

# Charakterisierung von DBD-Plasmaquellen mit Nano- und Mikrosekundenanregung zur Anwendung auf biologischen Oberflächen

## Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften

vorgelegt von

Nina Mertens  
aus Göttingen

genehmigt von der Fakultät für Natur- und Materialwissenschaften  
der Technischen Universität Clausthal

Tag der mündlichen Prüfung  
18.12.2013

**Vorsitzender der Promotionskommission**

Prof. Dr. Dieter E. Kaufmann  
Institut für Organische Chemie  
Technische Universität Clausthal

**Hauptberichterstatler**

apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Maus-Friedrichs  
Institut für Energieforschung und Physikalische Technologien  
Technische Universität Clausthal

**Mitberichterstatler**

Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Viöl  
Fakultät Naturwissenschaften und Technik  
HAWK Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst Hildesheim/Holzminde/n/Göttingen

**Mitberichterstatler**

Univ. Prof. Dr. med. Steffen Emmert  
Abteilung für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität

# Zusammenfassung

Um kaltes Atmosphärendruckplasma im Gesundheitswesen insbesondere auf lebendem Gewebe einsetzen zu können, wird seit einigen Jahren weltweit intensiv auf dem jungen Gebiet der Plasmamedizin geforscht. Viele Wirkmechanismen sind noch nicht vollständig verstanden. Zudem unterscheiden sich selbst gleichartige Plasmaquellen durch unterschiedliche elektrische Parameter und Bauformen hinsichtlich physikalischer und chemischer Eigenschaften und Wirkung auf biologische Systeme. Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit zwei Plasmaquellen mit verschiedenen Spannungsanstiegszeiten, die nach dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung arbeiten, charakterisiert und verglichen sowie ihre Wirkung auf pathogene Mikroorganismen und humane Hautzellen untersucht. Es wurde für beide Quellen die gleiche Elektrodenkonfiguration verwendet.

Die physikalischen Eigenschaften wurden über elektrische Messungen und optische Emissionsspektroskopie bestimmt. Zu den Eigenschaften zählen Elektronendichte und Leistung, sowie Gas- und Elektronentemperatur im Entladungsraum. Zusätzlich wurden die Oberflächentemperatur und der Wärmeeintrag in das behandelte Material, die UV-Strahlung und der Einfluss der Luftfeuchte auf die Plasmaparameter untersucht. Dabei zeigte die Plasmaquelle mit dem langsameren Spannungsanstieg bei annähernd gleicher elektrischer Leistung in den emissionspektroskopischen Untersuchungen zunächst höhere Temperaturen, in allen anderen Ergebnissen jedoch niedrigere Werte. Die höheren Temperaturen lassen sich auf das Messverfahren zurückführen, bei dem die wenigen lichtintensiven Filamente dieser Entladung überproportional in das Ergebnis einfließen.

Die chemische Charakterisierung erfolgte mit Hilfe der Absorptionsspektroskopie und mit reflektometrischen Methoden. Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration wurden im Entladungsspalt, Nitrit- Nitrat- und Wasserstoffperoxidkonzentration auf der behandelten Oberfläche aus Agar bestimmt. Ebenso wurde die pH-Wert-Änderung des Agar durch die Plasmabehandlung verfolgt. Im Entladungsspalt zeigten die Plasmaquellen deutliche Unterschiede in der Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration mit sehr viel höheren Werten bei der Quelle mit dem steilen Spannungsanstieg, während die Konzentrationsunterschiede im Agar weniger deutlich ausfielen.

In mikrobiologischen Untersuchungen wurde der Effekt der Plasmabehandlung auf das Wachstum, bzw. die Vitalität, die Morphologie und die DNA von pathogenen Mikroorganismen (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans*) und humanen Keratinozyten (HaCaT) überprüft. Beide Quellen wiesen eine desinfizierende Wirkung gegenüber patho-

genen Mikroorganismen auf. Die Ursache dafür ist im direkten Kontakt mit den Plasmaspezies in der Entladung zu finden. Die Plasmaquelle mit den kürzeren Spannungsanstiegszeiten zeigte sich effizienter in der Erzeugung der Plasmaspezies und damit biologisch wirksamer als die zweite Quelle.

# Abstract

Cold atmospheric pressure plasma treatment promises alternative and supplementary therapies in health care. Thus, for several years great effort has been made to promote research in the young field of plasma medicine worldwide. Many mechanisms in plasma physics are not fully understood yet. Moreover, even similar types of plasma sources differ by electrical parameters and designs in terms of physical and chemical properties and effect on biological systems. Therefore, in this work two plasma sources with different voltage rise times, which both operate on the principle of dielectric barrier discharge, were characterized and compared. Furthermore, their effects on pathogenic microorganisms and human skin cells were examined. The same electrode configuration was used for both sources.

The physical properties were determined by means of electrical measurements and optical emission spectroscopy. This includes electron density and power, as well as gas temperature and electron temperature in the discharge space. In addition, the surface temperature, the heat transfer to the treated material and the UV radiation were investigated. The influence of humidity on the plasma parameters was examined as well. However, at approximately the same electrical power, the plasma source with the lower voltage rise showed higher temperatures in the emission spectroscopic investigations. The evaluations of the other investigations resulted in lower values. The higher temperatures can be attributed to the measurement method, in which the few intense filaments of this discharge influenced the results disproportionately high.

The chemical characterization was carried out using absorption spectroscopy and a reflectometric method. Ozone and nitric oxide concentration were determined in the discharge gap. Nitrite, nitrate and the hydrogen peroxide concentration were measured on the treated surface. Also, the pH change of the surface after the plasma treatment was monitored. The plasma sources showed significant differences in ozone and nitric oxide concentration in the discharge gap. The source with high voltage rise time generated much higher amounts of ozone and nitric oxide. The differences in concentration of nitrite, nitrate and hydrogen peroxide in the treated surface were much smaller.

In microbiological tests, the effect of plasma treatment on the growth/ the viability, the morphology, and the DNA of pathogenic microorganisms (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*), and human keratinocytes (HaCaT) were tested. Both sources had a disinfecting effect against pathogenic microorganisms. The reason can be found in the direct contact with the reactive plasma species in the discharge. The plasma source with the

shorter voltage rise time showed a higher efficiency in the generation of plasma species. Thus, it is biologically more effective than the other source.

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung	1
2	Grundlagen	3
2.1	Die dielektrisch behinderte Entladung	4
2.1.1	Elementare Plasmaprozesse	5
2.1.2	Elektrisches Verhalten der DBD	11
2.1.3	Reaktionsprozesse im Plasma	13
2.1.4	Elektronenenergie	15
2.1.5	Wirkungsquerschnitt	17
2.2	Entwicklung der Plasmamedizin	17
2.2.1	Plasmaquellen in der Medizin	18
2.2.2	Potentielle Einsatzbereiche der Plasmaquellen	19
3	Physikalische Charakterisierung	23
3.1	Plasmaquellen	23
3.2	Elektrische Messungen	27
3.2.1	Elektronendichte	28
3.2.2	Leistung	29
3.3	Leistungsmessung über Wärmebilanz	30
3.4	Optische Emissionsspektroskopie	33
3.4.1	Gastemperatur	37
3.4.2	Elektronentemperatur	40
3.5	Messung der Agartemperatur	45
3.6	Messung der UV-Strahlung	45
3.7	Einfluss der Luftfeuchte	46
4	Chemische Charakterisierung	49
4.1	Absorptionsspektroskopie	49
4.1.1	Bestimmung der Ozonkonzentration	51
4.1.2	Bestimmung der Stickstoffmonoxidkonzentration	57
4.2	Messung des pH-Wertes	61
4.3	Reflektometrie	63
4.3.1	Bestimmung der Nitrit- und Nitratkonzentration	63
4.3.2	Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration	65

5	Mikrobiologische Untersuchungen	67
5.1	Plasmabehandlung von Bakterien und Hefen . . . . .	67
5.1.1	Wachstumshinibition . . . . .	69
5.1.2	Morphologie . . . . .	72
5.1.3	DNA . . . . .	74
5.2	Plasmabehandlung humaner Hautzellen . . . . .	78
5.2.1	Lebend/Tod-Vergleich . . . . .	80
5.2.2	Morphologie . . . . .	82
5.2.3	DNA . . . . .	84
6	Fazit und Ausblick	87
	Anhang	91
	Literaturverzeichnis	99
	Abbildungsverzeichnis	109
	Tabellenverzeichnis	113
	Publikationen und Konferenzbeiträge	115
	Lebenslauf	117

# 1 Einleitung und Zielsetzung

Der Einsatz von Plasma ist seit vielen Jahren ein Standardverfahren in der Oberflächenmodifikation. Die wichtigsten Anwendungen liegen dabei in der Reinigung, Aktivierung und Beschichtung von Oberflächen. Auch in der Medizintechnik hat es bereits wegen seiner antibakteriellen Eigenschaften in der Sterilisation von medizinischen Geräten und Implantaten Einzug gehalten. Ebenso wird es seit längerem in der Koagulation eingesetzt. Ab etwa Mitte der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts gibt es Bestrebungen, Plasmen zu medizinischen Zwecken auf lebendem Gewebe einzusetzen. Dies ist nun möglich, da es gelungen ist, kalte Atmosphärendruckplasmen mit Temperaturen unter 40 °C zu erzeugen. Neben der sterilisierenden Wirkung verspricht man sich weitere Einsatzmöglichkeiten bei unterschiedlichen Krankheitsbildern. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf bisher nur unzulänglich therapierbaren Krankheiten, wie z.B. atopischen Ekzemen und chronischen Wunden sowie der Bekämpfung multiresistenter Krankenhauskeime, die ein immer größer werdendes Problem im Gesundheitswesen sind. Der Gedanke eines weitreichenden Einsatzes von Plasma rührt unter anderem daher, da die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Plasmas etablierte Therapien wie UV-Strahlung, reaktive Gasspezies und Reizstrom kombinieren.

Als besonders vorteilhaft erweist sich, dass Plasma eine berührungslose und medikamentenfreie Behandlung ermöglicht, die stationär wie ambulant durchgeführt werden kann.

Plasma ist ohne großen Aufwand erzeugbar und kann je nach Behandlungsziel individuell in den Parametern eingestellt werden. Dazu zählen nicht nur die elektrischen und daraus folgend die chemischen Eigenschaften, sondern auch das geometrische Erscheinungsbild. So kann eine Behandlung zielgerichtet sowohl auf Flächen als auch in mikroskopisch kleinen Poren und Öffnungen erfolgen. Zudem sind die Geräte wiederverwendbar.

Bisher zeigten Behandlungen mit medizinischen Plasmaquellen keine Nebenwirkungen, allerdings ist bis zu einem vollständigen Verständnis der Wirkungsweise noch viel Forschungsarbeit notwendig. Gerade für eine Zulassung von medizinischen Produkten sind umfassende Studien und darauf basierend eine gute Datenlage unerlässlich. Dazu soll diese Arbeit einen Beitrag leisten.

An der HAWK, der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst, Hildesheim, Holzmin-den, Göttingen sind verschiedene Plasmaquellen vorhanden, die aufgrund ihrer Funktionsweise für den medizinischen Einsatz geeignet sind. Diese Quellen arbeiten nach den Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung. Zwei davon, die sich im Grundsatz „nur“ hinsichtlich der

Spannungsanstiegszeit unterscheiden, werden im Rahmen dieser Arbeit charakterisiert und verglichen.



**Abbildung 1.1:** Plasmabehandlung der Haut

Nach der Zielsetzung, einem Kapitel über die Grundlagen der dielektrisch behinderten Entladung und einer kurzen Einführung in die Plasmamedizin, werden im dritten Kapitel die physikalischen Parameter charakterisiert. Dazu zählen die elektrischen Eigenschaften, die Temperaturen im Plasma und auf der behandelten Oberfläche, sowie die auftretende UV-Strahlung. Auch der Einfluss der Luftfeuchte auf die Parameter wird untersucht.

Das vierte Kapitel ist der chemischen Charakterisierung gewidmet. Typische Plasmaspezies in der Entladung werden analysiert und der Einfluss der Plasmabehandlung auf die behandelte Oberfläche hinsichtlich Nitrit, Nitrat, Wasserstoffperoxid und pH-Wert gemessen.

Die Wirksamkeit einer Plasmabehandlung gegenüber pathogenen Mikroorganismen und die Wirkung auf humane Hautzellen werden im fünften Kapitel beschrieben. Dazu werden die Zellen licht- und elektronenmikroskopisch analysiert und ihre DNA auf Schäden untersucht.

Ziel der Untersuchungen ist es, Kenntnisse über die physikalischen und chemischen Parameter der beiden untersuchten Quellen zu erhalten, auch um diese in den Kontext anderer bereits charakterisierter Quellen einordnen zu können. Weiterhin sollen die Untersuchungen eine Bewertung und einen Vergleich der Wirksamkeit beider Quellen ermöglichen.

## 2 Grundlagen

Unter physikalischem Plasma versteht man im Allgemeinen ein ionisiertes Gas, also ein Gas, in dem die dort vorhandenen Spezies in Form von Ionen und Elektronen getrennt vorliegen. Der Begriff „Plasma“ wurde erstmals 1928 von den Physikern Langmuir und Tonks gebracht. Sie schlugen ihn für den Gasraum vor, in dem sich Ionen und Elektronen im Gleichgewicht befinden [1].

Der Plasmazustand wird oft auch als vierter Aggregatzustand bezeichnet, in dem sich in unserem Universum mehr als 99% der gesamten Materie befindet. Besonders im extraterrestrischen Raum liegt die Materie im Plasmazustand vor. Auch auf der Erde sind, meist in technisch erzeugter Form, wie z.B. in der Beleuchtungs- oder Beschichtungstechnik, Plasmen anzutreffen.

Plasma kann in sehr unterschiedlichen physikalischen Formen auftreten und lässt sich unter anderem durch folgende Kriterien unterteilen: Thermodynamisches Gleichgewicht und Ionisierungsgrad. Es lässt sich durch verschiedene Arten von Energiezufuhr erzeugen. Dazu zählen thermische Anregung, Strahlungsanregung und Anregung durch elektrische und elektromagnetische Felder.

Im thermodynamischen Gleichgewicht besitzen die Schwerteilchen (Atome, Moleküle und Ionen) die gleiche Temperatur wie die Elektronen. Dieser Zustand wird erst bei hohen Drücken und damit hohen Ladungsträger- bzw. Stoßdichten erreicht.

In Nichtgleichgewichts- oder nichtthermischen Plasmen haben Elektronen und Schwerteilchen unterschiedliche Temperaturen. Diese Plasmen sind bei niedrigen Drücken anzutreffen. Die Elektronen können dabei eine sehr viel höhere Temperatur als die Schwerteilchen aufweisen. Es können Elektronentemperaturen bis zu mehreren  $10^4$  Kelvin auftreten, während Ionen und Neutralteilchen Raumtemperatur besitzen. Bei Atmosphärendruck kann dieser Zustand nur erreicht werden, wenn die Stromdichte nicht zu hoch ist und die Gasentladung abbricht, bevor sich die Temperaturen zwischen Schwerteilchen und Elektronen im Plasma angeglichen haben.

Der Ionisierungsgrad gibt die Anzahl der Spezies an, bei denen die Elektronen getrennt vorliegen. Unter sehr hohen Temperaturen ist das Plasma fast vollständig ionisiert, während es bei niedrigen Temperaturen oft nur gering ionisiert ist.

In dieser Arbeit kommt ein nichtthermisches Plasma unter Atmosphärendruck zur Anwendung, das nach dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung arbeitet. Diese Entladung

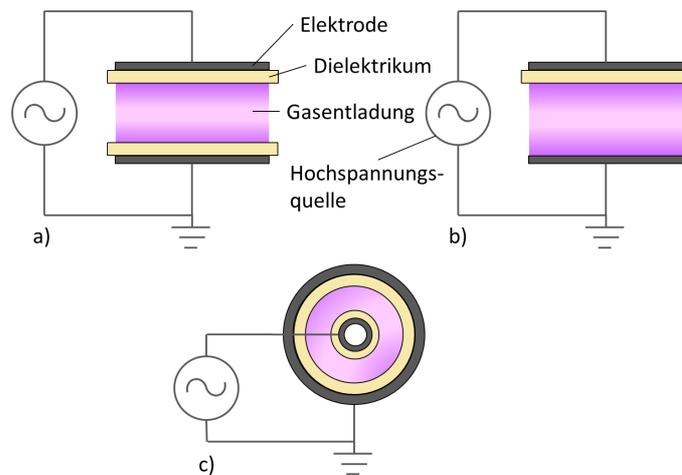
ist u.a. durch die geringe Temperaturerhöhung, den einfachen Aufbau und die unkomplizierte Anwendung sehr gut für den medizinischen und mikrobiologischen Einsatz geeignet. Die physikalischen Eigenschaften und Charakteristika dieses Plasmas werden in den folgenden Abschnitten näher erläutert.

### 2.1 Die dielektrisch behinderte Entladung

Die dielektrisch behinderte Entladung (engl: *dielectric barrier discharge, DBD*) oder auch Barriereentladung oder stille Entladung zählt neben der Coronaentladung zu einem nichtthermischen Plasma, das unter Atmosphärendruck als stark filamentierte Entladung mit hohen Elektronentemperaturen in diesen Filamenten auftritt. Die Filamente werden auch als Streamer oder Mikroentladungen bezeichnet. Der Unterschied zwischen Corona- und dielektrisch behinderter Entladung ist im Auslöschungsmechanismus und im geometrischen Aufbau der Plasmageräte zu finden. Bei der Coronaentladung werden die Entladungsfilamente über Raumladungen gelöscht, bei der DBD dagegen über sich ansammelnde Oberflächenladungen. Die Zündung einer Coronaentladung erfolgt in einem stark inhomogenen elektrischen Feld von einer spitzen Hochspannungselektrode gegen eine plane oder schwach gewölbte Gegenelektrode [2]. Eine DBD wird typischerweise zwischen zwei planen oder zylindrischen Elektroden gezündet, die durch ein Dielektrikum oder zwei Dielektrika voneinander getrennt sind (siehe Abbildung 2.1). Das Dielektrikum wirkt als elektrische Isolierung, deswegen kann eine DBD nur mit Wechselspannung betrieben werden. Die Dielektrizitätskonstante zusammen mit der Materialdicke und der Steilheit des Spannungsanstiegs  $\frac{dU}{dt}$  bestimmt den Verschiebungsstrom, der im Dielektrikum auftreten kann. Um nun einen Strom im Entladungsspalt fließen zu lassen, muss das angelegte elektrische Feld stark genug sein um einen Gasdurchbruch zu erzeugen. So begrenzt in den meisten Fällen das Dielektrikum die im Spalt auftretende Stromdichte. Je höher die Frequenz wird, desto geringer wird die Strombegrenzung durch das Dielektrikum. Aus diesem Grund werden DBD normalerweise nur bis zu einer Frequenz bis 10 MHz betrieben [3,4].

