentru fiecare probă nu a depășit 25% în nici unul din cele două teste (MTT și determinarea apoptozei).

Obiectivul 2. Concluzii privind posibilele aplicații ale dispozitivului generator de jeturi de plasmă pulsată rece la presiune atmosferică.

În cadrul acestui obiectiv au fost desfășurate două tipuri de activități:

2.1. Sinteza performanțelor obținute în perioada 2007 – 2010.

Cele mai importante performanțe obținute în cadrul proiectului :

2.1.1. Construirea a trei generatoare de impulsuri de înaltă tensiune pentru alimentarea dispozitivelor generatoare de jeturi de plasmă rece la presiune atmosferică : 1) Generator de impulsuri de înaltă tensiune cu tiratron ; 2) Generator de impulsuri de înaltă tensiune cu comutator cu scânteii (spark-gap) ; 3) Generator de impulsuri de înaltă tensiune transportabil, care asigură posibilitatea efectuării de experimente la sediul colaboratorilor sau beneficiarilor. Aceste generatoare furnizează impulsuri de zeci de kV amplitudine, sute de ns durată, cu frecvențe de repetiție de zeci-sute de pps.

2.1.2. Construirea unei game largi de dispozitive generatoare de jeturi de plasmă rece la presiune atmosferică, cu diverse structuri geometrice : vârf-plan, fir-plan, vârfuri-plan. Pentru aplicații bio-medicale au fost reținute structura de tip “siringă”, structura de tip “creion”, structura cu trei electrozi de înaltă tensiune. Pentru aplicații în tratarea alimentelor termo-sensibile și în tratarea suprafețelor, pe lângă aceste trei structuri a fost reținută și structura fir-plan.

2.1.3. A fost realizată activizarea chimică a jeturilor de plasmă, prin introducerea în heliu/argon a unui mic flux de oxigen. Sub acțiunea electronilor din plasmă, oxigenul molecular se disociază în oxigen atomic, care constituie punctul de plecare într-o multitudine de reacții chimice favorabile efectului urmărit.

2.1.4. Au fost determinate caracteristicile electrice ale dispozitivelor realizate : dependențele $v(t)$ - $i(t)$, sarcina electrică transferată pe puls, energia disipată pe puls. Aceste caracteristici au fost determinate pentru diverse concentrații de oxigen în heliu/argon, pentru diverse amplitudini ale impulsurilor de înaltă tensiune, pentru diverse gaze de lucru, pentru diverse debite de gaz. Energiile disipate pe puls sunt de ordinul zecilor de mJ. La o frecvență de repetiție de 100 pps, rezultă o putere medie disipată de câțiva W.

2.1.5. A fost demonstrată calitatea de “plasmă rece” : în orice condiții experimentale, temperatura macroscopică a plasmei nu depășește 35⁰ C.

2.1.6. Au fost determinate caracteristicile spectrale ale jeturilor de plasmă în condiții experimentale foarte diverse. A fost evidențiată prezența în jetul de plasmă a oxigenului atomic, a carui cantitate măsoară activitatea chimică a plasmei.

2.1.7. Utilizând caracteristicile spectrale au fost determinate condițiile în care activitatea chimică a jetului de plasmă este maximă. Pentru dispozitivele cu un singur electrod de înaltă tensiune, la impuls de tensiune constant, activitatea chimică este maximă la concentrații ale oxigenului în heliu sau argon de 0,5 %, respectiv 1 %.

2.1.8. A fost realizată varianta finală a dispozitivului de generare a jeturilor de plasmă care are trei electrozi de înaltă tensiune alimentați în paralel. Maximul activității chimice a plasmei se atinge la o concentrație de 1,5 % oxigen în heliu. Activitatea chimică a plasmei este în consecință mult mai mare decât în cazul dispozitivelor cu un singur electrod de înaltă tensiune. Acest tip de generator a fost utilizat în experimentele finale de tratare a culturilor celulare.

2.1.9. A fost testată acțiunea jeturilor de plasmă la presiune atmosferică asupra mai multor linii celulare normale (RAW264.7) și tumorale (MDR – multidrug resistant, PAR, B16), identificându-se o serie de parametri de lucru pentru care s-a obținut apoptoza în celulele tumorale dar nu și în cele normale.

2.1.10. A fost studiat efectul asocierii acțiunii jetului de plasmă cu un inhibitor de pompe de eflux de tip MDR asupra celulelor tumorale rezistente la agenți chimioterapeutici.

S-a observat o eficacitate crescută a tratamentului combinat comparativ cu utilizarea doar a jetului de plasmă.

2.1.11. A fost propus un model animal (pe șoareci) pentru studiul unui tratament combinat: chimioterapie + inhibitor de pompe de tip MDR + jet de plasmă la presiune atmosferică. Acest model experimental ar putea constitui prima etapă a testărilor preclinice privind efectul jetului de plasmă la presiune atmosferică asupra tumorilor cutanate.

