

# Studium cidních účinků plazmatu za atmosférického tlaku

## Úkol měření:

- Seznamte se pod vedením cvičícího s přístroji a pomůckami pro práci s mikrobiologickým materiálem.
- Inokulujte bakteriální suspenzi na Petriho misky s polotuhým kultivačním médiem.
- Ošetřete kontaminovanou plochu záporným korónovým výbojem. Proveďte 8 měření: Vzdálenost od centrální části elektrody nastavte na 0, 1, 2 a 3 cm. Dobu měření volte podle tabulky 1.
- Za použitím programu warburg.nb, který je k dispozici na fyzika.feld.cvut.cz/~fantova proveďte simulaci cidního působení plazmatu. Z výsledků simulace odečtete průměrné množství náboje, který byl deponován na povrch polotuhého kultivačního média. Odečtené hodnoty vynesete do grafu.
- Změřte velikost dekontaminované zóny a výsledky vynesete do grafu.
- Proveďte diskuzi výsledků – popište, jak závisí velikost dekontaminované zóny na množství náboje.

Tabulka 1. Doby expozičních v závislosti na poloze hrotové elektrody.

Radiální posun hrotu [cm]	Doby působení výboje [min]			
0	1	3	-	-
1	-	3	-	-
2	-	3	6	-
3	-	3	6	9

## Postup měření:

### 0. Nezbytné přípravy.

- Do laboratoře můžete vstoupit pouze v návlecích na obuvi.
- Pracujte v plášti, latexových rukavicích a s rouškou. Latexové rukavice a roušku po dokončení práce vyhodte do popelnice, plášť odevzdejte. Případné výrazné znečištění pláště oznamte učiteli).
- Před začátkem práce zapněte laminární box. Otáčky ventilátoru boxu nastavte na maximum a ponechte jej zapnutý po celou dobu měření.

### 1. Připravte si pracovní suspenzi bakterií.

- Do 50 ml sterilní kádinky odlijte ze zásobního roztoku zhruba 10 ml sterilního fyziologického roztoku, z něj do druhé sterilní kádinky napipetujte 5 ml.
- Z termostatu vyjměte 2 Petriho misky, které musí být označeny 8191 (katalogové číslo mikroorganismu *Saccharomyces cerevisiae* (pivovarské kvasinky), se kterým budete pracovat).
- Z ploten seřete bílý povlak kvasinek pomocí vypálené bakteriologické kličky. K vypálení použijte Bunsenův kahan. Kličku vypalujte do červeného žáru. Po vypálení nechte kličku vychladnout. Teplotu můžete zkontrolovat jemným poklepem na povrch agaru, který se nesmí natavovat.
- Seřtené bakterie rozmíchejte v kádince s fyziologickým roztokem, protřepejte pomocí vortexu, aby v kádince nezůstaly sedimenty a proveďte ředění (obr. 1).

## 2. Příprava ploten k experimentu

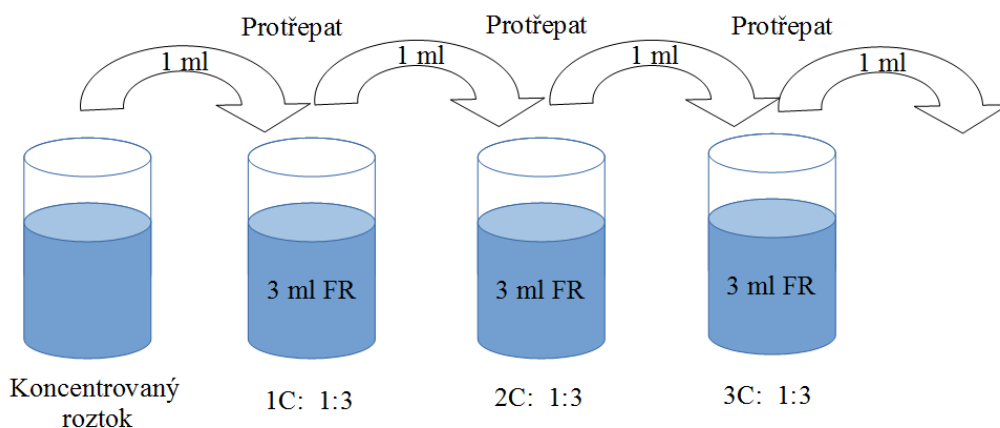
- Z chladničky vyjměte 11 velkých Petřího misek se Sabouraudovým agarem (na misce musí být označení S). Tyto kultivační plotny popište kódem „datum-organismus-číslo plotny“ (př. 150101-8191-1) ze spodní strany
- K vlastnímu experimentu budete potřebovat 9 misek (8 expozic + 1 náhradní), na které vylijete 1 ml rozředěné suspenze dle pokynu cvičícího. Na další dvě misky nalijte po 1 ml kontrolního ředění ( $4^{-10}$ ,  $4^{-12}$ )
- Nechte všechny misky uschnout a mezi tím si připravte experiment (zdroj, umístění elektrody, apod.)