Typische Materialien für Dielektrika sind Quarzglas, keramische Materialien wie  $\text{Al}_2\text{O}_3$  oder Macor, aber auch entsprechend durchschlagsfeste Kunststoffe. Die Spaltbreite zwischen den Elektroden beträgt je nach Anwendung zwischen 0,1 mm bis zu wenigen cm.

Unter bestimmten Voraussetzungen kann eine dielektrisch behinderte Entladung unter Atmosphärendruck auch als unfilamentierte, diffuse Entladung auftreten. Dazu sind jedoch ein bestimmtes Gas (besonders Helium), eine minimale Wiederholfrequenz, das Vorhandensein einer ausreichenden Anzahl Metastabiler, bzw. von vorhergehenden Entladungen verbliebene Ladungsträger oder spezielle Elektroden- und Dielektrikakonfigurationen notwendig [5–9].



**Abbildung 2.1:** Prinzipielle Aufbauten einer DBD (nach [10]); planare Anordnungen mit a) zwei Dielektrika und b) einem Dielektrikum und c) zylindrische Anordnung mit zwei Dielektrika

### 2.1.1 Elementare Plasmaprozesse

Zum Entstehen einer Gasentladung müssen zunächst natürlich vorkommende Ladungsträger vorhanden sein. Unter normalen Bedingungen sind durch UV-Strahlung, kosmische Strahlung und natürliche Radioaktivität stets genug dieser Ladungsträger ( $n = 10^9 / \text{m}^3$ ) vorhanden [11]. Durch Erzeugen eines elektrischen Feldes im Gasraum mit der Breite  $x$  mittels Anlegen einer äußeren Spannung  $U$  werden die durch Fremddionisation entstandenen Ladungsträger zu den Elektroden beschleunigt, es entsteht ein Stromfluss. Wird die Spannung weiter erhöht, tritt zunächst ein Sättigungsstrom auf, da alle durch äußere Einflüsse entstehenden Ladungsträger sofort zu den Elektroden gezogen werden und sich dort entladen. Diese Entladung wird Dunkel- oder unselbständige Entladung genannt. Überschreitet die elektrische Feldstärke

$$E = \frac{U}{x} \quad (2.1)$$

einen Schwellwert, die sogenannte Durchbruchsspannung, reicht die kinetische Energie der beschleunigten Elektronen aus um durch inelastische Stöße aus den neutralen Gasmolekülen weitere Elektronen herauszuschlagen. Diese Elektronen tragen nun ebenfalls zur Neubildung weiterer Ladungsträger bei, es entsteht eine Elektronenlawine mit

$$N = N_0 \cdot e^{\int \alpha \cdot dx}, \quad (2.2)$$

$N_0$  ist dabei die Anzahl der primären Elektronen,

$$\alpha = A \cdot p \cdot e^{-B \cdot \frac{p}{E}} \quad (2.3)$$

beschreibt den sogenannten 1. Townsend-Koeffizienten, der die Anzahl der durch Stoßionisation entstehenden Ladungsträgerpaare durch ein Elektron auf einer bestimmten Weglänge  $dx$  angibt. Er ist eine Funktion von Gasdruck  $p$  und elektrischem Feld  $E$ .  $A$  und  $B$  beschreiben empirisch ermittelte, gaspezifische Konstanten. Für ein homogenes E-Feld und ein isotropes Medium kann (2.2) zu

$$N = N_0 \cdot e^{\alpha \cdot x} \quad (2.4)$$

vereinfacht werden. Um eine selbstständige Entladung zu erhalten, muss das sogenannte Townsend-Kriterium, die Zündbedingung

$$(1 + \gamma) \cdot \alpha - (\alpha \cdot \gamma + \beta) \cdot e^{(\alpha - \beta) \cdot x} = 0 \quad (2.5)$$

erfüllt sein. Es besagt, dass ein primäres Elektron, das an der Anode abgezogen wird, durch mindestens ein an der Kathode oder im Gasvolumen entstehendes Sekundärelektron ersetzt werden muss. Der Koeffizient  $\beta$  gibt dabei den 2. Townsend-Koeffizienten an, der die Anzahl der durch ein Ion auf einer bestimmten Strecke gebildeten Elektronen beschreibt. Da dieser Koeffizient in den meisten Fällen vernachlässigt werden kann [12], lässt sich (2.5) mit  $\beta = 0$  durch

$$\gamma \cdot (e^{\alpha \cdot x} - 1) = 1 \quad (2.6)$$

ersetzen. Der Koeffizient  $\gamma$  ist der 3. Townsend-Koeffizient (oft wird dieser Koeffizient auch als 2. Townsend-Koeffizient bezeichnet) oder auch Sekundärelektronenkoeffizient, der die Anzahl aus dem Kathodenmaterial herausgelösten Elektronen beschreibt. Dieser Koeffizient ist materialabhängig und setzt sich aus mehreren Koeffizienten zusammen:

$$\gamma = \gamma_i + \gamma_p + \gamma_m + \gamma_e + \gamma \dots \quad (2.7)$$

Die größte Rolle spielen dabei die Entstehung von Sekundärelektronen durch Ioneneinschlag ( $\gamma_i$ ), durch den Photoeffekt ( $\gamma_p$ ) und durch metastabile und schnelle Atome ( $\gamma_m$ ) [13]. Der Einfluss von auftreffenden Elektronen ( $\gamma_e$ ) spielt nur bei sehr hohen Elektronenenergien von 300-400 eV eine Rolle. Bei der DBD mit deutlich geringeren Elektronenenergien ist dieser Effekt daher vernachlässigbar, d.h. die Elektronen lagern sich auf der Oberfläche an und führen zu einer Aufladung derselben [14]. Um nun die Zündbedingung aufrecht zu erhalten, muss eine bestimmte Spannung, die Zündspannung  $U_z$  erreicht werden. Diese Spannung lässt sich bestimmen, in dem die Gleichungen (2.1),(2.3) und (2.6) ineinander eingesetzt und nach  $U_z$  aufgelöst werden [13]:

$$U_z = \frac{B \cdot p \cdot d}{\ln \frac{A \cdot p \cdot d}{\ln \left( \frac{1}{\gamma} + 1 \right)}} \quad (2.8)$$

Diese Gleichung, die einen Zusammenhang zwischen Zündspannung und Produkt aus Gasdruck und Spaltabstand herstellt, ist die bekannte Paschenformel. In sogenannten Paschenkurven lassen sich diese Verläufe quantitativ darstellen. Typische Verläufe für verschiedene Gase sind in Abbildung 2.2 dargestellt. Bei geringen Spaltabständen von wenigen mm und bei Atmosphärendruck ist dieser Verlauf nahezu linear. Verändert man Druck oder Spaltabstand, hat dies Einfluss auf die mittlere freie Weglänge der Elektronen im Gasraum und auf die kinetische Energie der Elektronen. Eine Veränderung der kinetischen Energie beeinflusst wiederum die Stoßwahrscheinlichkeiten der Elektronen mit den Gasmolekülen sowie die Ionisierungswahrscheinlichkeit durch Elektronenstöße. Beide Wahrscheinlichkeiten ändern sich gegenläufig.

Die mittlere freie Weglänge  $\lambda$  wird beschrieben durch

$$\lambda = \frac{k \cdot T}{\pi \cdot r_{ML}^2 \cdot p}, \quad (2.9)$$

mit der Boltzmann-Konstante  $k$  und dem mittleren kinetischen Radius der Gasmoleküle  $r_{ML}^2$ . Die auf der mittleren freien Weglänge aufgenommene kinetische Energie  $E_{kin}$  der Elektronen beträgt

$$E_{kin} = \frac{m \cdot v^2}{2} = e \cdot U, \quad (2.10)$$

mit der Ruhemasse  $m$ , der Geschwindigkeit nach Zurücklegen der freien Weglänge  $v$  und der Elementarladung  $e$  des Elektrons. Durch Umstellen dieser Gleichung und Einsetzen in (2.1) ergibt sich

$$\frac{m \cdot v^2}{2} = e \cdot \lambda \cdot E. \quad (2.11)$$

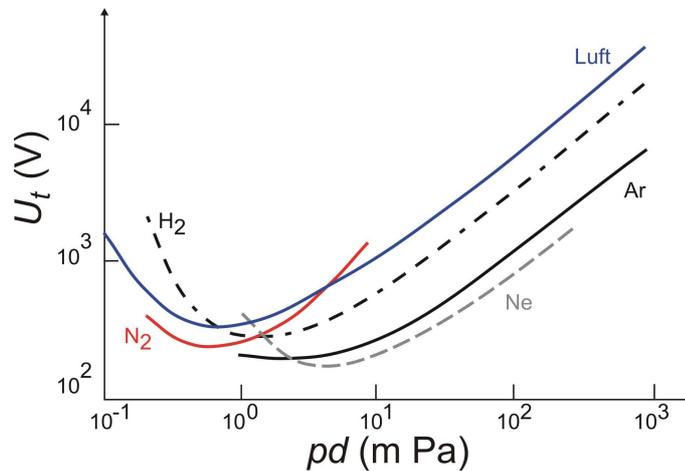


Abbildung 2.2: Paschenkurven verschiedener Gase [15]

Das Einsetzen von Gleichung (2.9) in (2.11) führt zu

$$\frac{m \cdot v^2}{2} = \frac{e \cdot k \cdot T}{\pi \cdot r_{ML}^2 \cdot p} \cdot E. \quad (2.12)$$

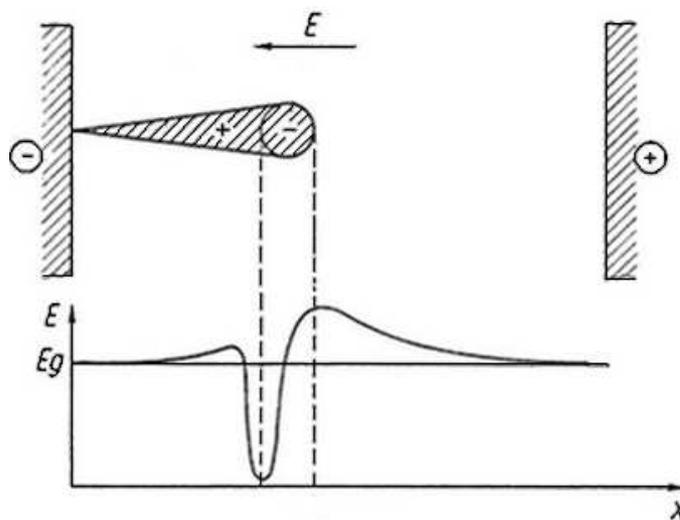
Bei konstanter Temperatur ist die Energieaufnahme der Elektronen zwischen zwei Stößen proportional zu  $E/p$ , bzw.  $E/N$ . Dieser Quotient heißt reduzierte Feldstärke und hat die Einheit Townsend (Td) ( $1 \text{ Td} = 10^{-17} \text{ Vcm}^2$ ) [16].

## Entladungscharakteristik der Filamente

Wird zwischen zwei Elektroden eine Spannung angelegt, so bildet sich beim Erreichen der Durchbruchsspannung ein Entladungsfilament aus. Dabei werden Sekundärelektronen nach den oben beschriebenen Mechanismen aus dem Dielektrikum herausgelöst, es bildet sich eine Elektronenlawine. Durch die im Gegensatz zu den Ionen hohe Elektronenbeweglichkeit bildet sich ein negativer Lawinenkopf und ein langgezogener positiver Lawinenschweif aus. Bei Atmosphärendruck übersteigt die Zahl der Elektronen der ersten Lawine nach Erreichen der Anode schnell einen kritischen Wert

$$N_{kr} \approx e^{18} \approx 10^{18}, \quad (2.13)$$

wodurch sich der Entladungsmechanismus von Townsend- zum Streamermechanismus entwickelt, d.h. das äußere elektrische Feld wird durch ein im Lawinenkopf entstehendes starkes Raumladungsfeld stark beeinflusst [17]. Wie in Abbildung 2.3 zu sehen ist, wird die Feldstärke am Lawinenkopf stark erhöht.



**Abbildung 2.3:** Feldstärkeverlauf in einer Elektronenlawine ( $E_g$  ist die Grundfeldstärke) nach [18]

Dadurch kommt es in diesem Bereich zu einer Verstärkung der Ionisation, einer Beschleunigung der Lawine in Richtung der Anode und einer Erhöhung der Strahlungsemission. Hinter dem Lawinenkopf ist die Feldstärke deutlich abgesenkt. Es entsteht ein Dunkelraum, in dem durch die am Lawinenkopf emittierte Strahlung neue Ladungsträger generiert werden, die wiederum Lawinen auslösen können [18]. Die Entwicklungsgeschwindigkeit des Lawinenkopfes beträgt

in Luft unter Atmosphärendruck  $10^5$  bis  $10^6$  m/s [19], er erreicht die Anode also bei einem Spaltdurchmesser von einem bis wenigen mm innerhalb einiger Nanosekunden. Beim Erreichen des Lawinkopfes an der Anode wird diese durch die hohe Raumladung lokal abgeschirmt. Die Ionen wandern im Bezug auf die Elektronen dagegen nur langsam zur Kathode und führen so zu einer positiven Raumladung. Durch weitere Sekundärlawinen wird diese immer weiter verstärkt, bis schließlich das Potential zwischen Kathode und positiver Raumladung größer ist als das äußere Feld. Die positive Raumladung bildet damit eine virtuelle Anode, die sich durch fortwährende Rekombination von Ladungsträgern im Dunkelraum und damit einhergehenden Ausbildung neuer Sekundärlawinen in Richtung Kathode bewegt. Erreicht die virtuelle Anode die Kathode, so kommt es zum Durchschlag, es bildet sich ein leitfähiger Kanal aus. Die freien Ladungsträger sammeln sich nun als Oberflächenladungen auf dem Dielektrikum an und schirmen das äußere Feld dadurch ab. Wird dabei ein bestimmter Wert unterschritten, erlischt das Filament. Die Dauer eines Filaments beträgt etwa 1-100 ns, der Durchmesser wird mit  $100 \mu\text{m}$  beschrieben [2, 10]. Die Ladungsansammlungen, die sich als sogenannte Fußpunkte ausbilden, verhindern durch die Schwächung des Feldes weitere Streamer in unmittelbarer Nähe. Der gesamte Prozess vom Entstehen erster Elektronen bis zum Erliegen des Stromflusses wird als Mikroentladung bezeichnet. Typische Parameter einer solchen Mikroentladung bei 1 mm Spaltabstand sind in Tabelle 2.1 aufgeführt [10, 14, 20, 21].

**Tabelle 2.1:** Typische Parameter einer DBD  
in einer Mikroentladung

Ionisierungsgrad	$10^{-4}$
Lebensdauer	1 - 20 (100) ns
Durchmesser eines Filaments	50 - 100 $\mu\text{m}$
Max. Stromfluss	0,1 A
Stromdichte	0,1 - 1 kA/cm <sup>2</sup>
Elektronendichte	$10^{14}$ - $10^{15}$ /cm <sup>3</sup>
Mittlere Elektronenenergie	1 - 10 eV
Transportierte Ladung	0,1 - 1 nC
Gastemperatur	$\approx$ 500 K
im gesamten Entladungsraum	
Ionisierungsgrad	$10^{-9}$
Elektronendichte	$10^9$ - $10^{11}$ /cm <sup>3</sup>
Mittlere Elektronenenergie	0,2 - 5 eV
Gastemperatur	300 - 400 K

Ein Polaritätswechsel der Spannung lässt den Prozess in umgekehrter Richtung beginnen. Durch die noch vorhandenen Oberflächenladungen zünden die nächsten Mikroentladungen an den Orten vorangegangener Streamer. Dieser Effekt wird als Memory-Effekt bezeichnet und

ist eine typische Eigenschaft der DBD. Verunreinigungen oder Inhomogenitäten des Dielektrikums können ihn zusätzlich verstärken. Durch hohe Spannung und niedrige Frequenz wird der Effekt abgeschwächt, während er bei niedriger Spannung und hoher Frequenz verstärkt hervortritt [10]. Durch die Geschwindigkeit des Spannungsanstiegs kann ebenfalls auf die Entladungscharakteristik Einfluss genommen werden. Ein sehr steiler Anstieg (wenige ns/kV) führt zu einer hohen Filamentdichte und damit zu einem homogeneren Erscheinungsbild der Entladung während einer langsamerer Anstieg (mehrere hundert ns/kV) zu wenigen, sich teilweise stationär ausbildenden Filamenten und damit einer inhomogenen Entladung führt. Es gibt verschiedene Erklärungsansätze für dieses Phänomen:

- Die schnelle Anstiegszeit vermeidet das Anwachsen starker lokaler Felder. Diese Felder unterdrücken stellenweise die Ausbildung von Elektronenlawinen und fördern gleichzeitig an anderen Stellen das Entstehen einiger weniger Lawinen durch verstärkte Ionisation. Wenn nun die Zahl der Primärlawinen hoch genug ist, bevor die Raumladungen einen kritischen Wert zur Unterdrückung erreicht, können sich alle diese Lawinen ausbreiten, die Entladung erscheint homogener [20].
- Der steile Spannungsanstieg führt zu vielen gleichzeitig zündenden Mikroentladungen und zu einer Überhöhung der Zündspannung. Radiale elektrische Feldkräfte verhindern nun ein Ausbreiten der Fußpunkte und begrenzen so den Ladungsübertrag pro Filament. Diese Erscheinung kann auch wieder durch zwei Effekte beschrieben werden: Zum einen verteilen sich bei längeren Spannungsanstiegszeiten die Filamententladungen zeitlich auf den gesamten Bereich oberhalb der Zündspannung, die in diesem Fall deutlich niedriger liegt als bei kurzen Anstiegszeiten (Flächengesetz nach Kind<sup>1</sup>). Pro Zeiteinheit ist bei kurzen Anstiegszeiten also die Dichte der Filamente sehr viel höher. Jedes Filament kann daher nur einen geringeren Anteil der Kapazität des Dielektrikums zur Aufladung nutzen, als bei einigen wenigen Filamenten. Zum anderen nimmt die Geschwindigkeit eines Streamers besonders bei hohen Zündspannungen beim Übergang von Volumenentladung zu Oberflächengleitentladung stark ab. Der so entstehende Ladungstau in den Filamentfußpunkt bewirkt die zum Erlöschen des Filaments notwendige Feldstärke bereits bei kleineren Ladungsmengen [2].