2.1.12. Noi testări pe linii celulare normale (V79-4) și tumorale (HeLa) au permis identificarea unor parametri de lucru care permit obținerea unui procent maxim de apoptoză și a unui procent minim de necroză.

2.2. *Stabilirea posibilității adaptării performanțelor obținute la diverse domenii de aplicații.*

În perioada 2007 – 2010, pe lângă aplicațiile din domeniul biomedical, jeturile de plasmă obținute în urma lucrărilor la acest proiect, au fost testate în experimente de tratare a alimentelor termosensibile și în experimente de tratare a suprafețelor polimerice.

2.2.1. Au fost realizate experimente de distrugere a unor microorganisme caracteristice contaminării alimentelor termosensibile.

Culturile de microorganisme au fost pregătite în vase Petri cu diametrul de 86 mm și grosimea pereților de 2 mm. Tratamentul cu jeturi de plasmă pulsată la presiune atmosferică (Fig. 22) a fost efectuat cu dispozitivul din Fig. 4, în următoarele condiții experimentale:



Fig. 22. Distrugere de microorganisme cu jet de plasmă pulsată la presiune atmosferică.

1. Electrocul de înaltă tensiune a fost alimentat cu impulsuri de 14 – 18 kV amplitudine, 100 ns durată la semi-înălțime și 100 de impulsuri pe secundă frecvență de repetiție. În ultimele experimente a fost utilizat și un generator de înaltă frecvență (44 kHz), cu amplitudinea tensiunii reglabilă până la maxim 5 kV.

2. Debitul gazului inert majoritar (heliu sau argon): 2,5 – 5 l/min;

3. Debitul de oxigen: 12,5 – 50 ml/min;

4. Distanța de la ieșirea jetului până la proba tratată: 5 – 20 mm;

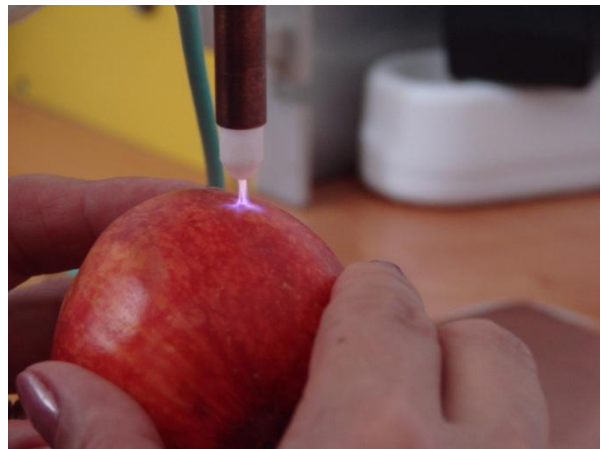
5. Durata tratamentului: 30 s – 3 min.

Aceiași parametri experimentali au fost folosiți pentru studiul acțiunii jeturilor de plasmă asupra unor alimente termosensibile: roșii, piersici, nectarine, pere, mere, ouă. În aceste experimente, pe lângă dispozitivul din Fig. 4, a fost folosit un dispozitiv de tip fir-plan, care emite o „cortină” de plasmă, ceea ce crește considerabil randamentul tratamentului. În Fig. 23 sunt prezentate câteva experimente cu dispozitivul din Fig. 4, iar Fig. 24 prezintă experimente cu „cortina” de plasmă.

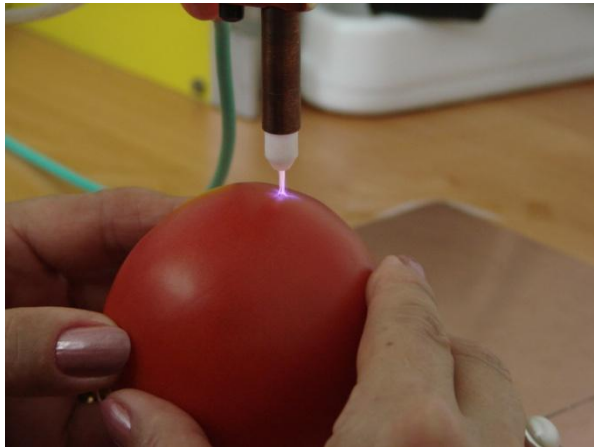
Experimentele au demonstrat capacitatea jeturilor de plasmă de a distuge micro-organismele, în condițiile în care au fost păstrate proprietățile organoleptice ale alimentelor tratate.