## 3. Příprava elektrické části experimentu.

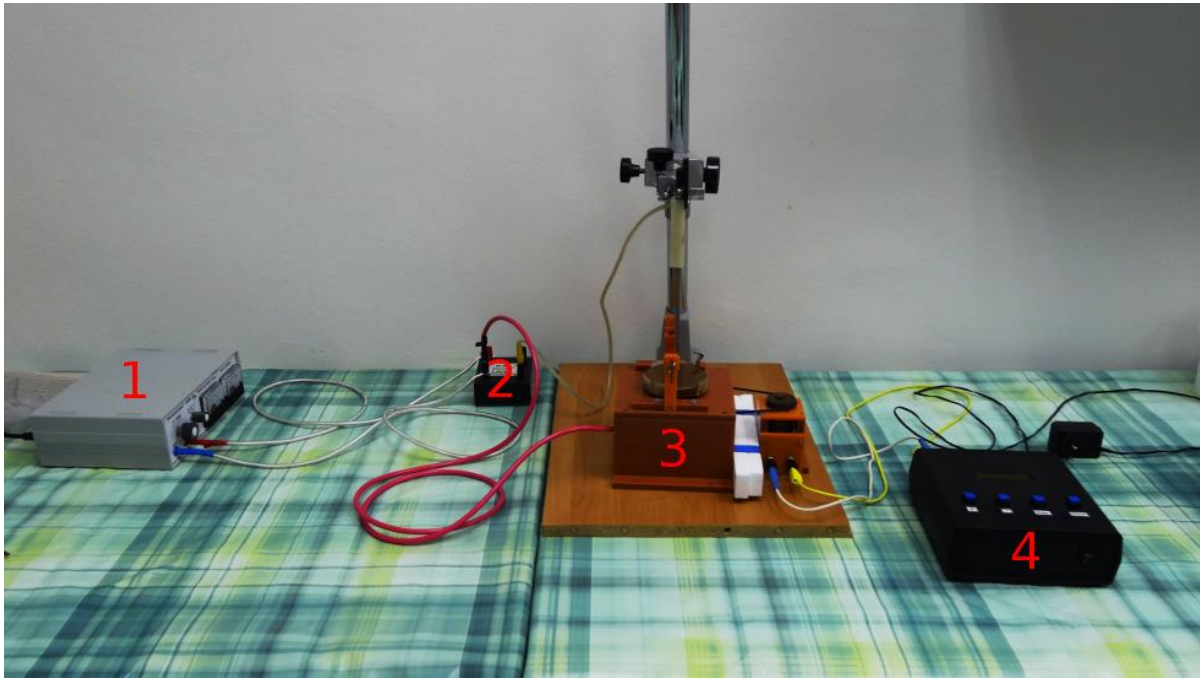
- Připravte nastavení experimentu tak, jak je ukázáno na obrázku 2. Zkontrolujte zapojení dle schématu.
- Nalijte vodu do prázdné Petřího misky (bez agaru) a vyzkoušejte nastavení záporné koróny. Najděte takovou polohu hrotové elektrody, aby při 10 kV na zdroji výbojem protékal proud  $100 \mu\text{A}$ . Z nastavené polohy vycházejte při práci s mikroorganismy.
- Vypněte napětí a nastavte otáčky rovinné elektrody na maximálně 6 otáček za minutu.