### 2.1.2 Elektrisches Verhalten der DBD

Eine dielektrisch behinderte Entladung kann sehr vereinfacht als Kondensator mit zwei in Reihe geschalteten Kapazitäten beschrieben werden (siehe Abbildung 2.4). Ist die Zündspannung

<sup>1</sup> Das Flächengesetz nach Kind besagt, dass die zwischen der theoretischen Durchschlagsspannung im homogenen Feld  $U_0$  und der tatsächlichen Zündspannung  $U_z$ , sowie vom Zeitpunkt der Streamerbildung bis zum Durchschlag aufgespannte Fläche  $F$  für jede Elektrodenanordnung konstant ist. Dadurch lässt sich der Verlauf der Zündspannung in Abhängigkeit des Spannungsanstiegs näherungsweise abschätzen [2].

noch nicht erreicht, entspricht die Beschreibung einem kapazitivem Spannungsteiler

$$u_{Spalt}(t) = u_0(t) \cdot \frac{C_{Die}}{C_{Spalt} + C_{Die}}. \quad (2.14)$$

Die Kapazität  $C_{Die}$  setzt sich dabei aus allen Einzelkapazitäten  $C_i$ , die sich zwischen den Elektroden befinden, zusammen:

$$C_{Die} = \left( \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{C_i}} \right). \quad (2.15)$$

Beim Erreichen der Zündspannung bilden sich Entladungskanäle aus, die Impedanz im Plasma  $Z_{Plasma}$  verringert sich rapide. Der Strom im Gasraum teilt sich nun in den Anteil  $i_{Spalt}$ , der den Verschiebestrom der als ideal angenommenen Gasspaltkapazität  $C_{Spalt}$  beschreibt und  $i_{Plasma}$ , der die im Plasma erzeugten und bewegten Ladungsträger darstellt. Wird angenommen, dass  $C_{Spalt}$  und  $C_{Die}$  ideal sind, findet der gesamte Leistungsumsatz in der Impedanz  $Z_{Plasma}$  statt [22]. Über den kapazitiven Spannungsteiler lässt sich nach Gleichung (2.14) die im Gasraum abfallende Spannung  $u_{Spalt}$  abschätzen. Allerdings ist zu berücksichtigen, dieses Modell nur für den ersten Spannungspuls gilt, wenn sich im Gasraum noch keine Ladungsträger angesammelt haben. Diese Ladungen beeinflussen im weiteren Entladungsverlauf die Spannung  $u_{Spalt}$  und die Kapazität  $C_{Spalt}$ , es handelt sich also um eine Näherungsrechnung.

Der Strom im Plasma  $i_{Plasma}$  kann folgendermaßen berechnet werden:

$$u_0(t) = u_{Die}(t) + u_{Spalt}(t) \quad (2.16)$$

$$i_{Die}(t) = i_0(t) = C_{Die} \cdot \frac{du_{Die}(t)}{dt} \quad (2.17)$$

$$i_{Spalt}(t) = i_0(t) - i_{Plasma}(t) = C_{Spalt} \cdot \frac{du_{Spalt}(t)}{dt}. \quad (2.18)$$

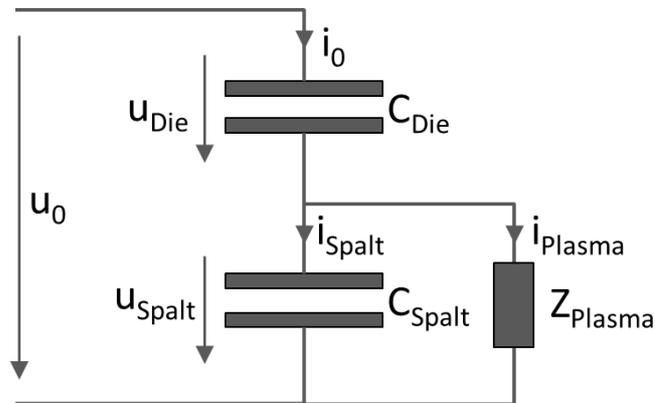


Abbildung 2.4: Einfaches Ersatzschaltbild einer DBD

Durch Ableiten von (2.16) erhält man

$$\frac{du_0(t)}{dt} = \frac{du_{Die}(t)}{dt} + \frac{du_{Spalt}(t)}{dt}. \quad (2.19)$$

Gleichungen (2.17) und (2.18) werden nun in (2.19) eingesetzt und nach  $i_{Plasma}$  umgeformt:

$$i_{Plasma}(t) = \left(1 + \frac{C_{Spalt}}{C_{Die}}\right) \cdot i_0(t) - C_{Spalt} \cdot \frac{du_0(t)}{dt}. \quad (2.20)$$

### 2.1.3 Reaktionsprozesse im Plasma

Der Energieübertrag und damit das Erzeugen chemisch relevanter Plasmaspezies findet in einer DBD überwiegend durch Stöße zwischen Elektronen und Atomen/Molekülen statt. Hier ist jedoch zwischen elastischem Stoß



bei dem nur sehr wenig Energie übertragen wird und inelastischem Stoß, bei dem ein effizienter Energieübertrag stattfindet, zu unterscheiden. Die wichtigsten Stoßprozesse zur Erzeugung charakteristischer Plasmateilchen im Gasvolumen sind

Ionisation



Anregung



Anlagerung



dissoziative Anlagerung



und Dissoziation



Zusätzlich können die dabei entstehenden Ionen und andere Spezies durch Atom-Molekül-Reaktionen, wie z.B.

Penning-Ionisation



und Penning-Dissoziation



oder Photonenanregung



weitere Ladungsträger erzeugen.

Daneben kommt es durch umgekehrte Prozesse zum Abbau von Ladungsträgern. Zu diesen Prozessen zählen die

Neutralisation



Rekombination



und Abregung



Die Reaktionsgleichungen (2.22) bis (2.33) beschreiben im Gasraum auftretende Ionisations- und Neutralisationsprozesse. Daneben erfolgen ähnlich verlaufende Reaktionen an den Gasraum umschließenden Oberflächen, indem sich dort Ladungsträger anlagern, abregen und rekombinieren oder Elektronen von dort emittiert werden.

Die Bildungsgeschwindigkeit und die Lebensdauern der sich im Plasma ausbildenden Spezies sind sehr unterschiedlich und reichen von wenigen Nanosekunden bis hin zu Minuten. Sehr kurz ist die Lebensdauer, wenn elektronisch angeregte Moleküle ihre Energie durch Emission von Strahlung abgeben. Sie beträgt nur wenige Nanosekunden. Durch die kurze Lebensdauer tragen diese Spezies nicht entscheidend zu den chemischen Abläufen im Plasma bei [23]. Ionen existieren über einen Zeitraum von ca. 100 ns, während Atome bis zu 1 ms benötigen um wieder zu rekombinieren. Für bestimmte angeregte Zustände von Atomen und Molekülen sind die optischen Übergänge dipolverboten. Die Lebensdauer dieser metastabilen Zustände kann sehr lang sein. Die typischen Plasmaspezies  $O_3$  und  $NO_x$  werden erst nach einigen  $\mu$ -ms durch Stöße zwischen angeregten und weiteren Molekülen gebildet und können noch minutenlang im Gasvolumen existieren [14].

#### 2.1.4 Elektronenenergie

Die Energie der Elektronen im Plasma unterliegt einer Verteilung. Sie lässt sich mit der Elektronenenergieverteilungsfunktion (engl: *electron energy distribution function, EEDF*) beschreiben. Im thermodynamischen Gleichgewicht folgt die Verteilung der Maxwell'schen Geschwindigkeits-, bzw. Energieverteilung mit  $\varepsilon = \frac{1}{2}mv^2$ , die sich im dreidimensionalen Fall wie folgt darstellt:

$$F(v)dv = 4\pi \cdot \left(\frac{m}{2\pi kT}\right)^{3/2} \cdot v^2 \cdot e^{\left(-\frac{mv^2}{2kT}\right)} dv, \quad (2.34)$$

bzw.

$$F(\varepsilon)d\varepsilon = 2 \cdot \sqrt{\frac{\varepsilon}{\pi}} \cdot \left(\frac{1}{kT}\right)^{3/2} \cdot e\left(-\frac{\varepsilon}{kT}\right)d\varepsilon. \quad (2.35)$$

Für nichtthermische Plasmen gilt diese Verteilung nicht, es muss die allgemeine Form der Boltzmann-Gleichung Verwendung finden, die sich mit Hilfe numerischer Verfahren lösen lässt:

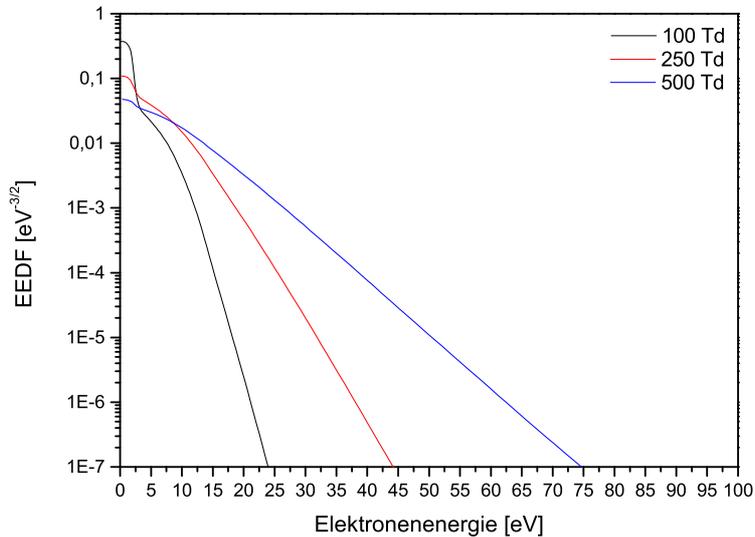
$$\left(\frac{\partial}{\partial t} + \vec{v} \cdot \vec{\nabla}_r + \vec{a} \cdot \vec{\nabla}_v\right) \cdot F(\vec{r}, \vec{v}, t) = \left(\frac{\partial F(\vec{r}, \vec{v}, t)}{\partial t}\right)_{\text{Stoß}}. \quad (2.36)$$

Die Energie der Elektronen wird im Allgemeinen in Elektronenvolt angegeben. Mittels der Beziehung

$$\bar{\varepsilon} = \frac{1}{2}m\bar{v}^2 = \frac{3}{2}kT_{El} \quad (2.37)$$

lässt sich aus der mittleren Elektronenenergie eine Elektronentemperatur  $T_{El}$  bestimmen.

In Abbildung 2.5 sind beispielhaft die EEDF in einem nichtthermischen Plasma bei verschiedenen reduzierten elektrischen Feldstärken dargestellt. Der Bereich mit höheren Energien ist dabei weniger besetzt, da diese Energien durch inelastische Stöße an Schwerteilchen abgegeben wurden. Ebenso nimmt die Zahl im Energiebereich von 5-15 eV ab, da dort in molekularen Plasmen die Rotations- und Schwingungsanregung der Moleküle den Kurvenverlauf beeinflusst [14]. Die Lösung der Elektronenenergieverteilungsfunktionen erfolgte mit dem Boltzmann-Solver BOLSIG+. Dieses Programm berechnet die EEDF numerisch über die Zwei-Term-Näherung [24]



**Abbildung 2.5:** Mit Bolsig+ berechnete Elektronenenergieverteilungsfunktionen bei verschiedenen reduzierten elektrischen Feldstärken

### 2.1.5 Wirkungsquerschnitt

Der Wirkungsquerschnitt  $\sigma$  ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, dass zwischen einem Projektilteilchen und einem Targetteilchen eine Wechselwirkung eintritt. Die Einheit wird in  $\text{m}^2$  angegeben. Verschiedenen Prozessen, wie Reaktions-, Absorptions-, Anregungs-, Stoß- oder Streuprozessen ist jeweils ein Wirkungsquerschnitt zugeordnet. Bei Elementarteilchen wie Elektronen ist dieser von der Art der Wechselwirkungsprozesses und der Reichweite des Wechselwirkungspotentials und damit von der Elektronenenergie abhängig. So lässt sich aus den Wirkungsquerschnitten erkennen, bei welcher Energie der Wechselwirkungsprozess am wahrscheinlichsten stattfinden wird. Wirkungsquerschnitte finden sich in der Literatur u.a. bei [25] (hier: Elektronenstöße mit Stickstoffmolekülen).

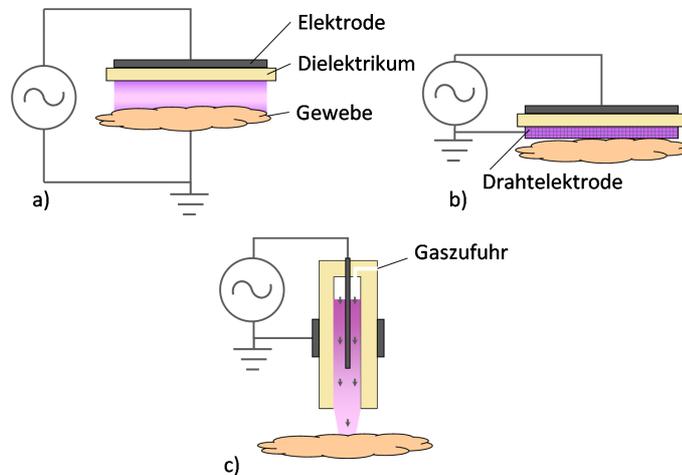
## 2.2 Entwicklung der Plasmamedizin

Seit Jahrzehnten finden heiße Plasmen im Bereich der Koagulation, d.h. der Blutungsstillung und der Gewebetrennung Anwendung in der Medizin. Ebenso ist das Sterilisieren von medizinischen Geräten und Implantaten durch (Niederdruck-)Plasmen bereits vor Jahren in den Blickpunkt des Interesses gerückt, hat allerdings in Deutschland noch keinen Einzug in

den klinischen Alltag gefunden [26–29]. Der Begriff der Plasmamedizin begann sich aber erst Anfang der 2000er Jahre zu etablieren, seit dem es möglich ist, kalte Plasmaquellen unter Atmosphärendruck mit Temperaturen unter 40 °C im Wirkungsbereich zu realisieren. Diese Quellen ermöglichen einen direkten Einsatz auf thermosensitivem Gewebe, wie sie fast alle biologischen Oberflächen darstellen.

### 2.2.1 Plasmaquellen in der Medizin

Die Plasmaquellen, die in der Medizin Verwendung finden, lassen sich grob in drei verschiedene Kategorien unterteilen. Zum einen werden direkte Quellen eingesetzt, die als Gegenelektroden das zu behandelnde Gewebe nutzen. Die am häufigsten genutzten Quellen sind die, die nach dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung arbeiten und die auch in dieser Arbeit zur Anwendung kommen [30]. Nach einem anderen Prinzip arbeiten die indirekten Plasmaquellen (sogenannte „Plasma-Jets“), bei denen das Plasma intern zwischen zwei zur Quelle gehörenden Elektroden erzeugt wird. Die entstehenden reaktiven Spezies werden anschließend durch einen Gasstrom auf die zu behandelnde Oberfläche transportiert. Als dritte Kategorie sind die Hybrid-Plasmaquellen zu nennen, die als Gegenelektrode ein Drahtgeflecht nutzen über das der Strom abfließen kann. Diese als BCD-Quellen (engl: *barrier coronal discharges*) bezeichneten Plasmageneratoren vereinen die Plasmaerzeugung der direkten Quelle mit der „Potentialfreiheit“ der indirekten Quelle [31]. In Abbildung 2.6 sind die drei Arten der Quellen schematisch dargestellt.



**Abbildung 2.6:** In der Plasmamedizin eingesetzte Quellen: a) DBD, b) BCD, c) Jet

Heute umfasst der Begriff der Plasmamedizin ein weites interdisziplinäres Forschungsgebiet, das sich von der Plasmaphysik, -chemie und -technologie über Mikrobiologie, Biochemie und Biophysik bis zu Medizin und Hygiene erstreckt. Da sich hinter dieser Technologie großes

medizinisches und wirtschaftliches Potential verbirgt, entstanden bald international viele Forschungsgruppen, die sich intensiv mit der Erforschung dieses Themas beschäftigen: In den Vereinigten Staaten sind hier insbesondere die Arbeitsgruppen um M. Laroussi, der seit Mitte der 1990er Jahre die Sterilisation biologisch kontaminierter Materialien durch kalte Atmosphärendruckplasmen untersucht [32–35] und um A. Fridman zu nennen, dessen Arbeitsgruppe seit Mitte der 2000er Jahre das Verhalten dielektrisch behinderter Entladungen auf biologischem Gewebe erforscht [36–39]. In Europa veröffentlichte bereits ab 2002 E. Stoffels Publikationen über eine „Plasma-Nadel“ zur Oberflächenbehandlung von Biomaterialien [40,41]. Ebenfalls zu nennen sind M. Kong von der Loughborough University in Großbritannien mit Arbeiten zu biomedizinischen Anwendungen von Mikroplasmen und Desinfektion von Oberflächen [28,42,43] und J.-M. Povesle, der in Orleans, Frankreich u.a. zum Thema Krebstherapien durch Plasma forscht [44–46]. Weitere Gruppen arbeiten in München um G. Morfill, der eine mikrowellenangeregte Argon-Plasmaquelle für den medizinischen Einsatz entwickelte [47], in Greifswald um K.-D. Weltmann, in dessen Institut eine Plasmaquelle nach einem Jet-Prinzip entworfen wurde [48–50] und in Göttingen um W. Viöl [51–53]. Hier kommen im Bereich der Plasmamedizin hauptsächlich Quellen nach dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung zum Einsatz, die auf einem ähnlichen Konzept, wie der von A. Fridman eingesetzte Quelle beruhen. Allerdings unterscheiden sich die Quellen hinsichtlich Pulsdauer und Leistungsdichte.

### 2.2.2 Potentielle Einsatzbereiche der Plasmaquellen

Die Plasmamedizin eröffnet besonders in Fällen, in denen konventionelle Therapien versagen oder in denen es bis dato keine adäquaten Behandlungsmöglichkeiten gibt, neue Chancen und Perspektiven. Folgende Forschungsschwerpunkte haben sich daher in den letzten Jahren herausgebildet:

- **Krankenhaushygiene:** Die Bekämpfung multiresistenter Keime in Krankenhäusern wird zunehmend zu einer Herausforderung und stellt viele Kliniken vor große Probleme. Durch den Einsatz von Plasma erwartet man eine schnelle und effiziente Behandlung infizierter Patienten und kontaminierter Oberflächen. Es wurden bereits erste Geräte dazu realisiert und getestet [54]. Der Anwendungsbereich solcher Geräte zur Dekontamination könnte zudem ausgeweitet werden, in dem sie auch in öffentlichen Gebäuden oder im privaten Bereich zum Einsatz kommen.
- **Chronische Wunden:** Durch den demografischen Wandel in unserer Gesellschaft treten vermehrt Krankheiten wie Venen- und Arterienerkrankungen, Diabetes und Krebs auf, die chronische Wunden nach sich ziehen. Diese Wunden sind schwer zu therapieren, so dass man sich durch alternative Methoden wie die Plasmabehandlung bessere Heilungschancen erhofft [55–58].
- **Superinfizierte Hautkrankheiten:** Teilweise gehen Hautkrankheiten mit Pilzbefall oder bakteriellen Infektionen einher. Diese zusätzliche Belastung soll mit Plasma behandelt

und gelindert werden. Es ist auch möglich, dass die Krankheit direkt beeinflusst werden kann. Erste Ergebnisse dazu wurden bereits veröffentlicht [54, 59].