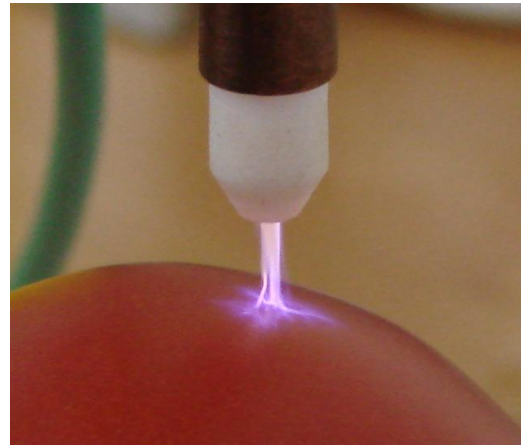
a)



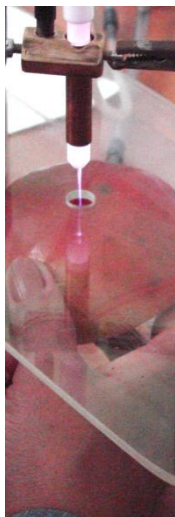
b)



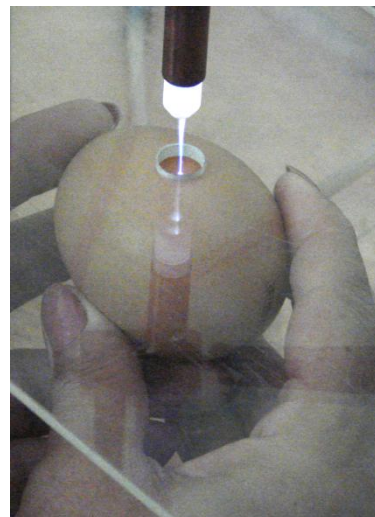
c)



d)



e)



f)

Fig. 23. Utilizarea dispozitivului din Fig. 4 pentru tratarea cu jeturi de plasmă pulsată la presiune atmosferică a unor alimente termosensibile: a) piersici; b) nectarine; c), d) roșii; e) mere; f) ouă.