## 4. Dekontaminace povrchu.

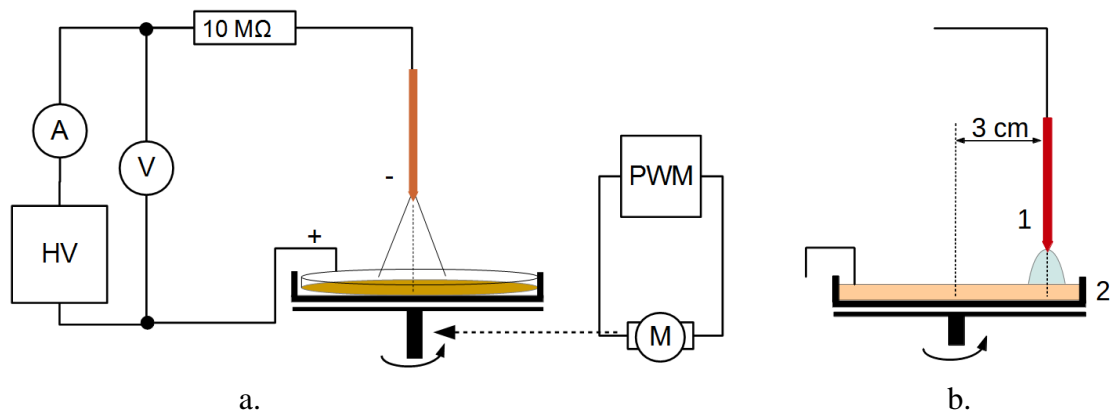
- Uschlou plotnu s nanesenou suspenzí vložte na otočný stolek. Opatrně zanořte měděný kontaktní plíšek do agaru, **tak, abyste jej neulomili.**
- Nastavte polohu hrotové elektrody, otáčky plošné elektrody a zvedejte napětí na zdroji, než proud výbojem nedosáhne  $100 \mu\text{A}$ . Hlídejte, aby výboj nepřecházel do jiskrového módu. Pokud proud výboje začne oscilovat, zvětšete vzdálenost mezi elektrodami při zachování napětí a znovu nastavujte proud.
- Spusťte stopky, až když proud výbojem dosáhne alespoň  $80 \mu\text{A}$ . Po jedné, třech, šesti či devíti minutách (doba expozice podle tabulky 1) plynule snižte napětí na nulu, odpojte plotnu a uzavřete ji víčkem.
- Po provedení celého experimentu všechny plotny uložte víčkem dolů do termostatu nastaveného na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Zkontrolujte, aby v termostatu byla nádoba s vodou, jinak vám agary během kultivace vyschnou. Doba uložení do termostatu zapište.



*Obr. 1: Postup ředění původního koncentrovaného roztoku. Připravte si 10 skleněných zkumavek, do každé, z nichž nalijte pomocí pipety 3 ml sterilního fyziologického roztoku. Do první zkumavky nalijte 1 ml koncentrovaného roztoku. Promíchejte nově vzniklý roztok pomocí vortexu po dobu 5 s. Do druhé zkumavky nalijte 1 ml z první zkumavky. Opět promíchejte. Postup opakujte 10 krát.*



Obr. 2: Zapojení experimentálního zařízení. 1 – DC zdroj napětí (až 15 kV), 2 – odporový dělič (použijte vždy 10 MΩ), 3 – elektrodový systém hrot – rovina (pro generování záporného korónového výboje připojte záporné napětí na hrotovou elektrodu, na rovinnou elektrodu položte Petriho misku), 4 – ovládací motůrku (nastavte 6 ot./min).



Obr. 3: a. schéma zapojení; b. radiální posun hrotu.