- Zahn- und Kieferbehandlung: Auch hier lassen sich die desinfizierenden und antimikrobiellen Eigenschaften des Plasmas nutzen. Der Vorteil ist, dass sich gerade kleine Zwischenräume zwischen Zahn und Zahnfleisch gut erreichen lassen und so nicht nur in der Zahnhygiene, sondern auch in der Prophylaxe ein wichtiger Beitrag geleistet werden kann [60, 61].
- Blutgerinnung: Neben thermischen Koagulationsmethoden, bei denen das Gewebe durch hohe Temperaturen kauterisiert wird und die mit Gewebeschädigung, Schmerzen und verlängerter Heilungszeit einhergehen, gibt es die Möglichkeit der Blutstillung durch kaltes Plasma. Dabei wird ohne Gewebeschädigung der natürliche Blutgerinnungsprozess gefördert, in dem durch eine Redoxreaktion die  $\text{Ca}_2^+$ -Konzentration erhöht wird. Dadurch beschleunigt sich die Bildung von Prothrombin, einem Initiator der Gerinnung, deutlich [36].
- Krebstherapie: Durch gezielte externe oder endoskopische Plasmabehandlung soll das Wachstum von Tumorzellen selektiv unterbunden werden und somit eine neue Krebstherapie entwickelt werden. Ermöglicht wird dies u.a. durch die Entwicklung von Quellen, die das Plasma mittels Katheter unmittelbar an das betroffene Gewebe bringt [46].
- Kosmetische Behandlung: Auch im Bereich der (medizinischen) Kosmetik gibt es Bestrebungen, Plasma einzusetzen. Hier erstrecken sich die Anwendungsbereiche von der Regeneration von Gewebe bis zum Bleichen von Zähnen. Durch den Einsatz von Plasma wird z.B. durch Ablation und thermischer Zerstörung der obersten Hautschicht die Bildung von neuem Collagen und damit der Regeneration der Haut gefördert [62, 63]. Das Bleichen der Zähne erfolgt durch eine kombinierte Behandlung von Plasma und  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Durch ein Entfernen der Oberflächenproteine und einer erhöhten Produktion von OH-Radikalen ist dieses Verfahren sehr viel effektiver als das herkömmliche Bleichen ausschließlich mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  [64].

Als potentiell medizinisch wirksam werden im Plasma bisher UV-Strahlung, elektrische Felder und Ströme, Wärmeeffekte, reaktive Gasspezies, Ionen und metastabile Atome und Moleküle identifiziert, die auch synergetisch Effekte hervorrufen können. Die Wirkung dieser Effekte auf biologisches Gewebe ist im Einzelnen teilweise recht gut erforscht und wird auch in der Medizin eingesetzt, wie z.B. UV-Therapien bei Hautkrankheiten, NO- und NO/O<sub>2</sub>-Therapien bei Lungenerkrankungen, Stromtherapien zur Verbesserung der Medikamentenresorption und Behandlung von Hyperhidrose und Wärmebehandlungen zur Verbesserung der Durchblutung, der Muskelentspannung oder der Schmerzlinderung. Bei anderen Mechanismen und besonders bei der Kumulation mehrerer Effekte bedarf es noch intensiver Forschungsarbeit. So muss ausgeschlossen werden, dass unerwünschte oder sogar schädigende Nebenwirkungen, wie Verbrennungen, Tumorbildung, Gasintoxikationen, Schmerzen oder eine Verschlechterung des Krankheitsbildes auftreten. Für Plasmageräte gibt es noch keine generellen Richtlinien

und Grenzwerte, so dass zur Bewertung allgemeine Richtlinien für elektrische Geräte, UV-Strahlung, reaktive Spezies und Strom herangezogen werden müssen. Bisher durchgeführte Untersuchungen zeigten bei entsprechend gering, aber biologisch wirksam eingestellten Parametern keine unerwünschten Wirkungen auf biologisches Gewebe oder Überschreitungen geltender Grenzwerte [46, 51, 65].

Es wurden bereits zwei voneinander unabhängige klinische Studien initiiert, die die Erforschung der Wirksamkeit einer Plasmabehandlung in der Wundbehandlung zum Ziel hatten. Die Studie am Klinikum Schwabing basierte auf einer Quelle, deren Plasma mittels Mikrowellen erzeugt wird. Für die Studie am Universitätsklinikum Göttingen wurde eine Plasmaquelle eingesetzt, die nach dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung arbeitet und im Aufbau einer der in dieser Arbeit verwendeten Quellen gleicht. Die Ergebnisse der Münchner Studie zur Behandlung bakteriell belasteter chronischer Wunden wurden schon publiziert und bestätigen die antibakterielle Wirkung des eingesetzten Plasmas [56]. Auch die Ergebnisse der Göttinger Studie zur Behandlung venöser Ulcera wurden bereits präsentiert. Sie zeigen sowohl eine deutliche Verringerung der Keimbelastung an der behandelten Stelle, als auch eine beschleunigte Wundheilung [66]. Eine Veröffentlichung wurde eingereicht.



## 3 Physikalische Charakterisierung

In diesem Kapitel werden zunächst die beiden Plasmaquellen beschrieben und anschließend hinsichtlich ihrer physikalischen Eigenschaften charakterisiert. Dazu zählen die elektrischen Parameter Strom und Spannung, über die die Leistung der Quellen bestimmt wird. Auch die Elektronendichte im Plasma wird über eine elektrische Messung des Stromflusses bestimmt. Zusätzlich wird die Leistung, die als Wärmeeintrag in das Material der Gegenelektrode eingebracht wird, ermittelt, da gerade bei empfindlichen, lebenden biologischen Materialien eine Parameterkontrolle und ein Verbleiben unter der Zerstörschwelle unabdingbar sind. Diese zweite Messmethode, die die aufgenommene und abgegebene Wärme bilanziert, wird durch die auftretenden starken Felder nicht beeinflusst.

Ein wichtiges Werkzeug zur Bestimmung weiterer Plasmaparameter ist die optische Emissionsspektroskopie. Mit ihr werden über die Intensitätsverhältnisse der aufgezeichneten Banden und unter Zuhilfenahme numerischer Lösungsverfahren sowohl die Gas-, als auch die Elektronentemperatur bestimmt.

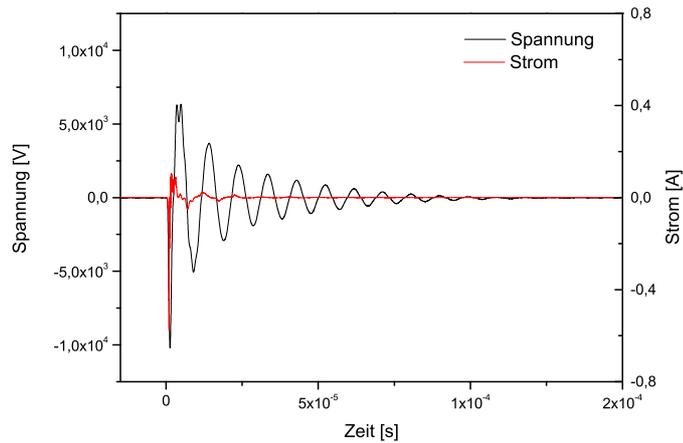
Die Messung der Oberflächentemperatur des behandelten Materials für den Zeitraum der Plasmabehandlung erfolgt optisch über ein Faserthermometer. Auch die UV-Strahlung, die auf die biologischen Proben trifft, wird hinsichtlich ihrer Bestrahlungsstärke und Dosis bestimmt. Dazu wird ein Radiometer mit UV-Sensor eingesetzt.

Elektronendichte und  $-$ temperatur sind wichtige Parameter zur Beschreibung des Plasmas, besonders hinsichtlich seiner reaktiven Eigenschaften, da die Anzahl und Entstehung der Spezies direkt davon abhängig sind. Über die Gastemperatur lassen sich Aussagen machen, in wie weit das Plasma geeignet ist, auf temperatursensitiven Oberflächen angewandt zu werden. Durch die Messung der Oberflächentemperatur wird dies verifiziert. Die Ermittlung der Leistung trägt zu einer Vergleichbarkeit der beiden Quellen bei. Kenntnisse über die Stärke der UV-Strahlung sind notwendig um eine Auswertung der biologischen Untersuchungen durchführen zu können.

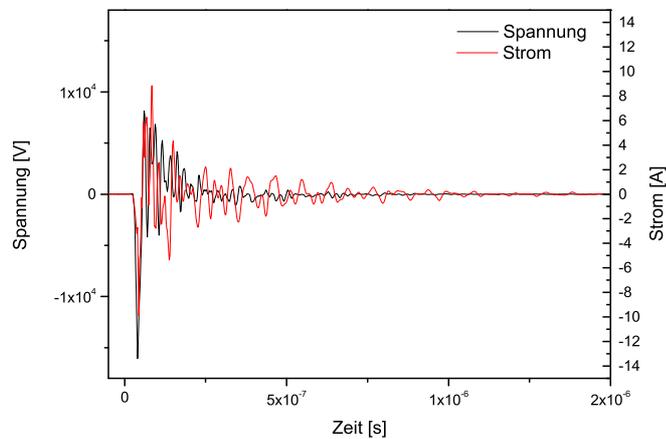
### 3.1 Plasmaquellen

In dieser Arbeit kamen zwei Plasmaquellen mit zeitlich unterschiedlichen Entladungskarakteristiken zum Einsatz. Beide Geräte erzeugen das Plasma nach dem Prinzip der dielektrisch

behinderten Entladung und verwenden die gleiche dielektrisch ummantelte Elektrode. Die elektrischen Schaltungen zur Erzeugung der Spannungspulse unterscheiden sich jedoch deutlich. Eine Quelle (CP 100, Cinogy GmbH, Duderstadt) erzeugt Hochspannungspulse im Zeitbereich mehrerer Mikrosekunden, die zweite Quelle (NanoCube, HAWK, Göttingen) generiert sehr viel kürzere Pulse im Bereich mehrerer Nanosekunden. Die zeitlichen Verläufe der Spannungs- und Strompulse sind beispielhaft in Abbildung 3.1 dargestellt.



(a) CP 100



(b) NanoCube

**Abbildung 3.1:** Strom- und Spannungsverlauf von a) CP 100 und b) NanoCube

Die einzelnen Komponenten beider Geräte setzen sich wie folgt zusammen:

Elektroden: Die verwendete Elektrode setzt sich aus dem Dielektrikum, bestehend aus einem Aluminiumoxid-Tiegel und der Elektrode aus Kupferpulver zusammen, das in den Tiegel gefüllt ist. Der Tiegel hat einen Außendurchmesser von 20 mm und eine Wandstärke von 2 mm. In Abbildung 3.2 ist der Aufbau schematisch dargestellt. Als Gegenelektrode kamen mit Casein-Soja-Pepton-Agar (CASO-Agar) gefüllte Petrischalen aus Polystyrol mit einer Dicke von 0,5 mm und einem Durchmesser von 90 mm zum Einsatz, die auf eine geerdete Aluminiumplatte platziert wurden. In einigen Versuchen wurde der Agar aus Platzgründen in Teilstücke geschnitten und direkt auf geerdete Aluminium- oder Kupferstücke gelegt. In einigen biologischen Teilversuch war eine Versuchsdurchführung auf Agar nicht möglich. Hier wurde die Entladung auf einer Petrischale ohne Agar und auf Mikroskopie-Deckgläschen gezündet. Bei allen Messungen wurde der Gasspalt auf 1 mm Breite eingestellt. Die biologischen Proben wurden einer Plasmabehandlung von 2 s oder 60 s Dauer unterzogen.

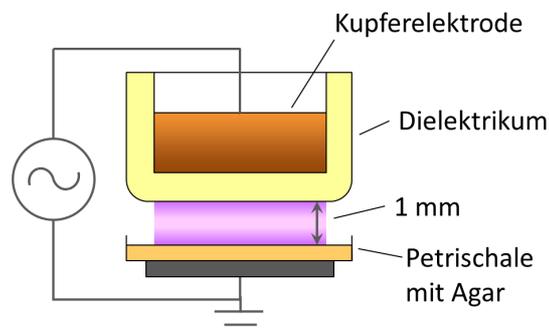
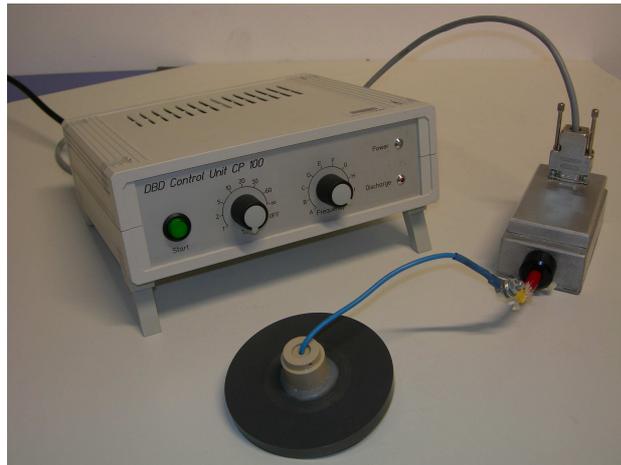


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau der Elektrode

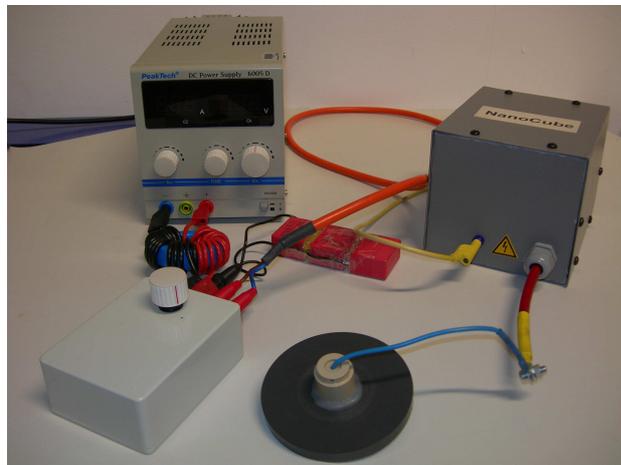
CP 100: Die CP 100 setzt sich aus zwei Komponenten zusammen, dem Steuergerät und dem HV-Modul, welches die benötigten Hochspannungspulse erzeugt. Über das Steuergerät wird das HV-Modul mit der benötigten Spannung von 8 V versorgt. Es können an diesem Gerät verschiedene Pulswiederholfrequenzen zwischen 300 Hz und 700 Hz und Behandlungsdauern zwischen 1 s und Dauerbetrieb eingestellt werden. Im HV-Modul wird über einen Kondensator, der sich über einen Zündtransformator entlädt, der Hochspannungspuls erzeugt. An das HV-Modul können variabel Elektroden verschiedener Größen angeschlossen werden, wodurch zusätzlich auf die Plasmaparameter Einfluss genommen werden kann. Abbildung 3.3 zeigt die CP 100.

NanoCube: Der NanoCube besteht aus einer Gleichspannungsversorgung, dem Wechselrichter und dem Hochspannungserzeuger. Zur Spannungsversorgung wird ein herkömmliches Labornetzteil eingesetzt, das die benötigte Betriebsspannung von 15 V zur Verfügung stellt. Der Wechselrichter erzeugt aus der vom Netzgerät gelieferten Gleichspannung über eine Vollbrückenschaltung aus MOSFETs die vom Hochspannungserzeuger benötigte Rechteckspannung. Die Spannung wird zunächst im Hochspannungserzeuger über einen Transformator in einen Hochspannungsimpuls im Mikrosekundenbereich umgewandelt. In einem Zwischenkreis

wird dieser Impuls erst gleichgerichtet und lädt in einem weiteren Schritt einen Kondensator auf. Dieser Kondensator entlädt sich nach Überschreiten der Zündspannung über eine Funkenstrecke und erzeugt so einen Hochspannungsimpuls mit Anstiegszeiten im Nanosekundenbereich. Die Pulswiederholfrequenz dieser Quelle liegt bei ca. 300 Hz und kann über ein Potentiometer nur geringfügig variiert werden. In Abbildung 3.4 ist der NanoCube dargestellt.

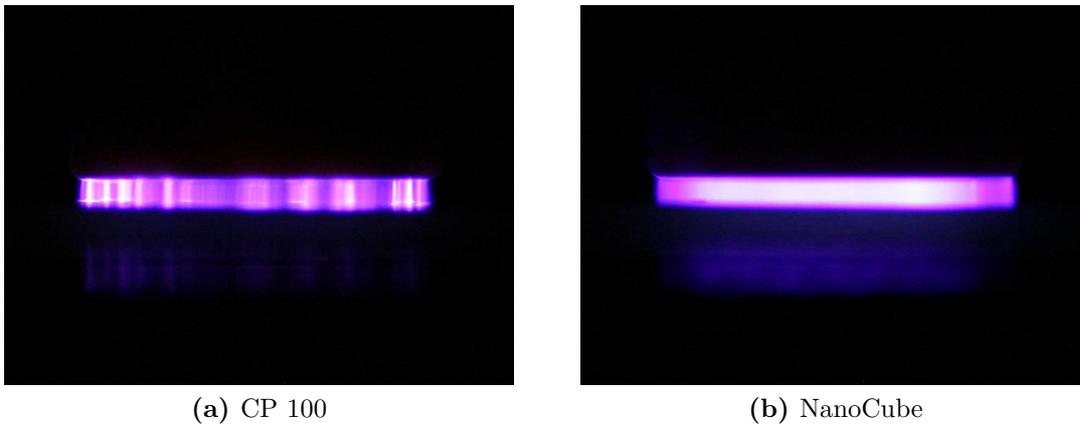


**Abbildung 3.3:** CP 100 mit Elektrode



**Abbildung 3.4:** NanoCube mit Elektrode

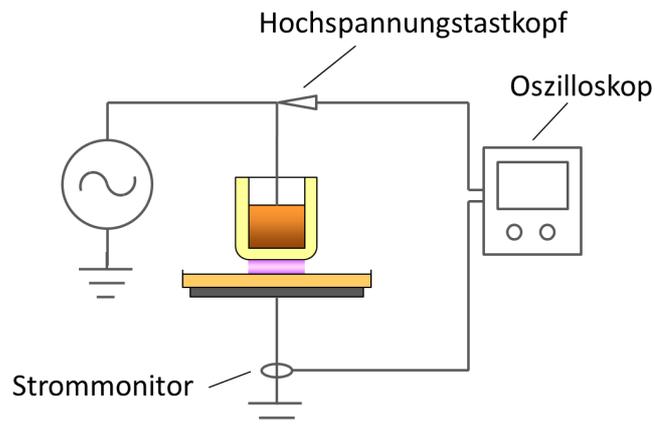
In Abbildung 3.5 sind die Entladungen der beiden Quellen dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass der NanoCube ein sehr viel homogeneres Erscheinungsbild zeigt als die CP 100, bei der die Filamentierung klar hervortritt.



**Abbildung 3.5:** Gasentladungen der beiden Quellen, aufgenommen mit einer Canon EOS 300D, Belichtungszeit 5 s

### 3.2 Elektrische Messungen

Der Messaufbau für die elektrischen Messungen ist schematisch in Abbildung 3.6 dargestellt. Die Spannung  $u_0$  wurde mit einem Hochspannungstastkopf Tektronix P6015A (Kapazität 3 pF) gemessen. Die Messung des Stroms  $i_0$  erfolgte über den Strommonitor 2877 von Pearson, da dieser mit einem Frequenzbereich zwischen 300 Hz und 200 MHz und einer verwendbaren Anstiegszeit von 2 ns über eine ausreichende Geschwindigkeit verfügt. Die Daten wurden mit dem Oszilloskop Yokogawa DL1740EL erfasst und aufgezeichnet.