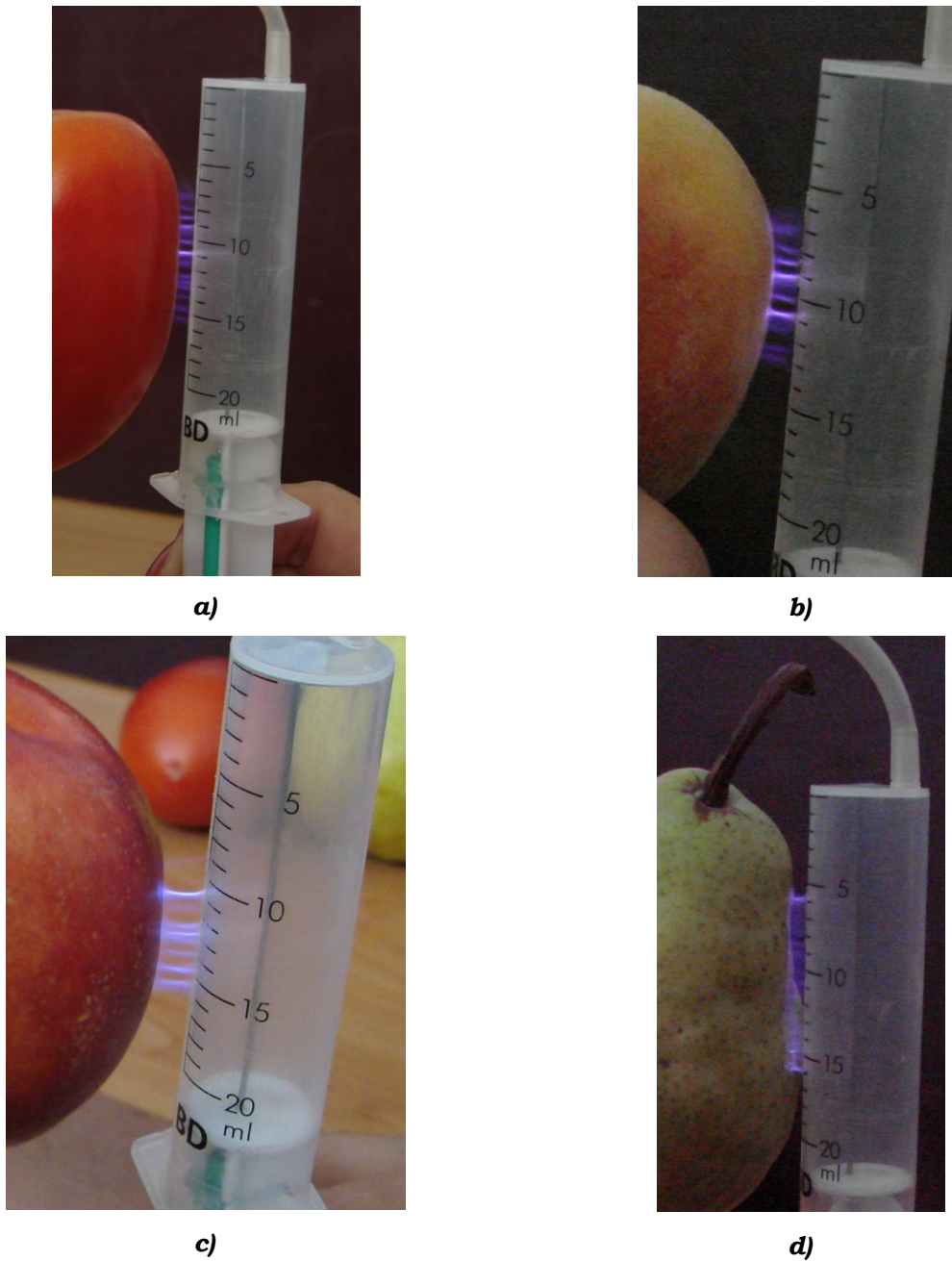


Fig. 24. *Tratarea cu „cortină” de plasmă pulsată la presiune atmosferică a unor alimente termosensibile: a) roșii; b) piersici; c) nectarine; d) pere.*

2.2.2. În legătură cu al doilea domeniu aplicativ menționat, s-a demonstrat experimental posibilitatea modificării proprietăților unor suprafețe polimerice cu ajutorul plasmelor pulsate la presiune atmosferică. Și în acest caz a fost utilizat dispozitivul de tip “creion” din Fig. 4.

S-a urmărit creșterea umectabilității și adezivității suprafețelor.

În vederea efectuării tratamentului cu jeturi de plasmă, au fost pregătite suprafețe pătrate de $3 \times 3 \text{ cm}^2$ din fiecare folie de material polimer. Pe aceste suprafețe au fost trasate linii paralele, la distanța de 1 cm, paralele cu laturile pătratului. În acest fel a fost delimitată o suprafață de 1 cm^2 în centrul pătratului de $3 \times 3 \text{ cm}^2$. Această suprafață a fost tratată cu jeturile de plasmă (Fig. 25).