**Abbildung 3.6:** Schematischer Messaufbau für die elektrischen Messungen

Die für die Ermittlung der Elektronendichte und der im Gasspalt umgesetzten Leistung not-

wendigen Größen  $u_{Spalt}$  und  $i_{Plasma}$  wurden nach dem in Kapitel 2.1.2 beschriebenen Ersatzschaltbild (Abbildung 2.4) und den dort hergeleiteten Gleichungen berechnet.

### 3.2.1 Elektronendichte

Da die Elektronendichte die Anzahl reaktiver Plasmaspezies bestimmt, muss dieser Parameter zur Charakterisierung und zum Vergleich der Quellen ermittelt werden. In den Mikroentladungen als leitfähigen Plasmakanälen ist die Dichte besonders hoch und beträgt üblicherweise  $10^{14}$ - $10^{15}$   $\text{cm}^{-3}$ . Über das Gasvolumen gemittelt liegt die Elektronendichte bei  $10^9$ - $10^{11}$   $\text{cm}^{-3}$  [23, 67]. Die Elektronendichte wird nach [14] über den im Plasma fließenden Strom  $i_{Plasma}(t)$ , bzw. die Elektronenleitungsstromdichte

$$j^e = -e \cdot n_e \cdot \mu \cdot E, \quad (3.1)$$

mit der Elektronenmobilität  $\mu$  und der mittleren Feldstärke  $E$  ermittelt. Die Elektronenmobilität wird über den Boltzmann-Solver Bolsig+ bestimmt. Diese Anwendung ermöglicht für schwach ionisierte Plasmen die numerische Lösung der Boltzmann-Gleichung und gibt so die Elektronenenergieverteilungsfunktion sowie Transportkoeffizienten und Ratenkonstanten aus. Die Berechnung erfolgt unter den Annahmen eines homogenen elektrischen Feldes und konstanter Stoßwahrscheinlichkeiten durch eine Zwei-Term-Näherung nach [68].

Der Strom im Plasma  $i_{Plasma}(t)$  und die Elektronenleitungsstromdichte  $j^e$  hängen wie folgt voneinander ab:

$$j^e = \frac{1}{A \cdot T} \int_0^T |i_{Plasma}(t)| dt, \quad (3.2)$$

wobei  $A$  die Elektrodenfläche beschreibt. Die Feldstärke lässt sich nach Gleichung (2.1), bzw. über den Puls gemittelt mit

$$E = \frac{1}{d} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{k=1}^n u_{Spalt_k}^2} \quad (3.3)$$

berechnen.

Für die CP 100 errechnete sich über den gesamten Entladungsquerschnitt eine Elektronendichte von  $n_e = 1,7 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3} \pm 1,5 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-3}$ , für den NanoCube von  $n_e = 2,5 \cdot 10^{11} \text{ cm}^{-3} \pm 1,0 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-3}$ . Diese Werte stimmen gut mit typischen Werten in einer DBD überein [23,67]. Wie auf Grund der sehr viel höheren Anzahl sich ausbildender Filamente zu erwarten, zeigte der NanoCube insgesamt eine mittlere höhere Elektronendichte. Dafür ist in den wenigen Entladungsfilamenten der CP 100 jedoch von deutlich höheren Elektronendichten auszugehen. Unter der Annahme, dass sich nur 2 Filamente gleichzeitig ausbilden, läge die Elektronendichte in den Filamenten bei ca.  $10^{14} \text{ cm}^{-3}$ .

### 3.2.2 Leistung

Die eingebrachte Leistung lässt sich aus dem Strom- und Spannungsverlauf nach der sogenannten  $U \cdot I$ -Methode ermitteln. Die im System umgesetzte Leistung wird mit

$$P_{System} = f \cdot \int_0^T u_0(t) \cdot i_0(t) dt \quad (3.4)$$

berechnet.  $f$  ist dabei die Pulswiederholrate. Für die im Gasspalt eingetragene Leistung erfolgt zunächst die Berechnung von  $u_{Spalt}$  und  $i_{Plasma}(t)$ , aus denen dann mit folgender Gleichung die Leistung bestimmt wird:

$$P_{Plasma} = f \cdot \int_0^T u_{Spalt}(t) \cdot i_{Plasma}(t) dt. \quad (3.5)$$

Die Leistungsmessungen wurden mit der CP 100 und dem NanoCube mit CASO-Agar in der Petrischale als Gegenelektrode durchgeführt. Da einige biologische Untersuchungen direkt in Petrischalen und auf Mikroskopie-Deckgläsern (Polystyrol und Borosilikatglas) stattfanden, wurde die Leistung hier ebenfalls bestimmt. Zur Leistungsbestimmung konnte letztendlich auf die Berechnung von  $u_{Spalt}(t)$  und  $i_{Plasma}(t)$  verzichtet werden, da die Gesamtleistung nach Gleichung (3.4) in der gleichen Größenordnung und damit innerhalb der Messunsicherheit lag.

Die Ergebnisse der Leistungsmessung sind in Tabelle 3.1 aufgeführt. Sie zeigen, dass beide Plasmaquellen im annähernd gleichen Leistungsbereich lagen. Die Leistung auf Glas und Polystyrol war kleiner als auf Agar, was im geringeren Stromfluss während des ersten Strompulses begründet ist, da hier materialbedingt zunächst weniger Ladungsträger zur Verfügung stehen als auf Agar.

**Tabelle 3.1:** Einkoppelte Leistung von CP 100 und NanoCube bei verschiedenen Gegenelektroden

Plasmaquelle	CASO-Agar	Glas	Polystyrol
CP 100	272 mW ± 16 mW	101 mW ± 30 mW	111 mW ± 3 mW
NanoCube	287 mW ± 11 mW	124 mW ± 20 mW	144 mW ± 16 mW

Die Werte aus Tabelle 3.1 entsprechen Leistungsdichten von 50 - 136 mW/cm<sup>2</sup> bei der CP 100, bzw. 62 - 143 mW/cm<sup>2</sup> beim NanoCube.

### 3.3 Leistungsmessung über Wärmebilanz

Dieses Messprinzip beruht auf dem Wärmeeintrag in das Material, welcher durch Temperaturdifferenzen bestimmt wird und folgt dem Verfahren in [52]. Es ist unabhängig von den starken elektrischen Feldern, welche sich oftmals negativ auf den elektrischen Messaufbau auswirken.

Der Messaufbau wurde in einem thermisch isolierten Behälter realisiert. Es wurde ein geerdetes 40x20x2,5 mm<sup>3</sup> großes Stück Agar als Gegenelektrode verwendet, dessen Masse vor dem Einbringen in den Behälter bestimmt wurde. Die Körper- und Umgebungstemperatur wurde mit dem Faserthermometer Fiso UMI 4 und zwei Fasern gemessen. Die Körpertemperatur des Agar wurde bestimmt, in dem eine Faser unmittelbar unter dem Agar befestigt wurde. Das Plasma wurde gezündet und solange betrieben, bis sich ein Gleichgewichtszustand von Wärmeeintrag und Abkühlung eingestellt hatte. Nachfolgend wurde die sich anschließende Abkühlkurve aufgezeichnet.

Im Messverlauf stellte sich heraus, dass ein störungsfreies Zünden des NanoCube-Plasmas im Thermobehälter nicht möglich war, da die Entladung nach kurzer Zeit aufgrund einer Auffeuchtung des Dielektrikums zusammenbrach. Es wurde daher ein alternativer Messaufbau erstellt. Eine Aluminiumplatte mit 30 mm Durchmesser und 1 mm Dicke, gegen die das Plasma gezündet wurde, wurde an vier Fäden aufgehängt und geerdet. Die Faser zur Messung der Körpertemperatur wurde an der Rückseite der Aluminiumplatte befestigt. Auch hier betrug die Spaltbreite zwischen Elektrode und Platte 1 mm. Die Messung erfolgte analog zum ersten Aufbau.

Der Aufwärmvorgang lässt sich mit folgender Gleichung beschreiben:

$$\frac{\partial(C_h \Delta T)}{\partial t} = \frac{\partial Q}{\partial t} - h \cdot A \cdot \Delta T, \quad (3.6)$$

wobei  $C_h$  die Wärmekapazität des Körpers,  $\Delta T$  die Temperaturdifferenz zwischen Körper  $T(t)$  und Umgebung  $T_U(t)$ ,  $\frac{\partial Q}{\partial t}$  den Wärmeeintrag,  $h$  den Wärmeübergangskoeffizient und  $A$  die wirksame Fläche darstellt. Im Sättigungszustand, wenn keine Temperaturänderung mehr auftritt, ist

$$\frac{\partial(C_h \Delta T)}{\partial t} = 0, \quad (3.7)$$

so dass

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = h \cdot A \cdot \Delta T \quad (3.8)$$

gilt.

Wird die Entladung ausgeschaltet, findet kein Wärmeeintrag mehr statt, so dass

$$\frac{\partial(C_h \Delta T)}{\partial t} = h \cdot A \cdot \Delta T \quad (3.9)$$

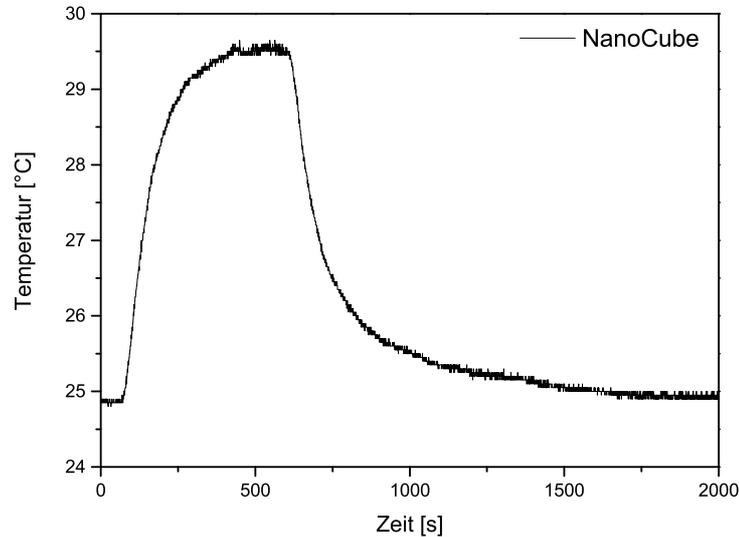
ist.

Die Abkühlkurve folgt folgender Gleichung:

$$T(t) = (T_K - T_U) e^{\left(-\frac{hAt}{C_h}\right)} + T_U, \quad (3.10)$$

mit  $T_K$  als Starttemperatur des Abkühlvorgangs. Über das Zeitverhalten der Abkühlung kann mit (3.10) der Wert  $h \cdot A$  bestimmt werden, so dass sich letztendlich Gleichung (3.6) lösen und damit der Wärmeeintrag berechnen lässt, da auch  $\Delta T$  bekannt ist. Das Ergebnis stellt auch hier eine Näherung dar, da angenommen wird, dass die Abkühlung während der Entladung und danach gleich ist. Tatsächlich ist aber der Entladungsraum deutlich wärmer als die Umgebung, so dass während der Entladung die Abkühlung nur über eine Seite des Agars/ der Aluminiumplatte stattfindet.

Ein typischer Temperaturverlauf ist in Abbildung 3.7 dargestellt. Die quantitativen Ergebnisse finden sich in Tabelle 3.2. Es zeigte sich, dass nur ein Teil der Leistung als Wärme in das Material eingebracht wurde, wobei der Anteil bei der Aluminiumplatte und der CP 100 noch einmal kleiner war als beim NanoCube.



**Abbildung 3.7:** Temperaturverlauf auf der Aluminiumplatte beim Einsatz des NanoCube

**Tabelle 3.2:** Eingebroughte Wärmeleistung von CP 100 und NanoCube in Agar und Aluminium

Plasmaquelle	CASO-Agar	Aluminiumplatte
CP 100	71 mW $\pm$ 23 mW	19 mW $\pm$ 3 mW
NanoCube		55 mW $\pm$ 3 mW

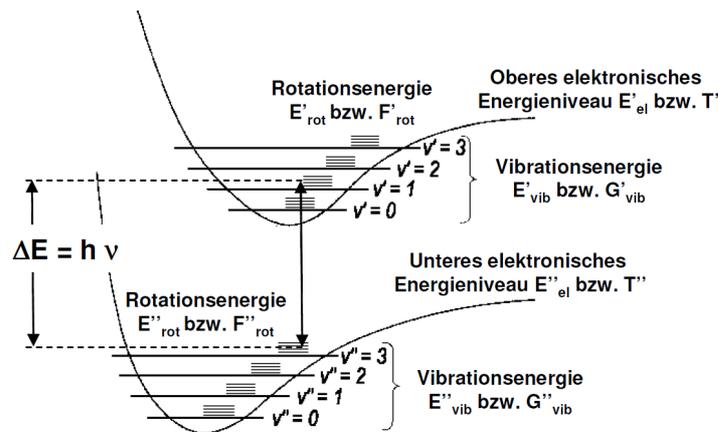
Auf Grund des geringen elektrischen Widerstandes von Aluminium und Agar ist davon auszugehen, dass das Aufheizen der Gegenelektroden nicht durch den Stromfluss durch das Material, sondern durch Erwärmung über die Mikroentladungen vom außen stattfindet [52]. Dadurch lässt auch der Unterschied im Wärmeeintrag zwischen CP 100 und NanoCube erklären. Die Entladung der CP 100 ist auf Aluminium mit nur wenigen Filamenten sehr inhomogen, so dass nur an vereinzelt Stellen Wärme eingetragen werden kann, während beim NanoCube das Aufheizen über eine Vielzahl von Filamenten sehr viel effizienter erfolgen kann. Der relativ hohe Leistungseintrag in den Agar gegenüber dem Aluminium ist nicht zu erwarten, da die Entladung auf Agar nur marginal homogener ist als auf Aluminium. Eine Erklärung ist, dass der Entladungsspalt etwas größer als 1 mm war, da der Thermobehälter keine exakte Einstellungsmöglichkeit bot. Dadurch würde bei gleichbleibendem Stromfluss die Zündspannung und damit die eingebrachte Leistung steigen. Die große Schwankungsbreite der Messergebnisse unterstützt diese These.

### 3.4 Optische Emissionsspektroskopie

Die optische Emissionsspektroskopie (OES) stellt ein wichtiges Werkzeug in der Plasmadiagnostik dar. Durch sie lassen sich Aussagen über die im Plasma vorhandenen Spezies und vorherrschenden Temperaturen machen. Große Vorteile dieses Verfahrens sind der einfache Aufbau und die berührungslose und damit nicht-invasive Methodik. Im Luftplasma emittieren angeregte Moleküle durch den Übergang vom oberen auf ein unteres Energieniveau Licht, das detektiert und analysiert werden kann, da jedem Übergang eine charakteristische Energiedifferenz zugeordnet werden kann. Diese Energiedifferenz setzt sich aus der Änderung der elektrischen, vibratorischen und rotatorischen Energie

$$\Delta E = \Delta E_{el} + \Delta E_{vib} + \Delta E_{rot} = h \cdot \nu \quad (3.11)$$

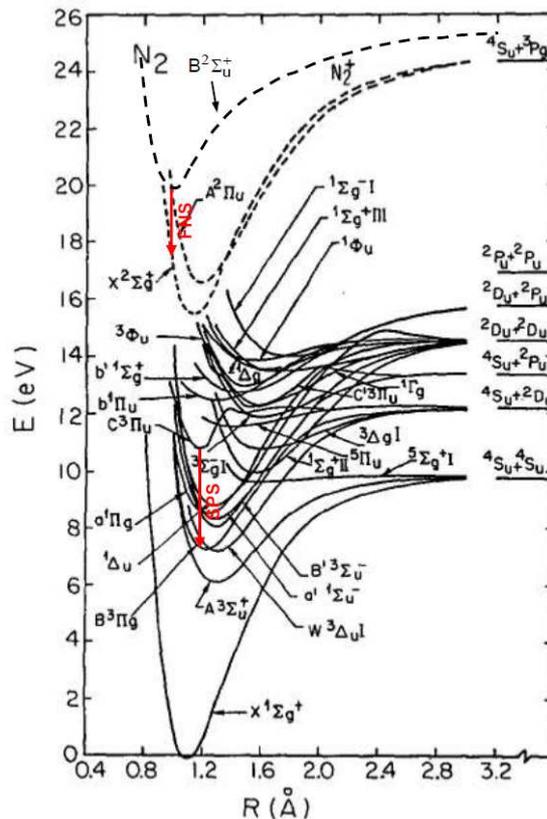
der Moleküle zusammen. Den Gesetzen der Quantenmechanik folgend finden diese Übergänge nur zwischen zwei diskreten Zuständen statt. In Abbildung 3.8 ist dargestellt, wie dadurch jeder elektronisch angeregte Zustand in eine Vielzahl von Vibrationszuständen unterteilt ist, die wiederum aus vielen Rotationszuständen bestehen. Diese Potentialkurven zeigen prinzipiell mögliche Energieniveaus, in die die Gasmoleküle angeregt werden können.



**Abbildung 3.8:** Darstellung der diskreten Energieniveaus eines Moleküls und eines Strahlungsübergangs zwischen zwei Zuständen [69]

Die intensivsten Linien eines Luftplasma-Spektrums sind  $N_2$ -Linien des  $C^3\Pi_u - B^3\Pi_g$ -Übergangs, des sogenannten 2. positiven Systems. Zudem lassen sich die deutlich schwächeren  $N_2$ -Linien des  $B^3\Pi_g - A^3\Sigma_u^+$ -Übergangs (1. positive System) und  $N_2^+$ -Linien des  $B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+$ -Übergangs

(1. negative System) finden. Erläuterungen zur Nomenklatur sind u.a. in [69] zu finden. Für die Bestimmung der Gas- und Elektronentemperatur wurden die strahlungsintensiven 0-0-Übergänge des 2. positiven Systems von  $N_2$  bei 337,1 nm und des 1. negativen Systems von  $N_2^+$  bei 391,4 nm verwendet. Diese Übergänge sind in der Potentialkurve von  $N_2$ , die in Abbildung 3.9 dargestellt ist, durch rote Pfeile hervorgehoben.