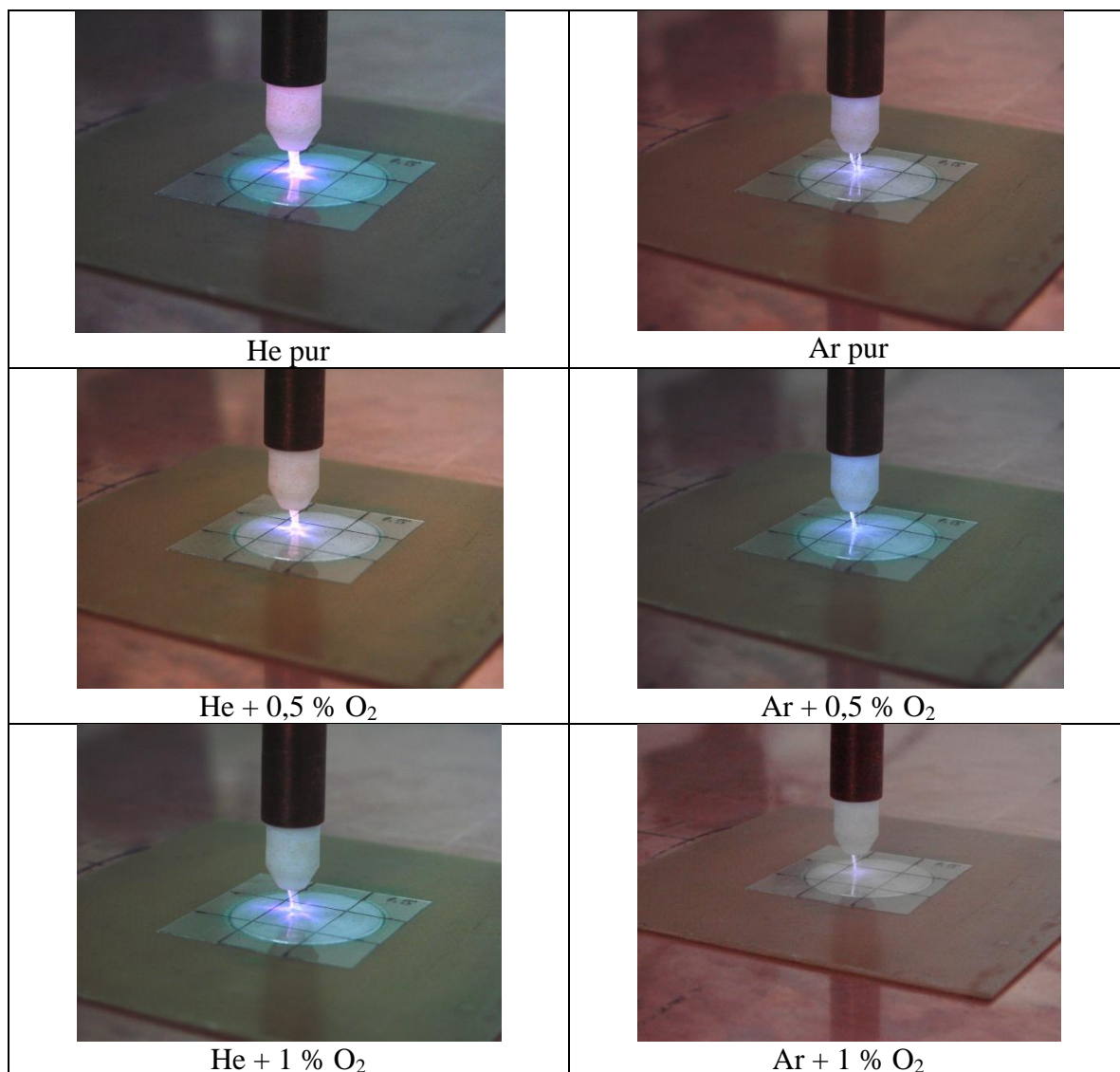


Fig. 25. Jeturi de plasmă cu heliu, respectiv argon, la concentrații de oxigen de 0, 0,5, 1 %.

În urma experimentelor cu diverse amplitudini și frecvențe de repetiție ale impulsurilor de înaltă tensiune, au fost stabilite valorile optime ale acestor mărimi: 15 kV și 100 pps.

Experimentele au produs jeturi de plasmă cu heliu sau argon pur, precum și cu heliu/argon în amestec cu 0,5, respectiv 1 % oxigen.

Creșterea umectabilității și adezivității suprafețelor polimerice s-a demonstrat prin scăderea unghiului de contact lichid-polimer după tratamentul cu jet de plasmă rece pulsată la presiune atmosferică. Ansamblul condițiilor experimentale a fost :

- Jet de plasmă pulsată produs cu dispozitivul din Fig. 4, alimentat cu impulsuri de înaltă tensiune de 15 kV amplitudine, 100 ns durată la semi-înălțime, cu frecvență de repetiție de 100 de impulsuri pe secundă.
- Gaz de lucru heliu sau argon, cu concentrații de oxigen zero, 0,5 %, 1 %.
- Debitul gazului de lucru : 5 l/min.
- Debitul de oxigen : 0, 25 ml/min, 50 ml/min.
- Distanța orificiu de ieșire a jetului de plasmă - suprafața tratată : 5 mm.
- Timpul de tratament : 30 secunde, 1 minut, 2 minute, 3 minute.
- Mărimea suprafeței tratate : 1 cm².
- Suprafața tratată a fost baleiată de jetul de plasmă, astfel încât fiecare unitate de suprafață să beneficieze de același timp de tratament.

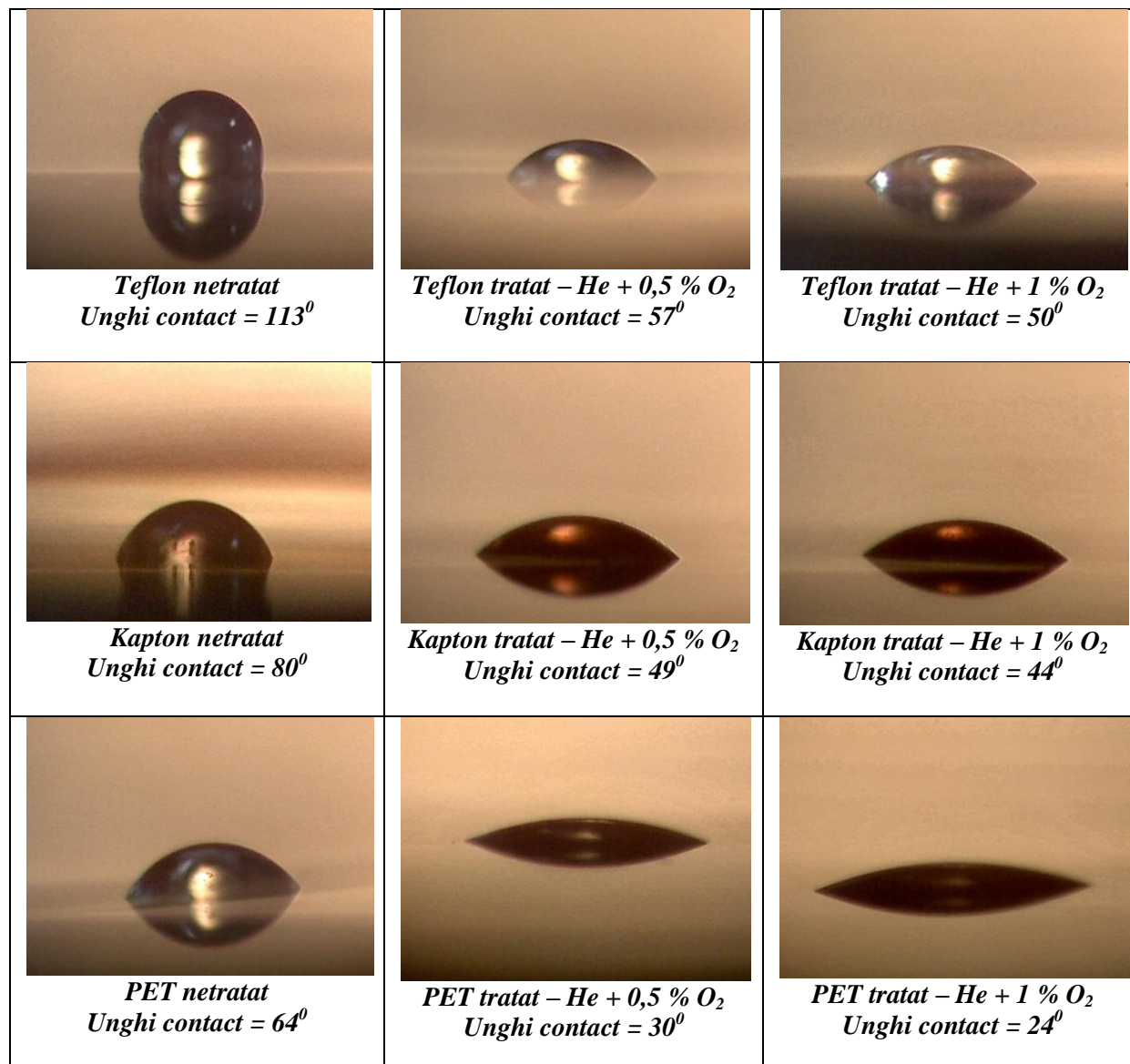


Fig. 26. Fotografiiile picăturilor depuse pe suprafețele polimerice înainte și după tratamentul cu jeturi de plasmă rece pulsată la presiune atmosferică. În fiecare situație este menționată valoarea unghiului de contact. Timpul de tratament = 3 minute.

În primele experimente, timpul de tratament a fost același (3 minute), variabilele fiind concentrațiile de oxigen în heliu, precum și tipul de polimer. În Fig. 26 sunt prezentate fotografiile picăturilor depuse pe suprafețele polimerice neatrate și apoi tratate cu jet de plasmă de heliu, în amestec cu 0,5 sau 1 % oxigen. Sunt de asemenea menționate valorile unghiului de contact.

Se observă scăderea unghiului de contact odată cu creșterea concentrației de oxigen din jetul de plasmă. Acest rezultat este în concordanță cu teoria unanim acceptată conform căreia la modificarea proprietăților suprafețelor polimerice contribuția esențială o are oxigenul atomic din jetul de plasmă. De asemenea, sunt importanți radicalii OH, rezultați din ciocnirea electronilor cu moleculele de apă din aerul traversat de jetul de plasmă. În intervalele dintre impulsurile de înaltă tensiune, atomii de oxigen se combină cu moleculele de oxigen, rezultând ozon (O_3), de asemenea cu rol important în modificarea proprietăților suprafețelor polimerice.

Oxigenul, ozonul și radicalii OH atacă legăturile C-C din lanțul polimeric, formând legături C-O. De asemenea, atomii de oxigen înlocuiesc atomi de hidrogen din structura chimică a polimerului. Aceste modificări au loc într-un strat superficial cu grosime de ordinul nm-ilor. Restul substanței polimerice nu se modifică. Noile grupări cu oxigen sunt responsabile de creșterea energiei de suprafață. De asemenea, crește adezivitatea suprafeței, rugozitatea și reactivitatea sa chimică. Creșterea energiei de suprafață și a rugozității determină scăderea unghiului de contact.

Este de remarcat în Fig. 26, puternica scădere (de peste două ori) a unghiului de contact în cazul teflonului, cel mai higrofofic polimer dintre cei studiați. Cu alte metode de tratament, această scădere este mult mai mică. La Kapton, unghiul de contact scade de două ori, iar la PET, unghiul scade de circa trei ori.

Tratarea suprafețelor polimerice cu plasmă la presiune atmosferică are un mare potențial de aplicabilitate în industria alimentară, în biomedicină, în industria textilă.