**Abbildung 3.9:** Potentialkurven von  $N_2$  nach [14]; die roten Pfeile kennzeichnen die verwendeten Übergänge

Die Emissionsspektren für die Bestimmung der Gas- und der Elektronentemperatur wurden mit einem hochauflösenden Echellespektrometer Aryelle Butterfly, LTB Berlin, aufgenommen. Die hohe spektrale Auflösung solcher Spektrometer wird über den Einsatz eines speziellen Beugungsgitters, dem sogenannten Echelle- oder Blaze-Gitter erreicht. Dieses Gitter ist in der Lage, die meiste Intensität in hohe Ordnungen zu beugen. Das eingestrahlte Licht wird dabei in eine Vielzahl hoher Beugungsordnungen aufgeteilt, die sich überlappen können. Durch ein nachgeordnetes Prisma, das quer zum Gitter ausgerichtet ist, werden die Ordnungen separiert und zweidimensional auf einen CCD-Chip abgebildet. Das Prinzip ist in Abbildung 3.10 dar-

gestellt. Das spektrale Auflösungsvermögen  $\frac{\lambda}{\Delta\lambda}$  des eingesetzten Gerätes beträgt 15.000, was einer Auflösung von etwa 30 pm im genutzten Wellenlängenbereich entspricht. Der maximale Wellenlängenbereich reicht von 175 nm bis 750 nm, allerdings ist dies nur durch den Einsatz zweier Spektrometer möglich, die in einem Gerät verbaut sind und sich einen Detektor teilen. Das emittierte Licht der Entladungen wurde über eine optische Faser mit einer numerischen Apertur von  $NA = 0,22$  zum Spektrometer geleitet.

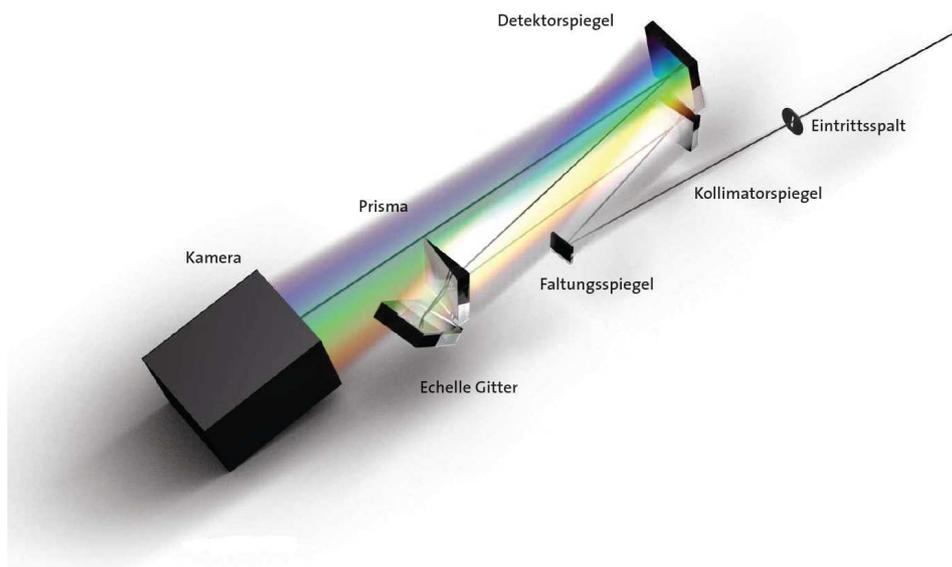
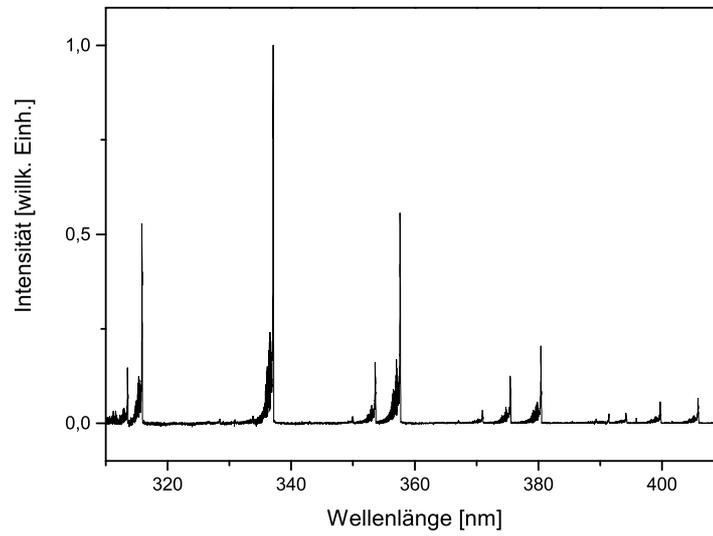
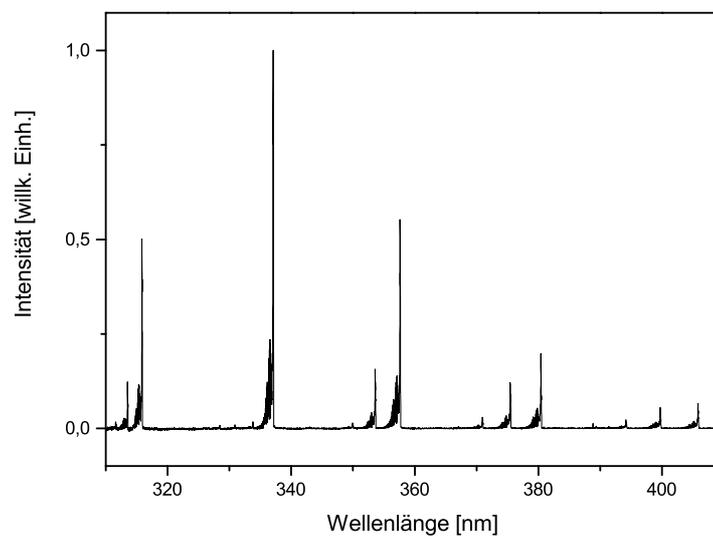


Abbildung 3.10: Aufbau eines Echellespektrometers [70]

Zur Wellenlängenkalibrierung wurde eine Quecksilberdampfampe eingesetzt, zur relativen Intensitätskalibrierung des Spektrometers standen eine Deuterium- und eine Halogenlampe zur Verfügung. Die Emissionsspektren der CP 100 und des NanoCube sind in Abbildung 3.11 dargestellt.



(a) CP 100



(b) NanoCube

**Abbildung 3.11:** Emissionsspektren a) der CP 100 und b) des NanoCube

### 3.4.1 Gastemperatur

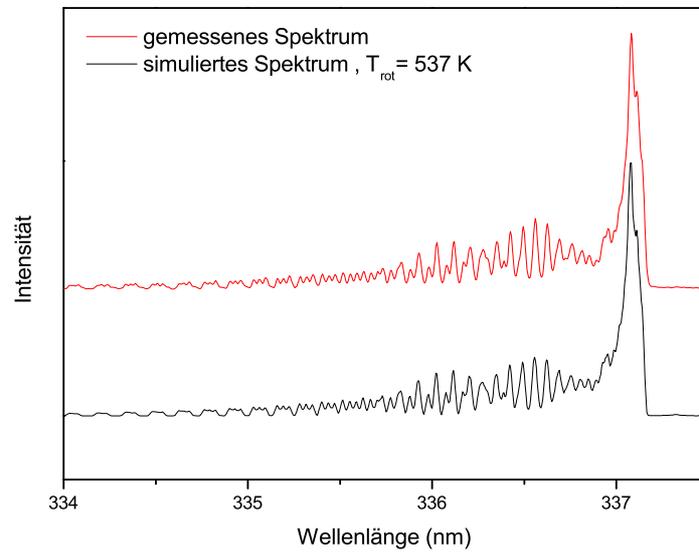
Die Ermittlung der Gastemperatur im Plasma, die der Temperatur der Schwerteilchen entspricht, erfolgt über die Bestimmung der Rotationstemperatur  $T_{rot}$ . Diese Annäherung kann getroffen werden, da die Energiedifferenz zwischen den Rotationsniveaus gering ist, so dass durch Stöße der schweren Teilchen sehr schnell ein Rotationsgleichgewichtszustand erreicht wird, wodurch  $T_{gas} \approx T_{rot}$  gegeben ist [14]. Bei der Bestimmung der Rotationstemperatur muss zunächst sichergestellt sein, dass die Beiträge der elektronischen und vibratorischen Übergänge keinen Einfluss auf die Auswertung haben. Daher dürfen nur Rotationsbanden aus einem definierten elektronischen und vibratorischen Übergang Verwendung finden [69]. In dieser Arbeit wird die 0-0-Transition des 2. positiven Systems genutzt, da dieser Übergang vom vibratorischen Grundniveau des angeregten elektrischen Zustands in das vibratorische Grundniveau des abgeregten elektrischen Zustands erfolgt. Die Grundniveaus ohne Besetzungsinversion weisen stets die höchste Besetzungsdichte auf, so dass hier die höchste Intensität der Banden auftritt. Es können jedoch auch andere Spezies und Moleküle wie OH, O<sub>2</sub> und N<sub>2</sub><sup>+</sup> zur Berechnung der Rotationstemperatur verwendet werden.

Es gibt zwei Verfahren, die Rotationstemperatur zu bestimmen. Eine Methode wird über den sogenannten Boltzmann-Plot realisiert. Dazu werden die Intensitäten möglichst vieler Emissionslinien gemessen und miteinander verglichen. Die Intensitäten werden dann logarithmisch über die Energie aufgetragen, so dass sich eine Gerade mit der Steigung  $\frac{-1}{kT}$  ergibt, über die die Temperatur bestimmt werden kann. Die Abweichung der Messungen von der Geraden gibt Aufschluss darüber, wie genau die Besetzung der Boltzmann-Verteilung folgt. Allerdings ist für die Genauigkeit des Verfahrens von Bedeutung, dass sich die Linien nicht überlappen, so dass ein sehr hochauflösendes Spektrometer eingesetzt werden muss. Stehen keine sehr hoch aufgelösten Spektren zur Verfügung, gibt es eine alternative Methode, die in dieser Arbeit zu Anwendung kommt.

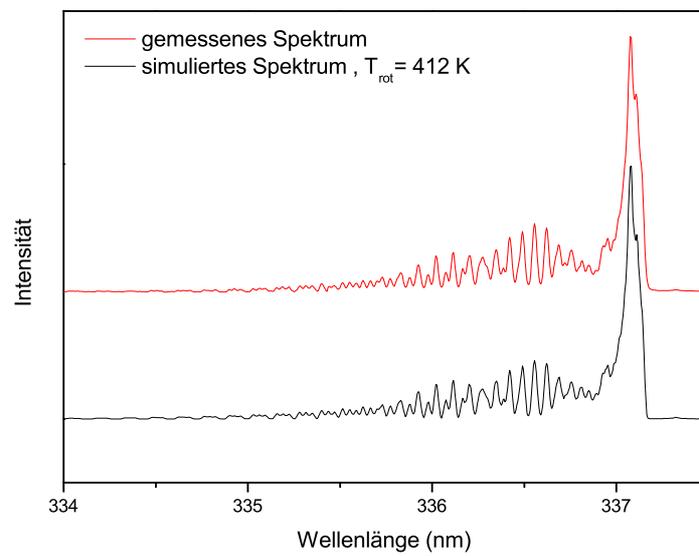
Dieses Verfahren vergleicht experimentell gemessene Spektren mit simulierten Spektren, die hier mit dem Simulationsprogramm „SpecAir“ erzeugt wurden. Dieses Programm ermöglicht die Simulation von Luftspektren vom UV bis ins nahe IR. Auch diverse Gasbeimischungen zur Luft sind möglich. Ursprünglich wurde das Programm zur Temperaturbestimmung in Gleichgewichtsplasmen entwickelt. Allerdings erlaubt die Software, die rotatorische, translatorische, vibratorische und die elektronische Anregungstemperatur unabhängig voneinander auszuwählen, so dass auch die Simulation von Spektren bei Nicht-Gleichgewichtsbedingungen möglich ist. Die Besetzungsdichte des oberen Niveaus wird unter der Annahme einer Boltzmannverteilung bestimmt. Dazu wird nicht das Stoß-Strahlungsmodell verwendet, sondern die Übergangswahrscheinlichkeiten über Tabellendaten bestimmter Übergänge berechnet. Das berechnete Spektrum berücksichtigt die natürliche Linienbreite, die thermische Dopplerverbreiterung sowie die Stoßverbreiterung [71]. Ebenso findet die Spaltfunktion, die die Abbildung einer Emissionslinie auf dem Detektor des Spektrometers beschreibt Berücksichtigung, indem das Spektrum mit dieser Spaltfunktion gefaltet wird.

Als Eingangsparameter zur Simulation der Spektren wurde die elektronische Anregungstemperatur auf 5000 K festgelegt. Die Spaltfunktion wurde für das verwendete Echelle-Spektrometer nach [72] als eine trapezförmige Funktion mit 0,045 nm auf der langen Grundseite und 0,002 nm auf der kurzen Grundseite ermittelt. Die Vibrationstemperatur wurde mit „SpecAir“ über einen Vergleich der Intensitäten der 0-1- Transition bei 357,6 nm und der 1-2-Transition bei 353,6 nm des 2. positiven Systems des Stickstoffs bestimmt und mit 3670 K bei der CP 100 und 7780 K beim NanoCube festgelegt. Die Translationstemperatur wurde mit der Rotationsstemperatur gleichgesetzt, was auf Grund der kurzen freien Weglänge und dem daraus resultierenden schnellen Temperatúrausgleich bei Plasmabedingungen unter Atmosphärendruck zulässig ist [71].

Auf Grund der lichtschwachen Entladungen musste zur Aufnahme der Spektren eine Integrationszeit von 2000 s gewählt werden um ein ausreichend starkes Signal zu erhalten. Die gemessenen Spektren stellen somit eine räumliche und zeitliche Summation der Emission dar. Für die CP 100 ließ sich eine Rotationstemperatur und damit Gastemperatur von  $T_{gas} = 537 \text{ K} \pm 23 \text{ K}$ , für den NanoCube  $T_{gas} = 412 \text{ K} \pm 7 \text{ K}$  bestimmen. Die relativ hohe Temperatur der CP 100 kann dadurch erklärt werden, dass die Entladungsfilamente durch ihre sehr viel höhere Lichtemission das Ergebnis stärker beeinflussen als der übrige Entladungsraum. So entspricht der gemessene Wert der Temperatur in einem Entladungsfilament [21]. Es ist daher anzunehmen, dass die tatsächliche mittlere Gastemperatur des gesamten Entladungsraumes deutlich unter diesem Wert bei Werten zwischen 300 und 400 K liegt. Jeweils ein gemessenes und simuliertes Emissionsspektren von CP 100 und NanoCube ist beispielhaft in Abbildung 3.12 dargestellt. Die höhere Rotationstemperatur der CP 100 ist deutlich durch die höheren Intensitäten im Bereich von 334 bis 335,5 nm zu erkennen. In diesem Bereich hin zu kleineren Wellenlängen liegen die höheren Ordnungen der Rotationsbanden, die entsprechend höhere Temperaturen benötigen um angeregt zu werden.



(a) CP 100

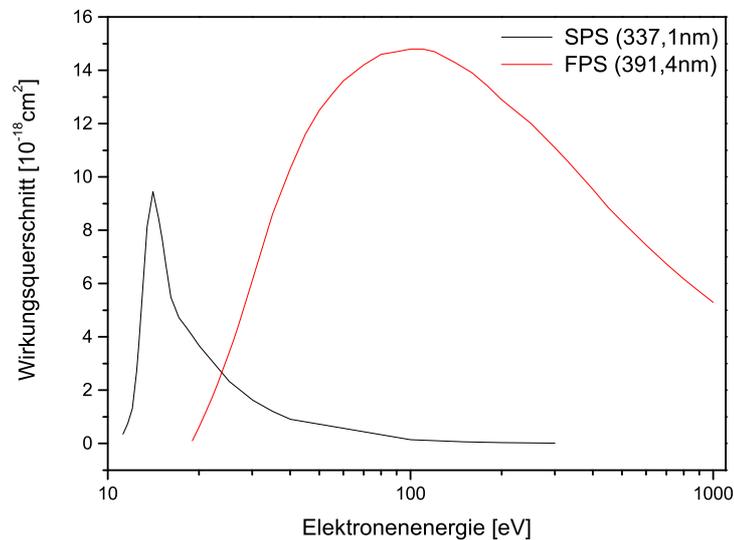


(b) NanoCube

**Abbildung 3.12:** Gemessenes und simuliertes Spektrum von a) CP 100 und b) NanoCube. Die Simulationsparameter sind auf Seite 37 zu finden.

### 3.4.2 Elektronentemperatur

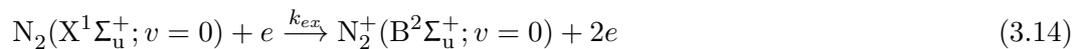
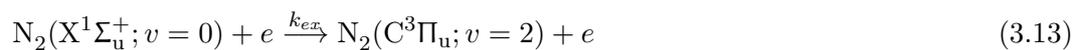
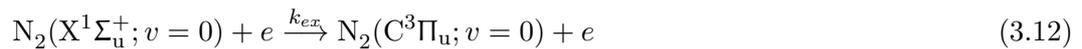
Die Bestimmung der Elektronentemperatur erfolgt über den Vergleich der Quotienten zweier Emissionsbanden des Stickstoffes eines gemessenen gegenüber einem modellierten Spektrum. Dieser Ansatz ist möglich, da in einer DBD bei Atmosphärendruck der Elektronenstoß der dominierende Prozess für die Anregung der  $N_2$ -Moleküle ist. Eine weitere Voraussetzung ist, dass sich die Emissionswirkungsquerschnitte der verwendeten Übergänge in ihrem Verlauf deutlich unterscheiden. In dieser Arbeit werden die 0-0-Transitionen des 2. positiven Systems von  $N_2$  bei 337,1 nm und des 1. negativen Systems von  $N_2^+$  bei 391,44 nm genutzt. Die Emissionswirkungsquerschnitte dazu werden [25] entnommen und sind in Abbildung 3.13 dargestellt. Die Modellbildung erfolgt über den Boltzmann-Solver Bolsig+.



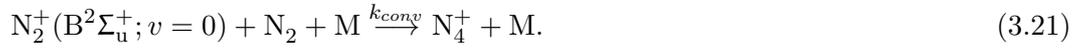
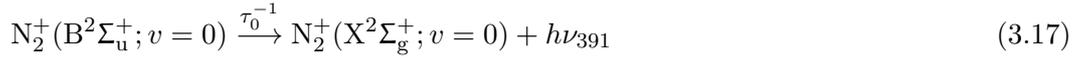
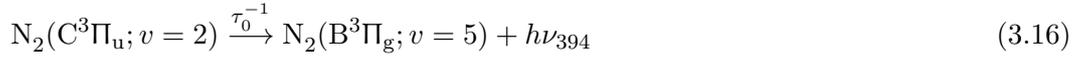
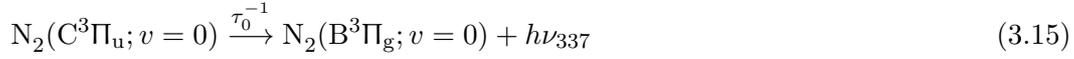
**Abbildung 3.13:** Emissionswirkungsquerschnitte von Elektronenstößen mit  $N_2$ - Molekülen der 0-0-Transitionen des 2. positiven Systems von  $N_2$  bei 337,1 nm und des 1. negativen Systems von  $N_2^+$  bei 391,44 nm [25]

Folgende Reaktionsgleichungen wurden im Modell berücksichtigt:

Anregungsprozesse:



Relaxationsprozesse:



Die Gleichungen (3.12) bis (3.14) beschreiben Anregungsprozesse durch Elektronenstoß,  $k_{ex}$  ist der Ratenkoeffizient für Anregung. Reaktionsgleichungen (3.15) bis (3.17) beschreiben Relaxationsübergänge, bei denen es zur Aussendung eines Photons kommt. Gleichungen (3.18) bis (3.20) sind nichtstrahlende Übergänge. Die Relaxation findet hier durch Stöße mit anderen schweren Teilchen statt. Die Abkürzung  $k_q$  steht für den Ratenkoeffizienten für Quenching (Löschung). Die Gleichung (3.21) beschreibt die assoziative Anlagerung von  $\text{N}_2$  an  $\text{N}_2^+$  und muss nach [73] besonders in filamentierten Entladungen berücksichtigt werden. Hier ist der dazugehörige Ratenkoeffizient  $k_{conv}$ .