BIBLIOGRAFIE

- [1] A. Holländer, and S. Kröpke, "Surface modification with pressure pulse plasmas", *Plasma Process. Polym.*, vol. 6, no. 6–7, pp. 451–459, Jul. 2009.
- [2] A. Vogelsang, A. Ohl, H. Steffen, R. Foest, K. Schröder, and K. D. Weltmann, "Locally resolved analysis of polymer surface functionalization by an atmospheric pressure argon microplasma jet with air entrainment", *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, no. 1, pp. 16–24, Jan. 2010.
- [3] A. Helmke, D. Hoffmeister, N. Mertens, S. Emmert, J. Schuette, and W. Vioel, "The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air", *New Journal of Physics*, vol. 11, no. 11, 115025 (10pp), Nov. 2009.
- [4] E. Gonzalez, M. D. Barankin, P. C. Guschl, and R.F. Hicks, "Ring opening of aromatic polymers by remote atmospheric-pressure plasma", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 6, pp. 823–831, Jun. 2009.
- [5] V. Raballand, J. Benedikt, S. Hoffmann, M. Zimmermann, and A. von Keudell, "Deposition of silicon dioxide films using an atmospheric pressure microplasma jet", *J. Appl. Phys.*, vol. 105, no. 8, 083304, 15 Apr. 2009.
- [6] F. Lewis, S. Turgeon, P. Chevallier, J. J. Pireaux, M. Tatoulian, and D. Mantovani, "On the growth of fluorocarbon thin films deposited on plasma-etched 316L stainless steel", *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, no. 3–4, pp. 309–317, Mar. 2010.
- [7] C. Huang, W. T. Hsu, C. H. Liu, S. Y. Wu, S. H. Yang, T. H. Chen, and T. C. Wei, "Low-temperature atmospheric-pressure-plasma jet for thin-film deposition", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 7, pp. 1127–1128, Jul. 2009.
- [8] D. Mariotti, A. C. Bose, and K. Ostrikov, "Atmospheric-microplasma-assisted nanofabrication: metal and metal-oxide nanostructures and nanoarchitectures", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 6, pp. 1027–1033, Jun. 2009.
- [9] X. Q. Wang, W. Chen, Q. P. Guo, Y. Li, G. H. Lv, X. P. Sun, X. H. Zhang, K. C. Feng, and S. Z. Yang, "Characteristics of NO_x removal combining dielectric barrier discharge plasma with selective catalytic reduction by C₂H₅OH", *J. Appl. Phys.*, vol. 106, no. 1, 013309, 1 Jul. 2009.
- [10] J. E. Foster, B. Weatherford, E. Gillman, and B. Yee, "Underwater operation of a DBD plasma jet", *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 19, no. 2, 025001 (9pp), Apr. 2010.
- [11] S. J. Kim, T. H. Chung, S. H. Bae, and S. H. Leem, "Bacterial inactivation using atmospheric pressure single pin electrode microplasma jet with a ground ring", *Appl. Phys. Lett.*, vol. 94, no. 14, 141502, 6 Apr. 2009.
- [12] X. Zhang, J. Huang, X. Liu, L. Peng, L. Guo, G. Lv, W. Chen, K. Feng, and S. Yang, "Treatment of *Streptococcus mutans* bacteria by a plasma needle", *J. Appl. Phys.*, vol. 105, no. 6, 063302, 15 Mar. 2009.
- [13] G. Daeschlein, T. von Woedtke, E. Kindel, R. Brandenburg, K. D. Weltmann, and M. Jünger, "Antibacterial activity of an atmospheric pressure plasma jet against relevant wound pathogens in vitro on a simulated wound environment", *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, no. 3–4, pp. 224–230, Mar. 2010.
- [14] M. Cooper, G. Fridman, D. Staack, A. F. Gutsol, V. N. Vasilets, S. Anandan, Y. I. Cho, A. Fridman, and A. Tsapin, "Decontamination of surfaces from extremophile organisms using nonthermal atmospheric-pressure plasmas", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 6, pp. 866–871, Jun. 2009.
- [15] G. C. Kim, G. J. Kim, S. R. Park, S. M. Jeon, H. J. Seo, F. Iza, and J. K. Lee, "Air plasma coupled with antibody-conjugated nanoparticles: a new weapon against cancer", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 42, no. 3, 032005 (5pp), 7 Feb. 2009.