Das Intensitätsverhältnis  $R$  lässt sich nach [65] wie folgt beschreiben:

$$R = \frac{I_{391}}{I_{337}} = \frac{\lambda_{337}}{\lambda_{391}} \cdot \frac{g_{391}}{g_{337}} \cdot \frac{k_{em,391}}{k_{em,337}}, \quad (3.22)$$

mit  $g$  als Parameter für strahlungslose Verlustprozesse und den Ratenkonstanten für Emission  $k_{em}$ , die hier abweichend von [73] Verwendung finden. Dies ist möglich durch die Auswahl geeigneter Emissionswirkungsquerschnitte, in denen die sonst benötigten Einsteinkoeffizienten für spontane Emission bereits enthalten sind [74]. Die Verlustprozesse, in denen die Relaxation ohne Emission eines Photons stattfindet, werden im Parameter  $g$  zusammengefasst:

$$g_{337} = \frac{1}{1 + \tau_0^A (n_{\text{N}_2} k_{q,\text{N}_2}^A + n_{\text{O}_2} k_{q,\text{O}_2}^A) N} \quad (3.23)$$

$$g^{391} = \frac{1}{1 + \tau_0^B ((n_{N_2} k_{q,N_2}^B + n_{O_2} k_{q,O_2}^B) N + k_{conv} n_{N_2} N^2)}, \quad (3.24)$$

$\tau_0$  beschreibt die Lebensdauer,  $n$  die relative Konzentration der Spezies und  $N$  die Teilchendichte. Es wurden die relative Konzentration von  $n_{N_2} = 0,8$  und  $n_{O_2} = 0,2$  und Teilchendichten von  $N = 1,36 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$  für die CP 100 ( $T_{gas} = 540 \text{ K}$ ), sowie  $N = 1,79 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$  für den NanoCube ( $T_{gas} = 410 \text{ K}$ ) verwendet. Die weiteren Parameter finden sich in Tabelle 3.3.

**Tabelle 3.3:** Parameter der verwendeten  $N_2$ -Transitionen

	$N_2(C^3\Pi_u; v=0)$	$N_2^+(B^2\Sigma_u^+; v=0)$	Quelle
$\tau_0, 10^{-9} \text{ s}$	42	62	[73]
$k_{q,N_2}, 10^{-10} \text{ cm}^3/\text{s}$	0,13	2,1	[73]
$k_{q,O_2}, 10^{-10} \text{ cm}^3/\text{s}$	3,0	5,1	[73]
$k_{conv}, 10^{-29} \text{ cm}^6/\text{s}$	-	5,0	[75]
$g(T = 540 \text{ K; CP 100})$	$2,43 \cdot 10^{-2}$	$1,46 \cdot 10^{-3}$	diese Arbeit
$g(T = 410 \text{ K; NanoCube})$	$1,85 \cdot 10^{-2}$	$9,13 \cdot 10^{-4}$	diese Arbeit

Die Ratenkonstanten  $k_{em}$  werden über eine Faltung der EEDF  $F(E)$  mit dem Wirkungsquerschnitt  $\sigma(E)$  bestimmt:

$$k_{em} = \int_0^{\infty} \sigma(E) \sqrt{\frac{2}{m_e}} \cdot \sqrt{E} \cdot F(E) dE \quad (3.25)$$

mit der Elektronenmasse  $m_e$ .

Die EEDF wird dabei wie folgt normiert:

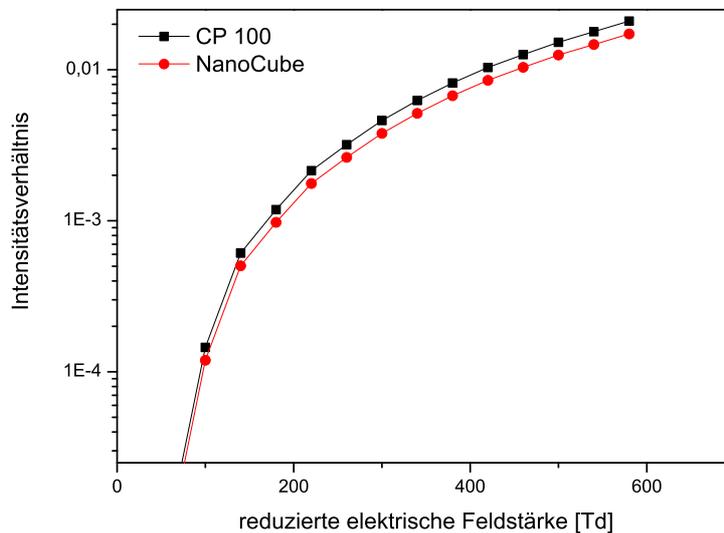
$$\int_0^{\infty} \sqrt{E} \cdot F(E) dE = 1. \quad (3.26)$$

Die benötigten Parameter zur Bestimmung der Ratenkonstanten mit BOLSIG+ sind in Tabelle 3.4 aufgeführt.

**Tabelle 3.4:** Parameter zur Berechnung der Ratenkonstanten mit BOLSIG+

CP 100	
Ionisierungsgrad	$10^{-10}$
Elektronendichte	$1,72 \cdot 10^{15} \text{ m}^{-3}$
Gastemperatur	540 K
$n_{N_2}$	0,8
$n_{O_2}$	0,2
NanoCube	
Ionisierungsgrad	$10^{-8}$
Elektronendichte	$2,46 \cdot 10^{17} \text{ m}^{-3}$
Gastemperatur	410 K
$n_{N_2}$	0,8
$n_{O_2}$	0,2

In Abbildung 3.14 sind die nach Gleichung (3.22) berechneten Intensitätsverhältnisse dargestellt, aus denen nun für die gemessenen Werte die entsprechende reduzierte elektrische Feldstärke ( $E/N$ ) entnommen und daraus die mittlere Elektronentemperatur  $\bar{\epsilon}$  ermittelt wurden.

**Abbildung 3.14:** Berechnete Intensitätsverhältnisse von CP 100 und NanoCube über die reduzierte elektrische Feldstärke

Zur besseren Auswertung wurden die Verläufe mit einer Funktion gefittet und so die reduzierte Feldstärke bestimmt. Für die CP 100 ergab sich folgende Fitfunktion

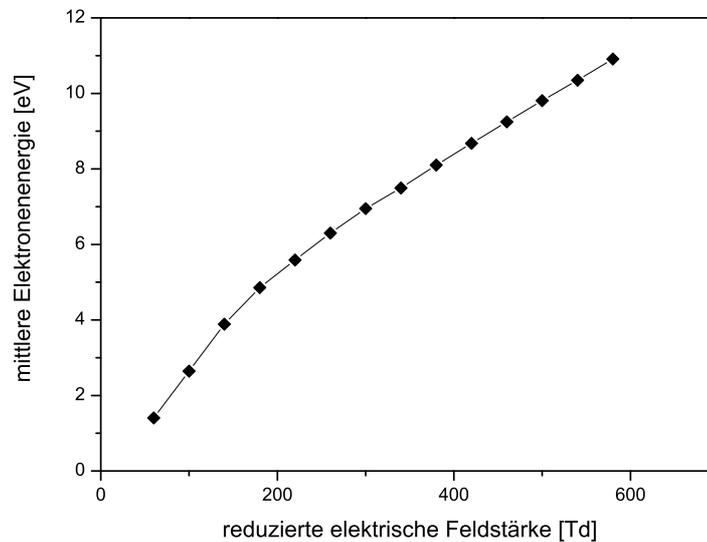
$$R\left(\frac{E}{N}\right) = 0,80 \cdot e^{\left(-88\left(\frac{E}{N}\right)^{-0,5}\right)}, \quad (3.27)$$

für den NanoCube

$$R\left(\frac{E}{N}\right) = 0,65 \cdot e^{\left(-88\left(\frac{E}{N}\right)^{-0,5}\right)}. \quad (3.28)$$

Die Auswertung der Intensitätsverhältnisse der aufgenommenen Emissionsspektren lieferte für die CP 100 eine reduzierte elektrische Feldstärke von  $(E/N) = 427 \text{ Td} \pm 7,43 \text{ Td}$  und für den NanoCube eine reduzierte Feldstärke von  $(E/N) = 261 \text{ Td} \pm 37,93 \text{ Td}$ .

Die mittlere Elektronenenergie  $\bar{\epsilon}$  wird ebenfalls durch BOLSIG+ ausgegeben und ist aufgetragen über die reduzierte Feldstärke in Abbildung 3.15 dargestellt.



**Abbildung 3.15:** Mit Bolsig+ berechnete mittlere Elektronenenergie  $\bar{\epsilon}$

Über Gleichung (2.36) wurde aus der mittleren Elektronenenergie die Elektronentemperatur errechnet. Für die CP 100 ergab sich damit eine mittlere Elektronenenergie von  $\bar{\varepsilon} = 8,79 \text{ eV} \pm 0,11 \text{ eV}$ , was einer Elektronentemperatur von  $T_{El} = 6,8 \cdot 10^4 \text{ K} \pm 0,08 \cdot 10^4 \text{ K}$  entspricht. Für den NanoCube ließ sich eine mittlere Elektronenenergie von  $\bar{\varepsilon} = 6,28 \text{ eV} \pm 0,62 \text{ eV}$  ( $T_{El} = 4,9 \cdot 10^4 \text{ K} \pm 0,48 \cdot 10^4 \text{ K}$ ) bestimmen. Auch diese Werte stimmen gut mit Literaturwerten überein (siehe Tabelle 2.1), wenn hier ebenfalls angenommen wird, dass die Strahlungsintensität der Filamente bei der CP 100 überproportional in das Ergebnis einfließt. Generell ist bei gleicher eingebrachter Impulsenergie bei homogeneren Entladungen die mittlere Elektronenenergie höher [2], sie wird bei der CP 100 über den gesamten Entladungsraum also insgesamt niedriger sein und unter dem Wert des NanoCube liegen.

### 3.5 Messung der Agartemperatur

Zur Messung der Agartemperatur wurde erneut das Faserthermometer Fiso UMI 4 verwendet. Dazu wurde die Faser von der Seite in die Petrischale mit dem Agar eingebracht, so dass es sich das Faserende direkt unter der Agaroberfläche unterhalb der Elektrode befand. Bei dieser Messung wurde das Plasma nur so lange gezündet, wie es auch für die biologischen Untersuchungen eingesetzt wurde, einmal für 2 s und einmal für 60 s. Die Temperaturwerte wurden vor dem Einschalten des Plasmas, unmittelbar nach dem Ausschalten der Entladung, sowie nach 1 min und 2 min aufgezeichnet. Nach 2 s Plasmabehandlung war weder bei der CP 100 noch bei dem NanoCube eine Temperaturveränderung im Rahmen der Messgenauigkeit des Thermometers von 0,05 K im Agar festzustellen. Während der 60 s Plasmabehandlung stieg die Temperatur im Agar bei der CP 100 um  $\Delta T = 0,36 \text{ K}$ , beim NanoCube um  $\Delta T = 0,43 \text{ K}$ . Eine thermische Schädigung des behandelten Materials war also nicht zu erwarten. Auch einzelne heiße Filamente (in [52] wurden Temperaturen bis 800 K gemessen) schädigen es nicht, da der Wärmeübergang vom Gas in den Agar geringer ist als die Wärmeleitung im Agar und zusätzlich die übertragene Wärmemenge aufgrund der kurzen Lebensdauer der Filamente sehr klein ist.

### 3.6 Messung der UV-Strahlung

Die Messung der UV-Bestrahlungsstärke erfolgte mit dem Radiometer X1-1 Optometer und dem Detektorkopf UV-3719-4a(z), Gigahertz-Optik. Der Messbereich reicht von 250 - 390 nm, berücksichtigt also den UV A- und UV B-Bereich, was gleichzeitig den intensivsten Linien des Luftplasma-Spektrums entspricht. Der Messaufbau dazu ist in Abbildung 3.16 dargestellt.

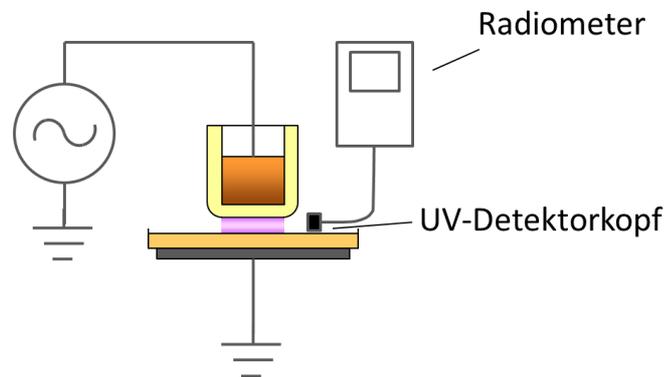


Abbildung 3.16: Schematischer Messaufbau für die UV-Messung

Über die Behandlungsdauer von einmal 2 s und einmal 60 s wurde die in das Material eingebrachte UV-Dosis bestimmt. Die Bestrahlungsstärke und daraus folgend die Dosis pro Fläche der CP 100 sind deutlich kleiner als die des NanoCube. Die wenigen starken Einzelfilamente der CP 100 emittieren also in ihrer Gesamtheit weniger UV-Strahlung als die vielen schwachen Filamente des NanoCube. Die Ergebnisse dazu sind in Tabelle 3.5 abzulesen. Die durch die Plasmabehandlung eingebrachten UV-Dosen liegen damit auch ohne die spektrale Gewichtung der „Internationalen Kommission für den Schutz vor nicht-ionisierender Strahlung“ (ICNIRP), die das Schädigungsmaximum für Zellen bei 254 nm berücksichtigt, sowohl deutlich unter dem Grenzwert für die Bestrahlung menschlicher Haut ( $30 \text{ J/m}^2$ ) [76], als auch den Dosen zur Inaktivierung von Mikroorganismen. Die Dosen zur Inaktivierung der in dieser Arbeit untersuchten Mikroorganismen sind in Kapitel 5 aufgeführt.

Tabelle 3.5: UV-Bestrahlungsstärke und -Dosis von CP 100 und NanoCube

Plasmaquelle	Behandlungsdauer	Bestrahlungsstärke	Dosis
CP 100	2 s	$0,73 \text{ mW/m}^2 \pm 0,02 \text{ mW/m}^2$	$1,46 \text{ mJ/m}^2 \pm 0,04 \text{ mJ/m}^2$
	60 s		$43,8 \text{ mJ/m}^2 \pm 1,17 \text{ mJ/m}^2$
NanoCube	2 s	$2,19 \text{ mW/m}^2 \pm 0,04 \text{ mW/m}^2$	$4,37 \text{ mJ/m}^2 \pm 0,09 \text{ mJ/m}^2$
	60 s		$131,22 \text{ mJ/m}^2 \pm 2,62 \text{ mJ/m}^2$

### 3.7 Einfluss der Luftfeuchte

Es ist bekannt, dass die Luftfeuchte einen starken Einfluss auf die Entladungscharakteristik hat. Zum einen wandelt sich das Erscheinungsbild mit steigendem Wassergehalt der Luft von vielen zu immer weniger einzelnen Mikroentladungen im Gasspalt, zum anderen ändern sich auch die chemischen Eigenschaften, d.h. die Zusammensetzung der Spezies im Plasma. Der

Ozongehalt nimmt ab, während die Zahl der OH-Radikale steigt [77, 78]. Die größere Anzahl dieser Radikale wird z.B. in [79] als Grund für die Inaktivierungsrate von Bakterien bei höherer Luftfeuchte angegeben. Um den Einfluss der Luftfeuchte auf die Entladung zu bestimmen, wurden die emissionsspektroskopischen Untersuchungen (Gas- und Elektronentemperatur) und die elektrische Leistungsmessung mit der CP 100 und dem NanoCube in einem Klimaschrank (SB11/160/40, Weiss Umwelttechnik) bei definierten relativen Luftfeuchten (CP 100 bei 60 % r.F. und 90 % r.F. und NanoCube bei 30 % r.F., 60 % r.F. und 90 % r.F.) und konstanter Temperatur (23°C) erneut durchgeführt. Als Gegenelektrode dienten Petrischalen ohne Agar (Polystyrol), die auf einer geerdeten Aluminiumplatte platziert wurden, da eine Entladung auf Agar keine ausreichende Lichtemission zur Aufnahme eines Spektrums erzeugte.

Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 3.6 dargestellt.

**Tabelle 3.6:** Ermittelte Parameter der Plasmaquellen bei verschiedenen relativen Luftfeuchten und konstanter Temperatur (23°C)

relative Luftfeuchte	30%	60%	90%
CP 100			
Leistung	166 mW ± 3 mW	165 mW ± 3 mW	166 mW ± 3 mW
Gastemperatur		350 K ± 25 K	401 K ± 37 K
Elektronentemperatur		66 · 10 <sup>3</sup> K ± 2 · 10 <sup>3</sup> K	72 · 10 <sup>3</sup> K ± 3 · 10 <sup>3</sup> K
NanoCube			
Leistung	314 mW ± 13 mW	290 mW ± 18 mW	248 mW ± 17 mW
Gastemperatur	385 K ± 13 K	426 K ± 58 K	370 K ± 55 K
Elektronentemperatur	53 · 10 <sup>3</sup> K ± 2 · 10 <sup>3</sup> K	65 · 10 <sup>3</sup> K ± 6 · 10 <sup>3</sup> K	62 · 10 <sup>3</sup> K ± 4 · 10 <sup>3</sup> K

Die Ergebnisse zeigen keine aussagekräftigen Änderungen in der elektrischen Leistung und in Gas- und Elektronentemperatur. Zudem weisen die Werte starke Schwankungen auf. Einzig in der elektrischen Leistung des NanoCube lässt sich mit steigender Luftfeuchte eine Tendenz hin zu geringerer Leistung erkennen.