- [16] B. Gweon, D. Kim, D. B. Kim, H. Jung, W. Choe, and J. H. Shin, "Plasma effects on subcellular structures", *Appl. Phys. Lett.*, vol. 96, no. 10, 101501, 8 Mar. 2010.
- [17] G. J. Kim, W. Kim, K. T. Kim, and J. K. Lee, "DNA damage and mitochondria dysfunction in cell apoptosis induced by nonthermal air plasma", *Appl. Phys. Lett.*, vol. 96, no. 2, 021502, 11 Jan. 2010.
- [18] A. Shashurin, M. A. Stepp, T. S. Hawley, S. Pal-Ghosh, L. Brieda, S. Bronnikov, R. A. Jurjus, and M. Keidar, "Influence of cold plasma atmospheric jet on surface integrin expression of living cells", *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, no. 3-4, pp. 294-300, Mar. 2010.
- [19] H. J. Lee, C. H. Shon, Y. S. Kim, S. Kim, G. C. Kim and M. G. Kong, "Degradation of adhesion molecules of G361 melanoma cells by a non-thermal atmospheric pressure microplasma", *New Journal of Physics*, vol. 11, no. 11, 115026 (13pp), Nov. 2009.
- [20] M. Leduc, D. Guay, R. L. Leask, and S. Coulombe, "Cell permeabilization using a non-thermal plasma", *New Journal of Physics*, vol. 11, no. 11, 115021 (12pp), Nov. 2009.
- [21] M. Vandamme, E. Robert, S. Pesnel, E. Barbosa, S. Dozias, J. Sobilo, S. Lerondel, A. L. Pape, and J. M. Pouvesle, "Antitumor effect of plasma treatment on U87 glioma xenografts: preliminary results", *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, no. 3-4, pp. 264-273, Mar. 2010.
- [22] C. Jiang, M. T. Chen, A. Gorur, C. Schaudinn, D. E. Jaramillo, J. W. Costerton, P. P. Sedghizadeh, P. T. Vernier, M. A. Gundersen, "Nanosecond pulsed plasma dental probe", *Plasma Process. Polym.*, vol. 6, no. 6-7, pp. 479-483, Jul. 2009.
- [23] S. P. Kuo, O. Tarasenko, J. Chang, S. Popovic, C. Y. Chen, H. W. Fan, A. Scott, M. Lahiani, P. Alusta, J. D. Drake, and M. Nikolic, "Contribution of a portable air plasma torch to rapid blood coagulation as a method of preventing bleeding", *New Journal of Physics*, vol. 11, no. 11, 115016 (17pp), Nov. 2009.
- [24] C. Jiang, M. T. Chen, C. Schaudinn, A. Gorur, P. T. Vernier, J. W. Costerton, D. E. Jaramillo, P. P. Sedghizadeh, and M. A. Gundersen, "Pulsed atmospheric-pressure cold plasma for endodontic disinfection", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 7, pp. 1190-1195, Jul. 2009.
- [25] C. Y. Chen, H. W. Fan, S. P. Kuo, J. Chang, T. Pedersen, T. J. Mills, and C. C. Huang, "Blood clotting by low-temperature air plasma", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 6, pp. 993-999, Jun. 2009.
- [26] M. G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill, T. Nosenko, T. Shimizu, J. van Dijk, and J. L. Zimmermann, "Plasma medicine: an introductory review", *New Journal of Physics*, vol. 11, no. 11, 115012 (35pp), Nov. 2009.
- [27] M. Laroussi, "Low-temperature plasmas for medicine?", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, no. 6, pp. 714-725, Jun. 2009.
- [28] F. Collota, P. Allavena, A. Sica, C. Garlanda, and A. Mantovani, "Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability", *Carcinogenesis*, vol. 30, no. 7, pp. 1073-1081, 2009.
- [29] N. Georgescu, "High voltage pulsed, cold atmospheric plasma jets: electrical characterization", *Romanian Reports in Physics*, vol. 60, no. 4, pp. 1025-1032, Oct. 2008.
- [30] N. Georgescu, C. P. Lungu, and A. R. Lupu, "Chemical activation of the high voltage pulsed, cold atmospheric plasma jets", *Romanian Reports in Physics*, vol. 62, no. 1, pp. 142-151, Jan. 2010.
- [31] N. Georgescu, and A. R. Lupu, "Tumoral and normal cells treatment with high voltage pulsed, cold atmospheric plasma jets", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 38, no. 8, part 2, pp. 1949-1955, Aug. 2010.
- [32] N. Knake, S. Reuter, K. Niemi, V. S. von der Gathen, and J. Winter, "Absolute atomic oxygen density distributions in the effluent of a microscale atmospheric pressure plasma jet", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 41, no. 19, 194006, 7 Oct. 2008.
- [33] J. L. Walsh, D. X. Liu, F. Iza, M. Z. Rong, and M. G. Kong, "Contrasting characteristics of sub-microsecond pulsed atmospheric air and atmospheric pressure helium-oxygen glow discharges", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 43, no. 3, 032001, 27 Jan. 2010.
- [34] G. Y. Park, Y. J. Hong, H. W. Lee, J. Y. Sim, and J. K. Lee, "A global model for the identification of the dominant reactions for atomic oxygen in He/O₂ atmospheric-pressure plasmas", *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, no. 3-4, pp. 281-287, Mar. 2010.
- [35] E. Stoffels, I. E. Kieft, R. E. J. Sladek, L. J. M. van den Bedem, E. P. van der Laan, and M. Steinbuch, "Plasma needle for in vivo medical treatment, recent developments and perspectives", *Plasma Sources Sciences and Technology*, pp. S169-S180, 6 Oct. 2006.

Director Project,

Dr. Ing. Nicolae GEORGESCU