Der Ladungstransfer, bzw. die elektrische Leistung sinkt bei beidseitig dielektrisch behinderter Entladung mit sinkender Anzahl der Filamente, auch wenn der Ladungsübertrag pro Einzel filament steigt. Begründet ist dies in einer Aufweitung der Dielektrika und damit in der Reduktion des Oberflächenwiderstandes, bzw. einem Anstieg der effektiven Kapazität der Dielektrika [77]. Die Entladungscharakteristik der CP 100 war bereits bei 30% r.F. mit relativ wenigen Mikroentladungen stark filamentiert, so dass kaum noch eine Änderung hin zu 90% r.F. zu beobachten war. Beim NanoCube war eine Änderung in der Charakteristik hin zu einer stärkeren Filamentierung festzustellen, so dass sich die unveränderte elektrische Leistung bei der CP 100 bzw. die Abnahme der Leistung mit steigender Luftfeuchtigkeit beim NanoCube begründen lässt.

Die starken Schwankungen der Ergebnisse aus der optischen Emissionsspektroskopie können durch die lichtschwachen Entladungen erklärt werden. Wegen der geringen Emission waren trotz Integrationszeiten von 2000 s nur geringe Intensitäten zu messen. Die aufgezeichneten Spektren wiesen daher ein ungünstiges Signal-/Rauschverhältnis auf, das bereits Einfluss auf das Ergebnis haben könnte. Ob mit steigender Luftfeuchte eine Veränderung in Gas- und Elektronentemperatur eintritt, konnte so aufgrund der hohen Schwankungsbreite innerhalb der durchgeführten Messungen nicht geklärt werden.

## 4 Chemische Charakterisierung

In diesem Abschnitt werden typische Spezies, die in der Gasentladung auftreten und die auf der Agaroberfläche gebildet werden, charakterisiert. In einem Luftplasma treten eine Vielzahl von Sauerstoffspezies und Stickoxiden sowie beim Vorhandensein von Wasser OH-Radikale auf [80]. Insbesondere wird Ozon ( $O_3$ ) produziert, das als Oxidans auch eine desinfizierende Wirkung hat. Mit steigender Temperatur im Plasma sinkt die Ozonkonzentration und die Bildung von Stickoxiden steigt [81]. Besonders das Stickstoffmonoxid (NO) ist biologisch wirksam. Es ist wie das Ozon toxisch, hat darüber hinaus aber auch einen positiven Einfluss auf die Wundheilung [82]. Daher wurden Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentrationen in der Gasentladung durch Absorptionsspektroskopie bestimmt.

Zur Bewertung der hier durchgeführten biologischen Untersuchungen wurden chemische Veränderungen auf der Agaroberfläche analysiert. Aufgrund der Stickoxide im Plasma wurde die Oberfläche auf das Vorhandensein von Salpetersäure ( $HNO_3$ ) und salpetriger Säure ( $HNO_2$ ) getestet. Dazu wurde ein Verfahren eingesetzt, das über Reflektometrie Nitrat, bzw. Nitrit auf der Agaroberfläche nachweist. Damit einhergehend wurde der pH-Wert der Oberfläche bestimmt. Da durch den hohen Wassergehalt des Agar mit einer erhöhten Anzahl Wassermoleküle im Entladungsspalt und damit einer beachtenswerten Anzahl OH-Radikale zu rechnen war, wurde die Wasserstoffperoxidkonzentration ( $H_2O_2$ ) gemessen. Diese Messung erfolgte ebenfalls mit einem reflektometrischen Verfahren.

### 4.1 Absorptionsspektroskopie

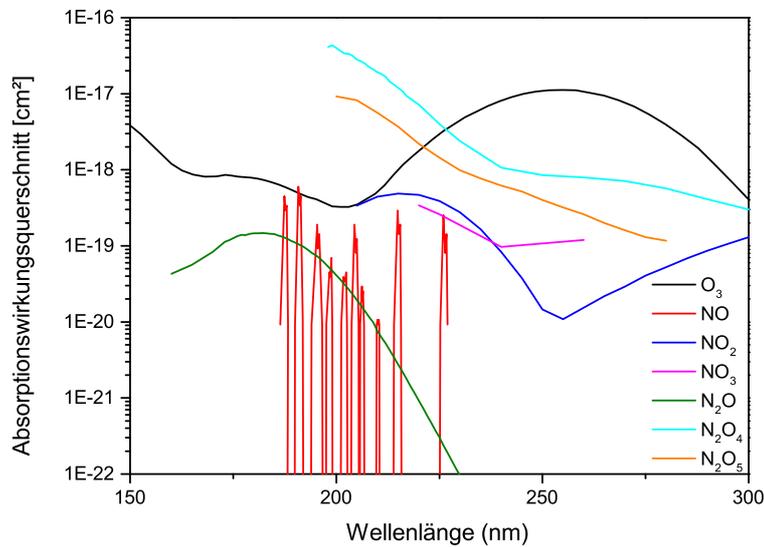
Die Absorptionsspektroskopie ist ein wichtiges Hilfsmittel in der Plasmadiagnostik zur Feststellung und Quantifizierung von Spezies in der Entladung. Das zu untersuchende Medium wird mit einer spezifischen Lichtquelle durchstrahlt und die Intensitätsänderung gemessen, die durch die Absorption im Medium eintritt. Die Bestimmung der Stoffkonzentrationen erfolgt mit Hilfe des Lambert-Beerschen-Gesetzes

$$I = I_0 \cdot e^{-\sigma^* \cdot c \cdot d}, \quad (4.1)$$

das die exponentielle Abhängigkeit der Intensität  $I$  vom Absorptionswirkungsquerschnitt  $\sigma^*$ , der Konzentration des absorbierenden Mediums  $c$  und der Absorptionsstrecke  $d$  beschreibt.  $I_0$  ist die Anfangsintensität vor dem Durchtritt durch das Medium. Absorptionskoeffizienten, bzw. Absorptionswirkungsquerschnitte werden üblicherweise über den dekadischen Logarithmus definiert:

$$\sigma = \lg(e)\sigma^* \approx 0,434\sigma^*. \quad (4.2)$$

Absorptionswirkungsquerschnitte für typische, im Plasma vorkommende Spezies sind in Abbildung 4.1 dargestellt.



**Abbildung 4.1:** Absorptionswirkungsquerschnitte für typische Spezies im Luftplasma (nach [83])

Zur Bestimmung der Stoffkonzentration wird Gleichung (4.1) umgeformt, so dass sich

$$c = \frac{-\ln \frac{I}{I_0}}{\sigma^* \cdot d}, \quad (4.3)$$

bzw.

$$c = \frac{-\lg \frac{I}{I_0}}{\sigma \cdot d} \quad (4.4)$$

ergibt. Um die Konzentration in den üblichen „parts per million“ [ppm] statt in der Einheit  $[1/\text{cm}^3]$  anzugeben, wurde das Ergebnis mit der Gesamtzahl Luftmoleküle pro Volumen bei Umgebungsbedingungen ins Verhältnis gesetzt.

Der Messaufbau und das Messprinzip sind schematisch in Abbildung 4.2 dargestellt. Als Gegenelektrode diente ein Stück Agar, das direkt auf eine geerdete Aluminiumplatte aufgebracht wurde.

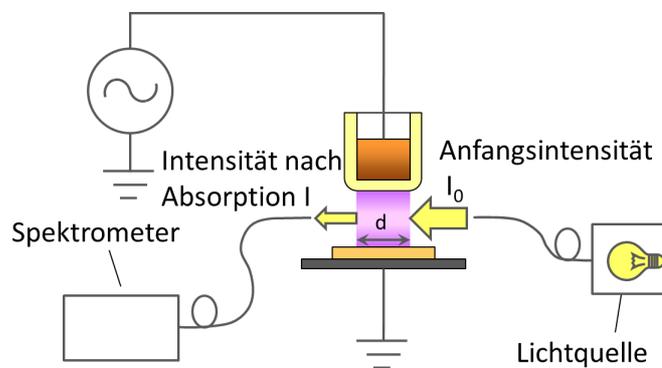


Abbildung 4.2: Schematischer Messaufbau für die Absorptionsspektroskopie

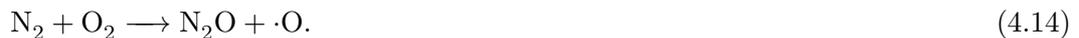
#### 4.1.1 Bestimmung der Ozonkonzentration

Ozon ist ein typisches Reaktionsprodukt einer DBD mit als Arbeitsgas eingesetzter Umgebungsluft. Es entsteht, wenn Sauerstoffmoleküle durch Stöße mit ausreichend energiereichen Elektronen dissoziiert werden. Die Dissoziationsenergie von Sauerstoff beträgt 7,1 eV. Dabei entsteht Ozon durch eine Reaktion eines O-Atoms, eines  $\text{O}_2$ -Moleküls und eines zusätzlichen Stoßpartners [84]. Die maximale Ozonkonzentration ist dabei selbst in einem reinen Sauerstoffplasma begrenzt, da die O-Atome mit sich selbst reagieren oder  $\text{O}_3$ -Moleküle zerstören können. Zusätzlich ist eine Dissoziation von  $\text{O}_3$ -Molekülen durch Elektronenstoß möglich [14]. Diese Reaktionen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

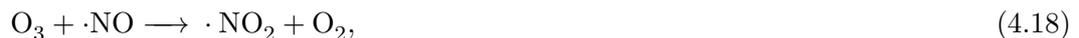




Neben der Dissoziation von  $\text{O}_2$ -Molekülen tragen auch Anregung und Dissoziation von  $\text{N}_2$ -Molekülen zur Entstehung von O-Atomen bei. Folgende Reaktionen sind dabei möglich:



Es werden jedoch gleichzeitig Stickoxide wie z.B.  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  und  $\text{N}_2\text{O}_3$  gebildet, die ebenfalls mit O-Atomen und Ozon reagieren und so zur Verminderung der  $\text{O}_3$ -Konzentration beitragen. Einige Reaktionen dazu sind:



In Abbildung 4.3 sind die relativen Teilchendichten typischer Plasmaspezies in einer DBD in Luft über die Zeit aufgetragen. Die Lebensdauer von Ozon ist verhältnismäßig lang und kann mehrere Minuten betragen.

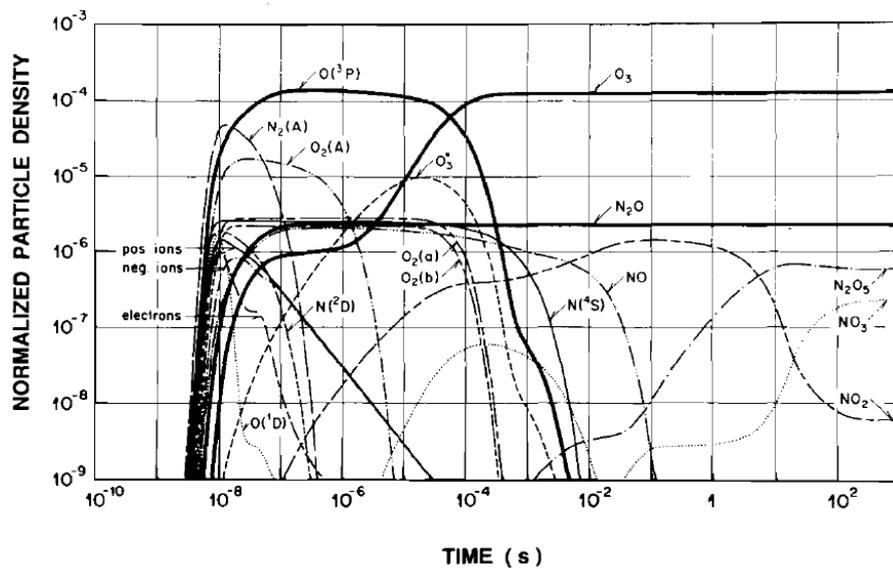
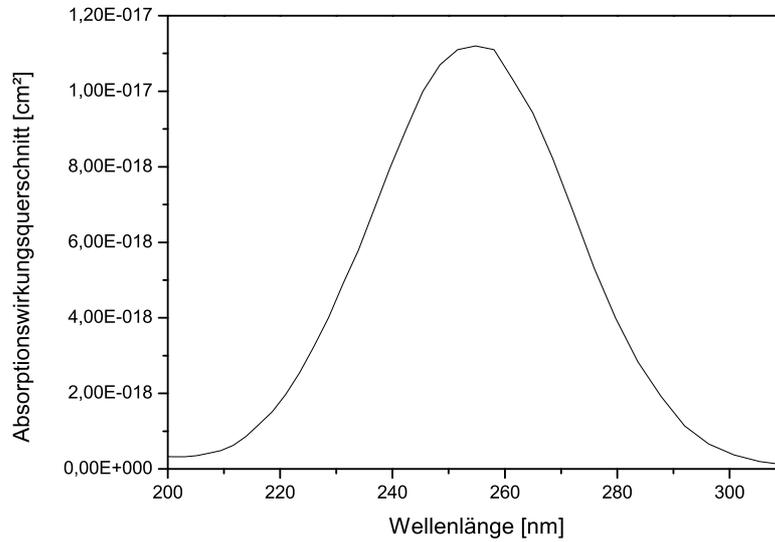


Abbildung 4.3: Simulierte Teilchendichten typischer Spezies im Luftplasma [67]

Auch eine erhöhte Luftfeuchte verursacht eine Abnahme der  $O_3$ -Konzentration, da die aus  $H_2O$ -Molekülen durch Elektronenstoß gebildeten OH-Radikale mit Ozon zu  $HO_2$ -Radikalen reagieren. Diese reagieren ebenfalls mit Ozon weiter und tragen so zum Abbau bei [14]. Zusätzlich wird die  $O_3$ -Konzentration stark durch die Temperatur beeinflusst. Mit steigender Temperatur zerfällt Ozon zunehmend und die Konzentration von Stickoxiden steigt. Die  $O_3$ -Konzentration sinkt noch schneller, bis sie letztendlich kaum mehr messbar ist [14]. Bei unterschiedlichen Umgebungsbedingungen kann die Ozonkonzentration also stark variieren. In [85] werden z.B für 0% r.F. Halbwertzeiten von 1524 min bei 24 °C und 796 min bei 40 °C angegeben. Beträgt die Luftfeuchte 87% r.F. sinkt die Halbwertzeit bei 24 °C auf 451 min.

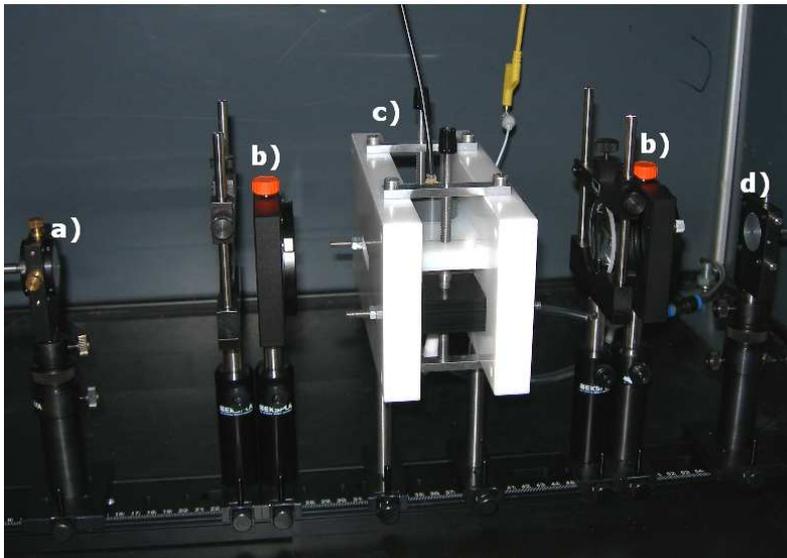
Über die Leistung lässt sich also die Konzentration der Plasmaspezies von Ozon hin zu Stickoxiden oder umgekehrt beeinflussen.

Die Bestimmung der Ozonkonzentration erfolgte über die Absorption des eingestrahlt Lichtes bei 254 nm. Hier befindet sich das Absorptionsmaximum der sogenannten Hartley-Bande von Ozon (siehe Abbildung 4.4). Außerdem konnte dort der Einfluss anderer absorbierender Spezies, die das Ergebnis verfälschen könnten, vernachlässigt werden, da die Absorption von Ozon eine Größenordnung über der Absorption des nächsten Spezies ( $N_2O_4$ ) liegt (siehe Abbildung 4.1) und die Teilchendichte von Ozon nach Abbildung 4.3 fast zwei Größenordnungen höher ist als die der nächsthäufigsten Spezies. Der Absorptionswirkungsquerschnitt  $\sigma^*$  bei 254 nm beträgt  $1,12 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^2$ .



**Abbildung 4.4:** Absorptionswirkungsquerschnitt von Ozon [83]

Der Messaufbau ist in Abbildung 4.5 dargestellt und in [86] im Detail beschrieben. Von der linken Seite wurde das Licht über eine Faser eingekoppelt. Auf der rechten Seite befand sich das Spektrometer. Jede Messung wurde 3 mal wiederholt.



**Abbildung 4.5:** Messaufbau zur Bestimmung der Ozonkonzentration, a) Faser zur Lampe, b) Kollimationslinsen, c) Messkammer, d) Faser zum Spektrometer

Folgende Komponenten wurden zur Messung eingesetzt:

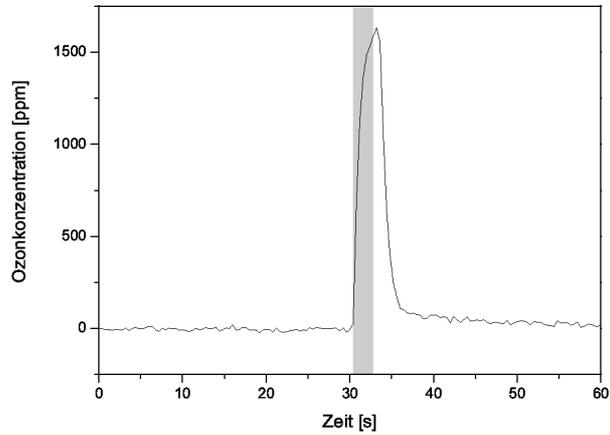
- Lichtquelle: Es wurde eine 9 Watt-Niederdruck-Quecksilberdampflampe (Philips) eingesetzt. Das Emissionsmaximum dieser Lampe liegt bei 253,4 nm und stimmt somit sehr gut mit dem Absorptionsmaximum der Hartley-Bande des Ozons überein.
- Optischer Aufbau: Über zwei Bikonvex-Linsen aus Quarzglas und zwei Lochblenden wurden die Lichtstrahlen, die divergent aus der ersten Faser austraten, kollimiert und nach dem Durchstrahlen der Messkammer auf die zweite Faser fokussiert, die das Licht zum Spektrometer führte. Die Lochblenden wurden auf 20 mm Durchmesser eingestellt, welches dem Durchmesser der Plasmaelektrode und damit der Breite des Entladungsraumes entspricht. Damit wurde der gesamte zu erfassende Bereich mit der Strahlungsquelle ausgeleuchtet. Der Aufbau befand sich aus Strahlenschutzgründen innerhalb einer optisch abgeschlossenen Kammer.
- Spektrometer: Zum Einsatz kam das Spektrometer EPP 2000 UV (StellarNet Inc.) mit einem Spektralbereich von 190- 850 nm. Die Integrationszeit betrug 400 ms.

In Abbildung 4.6 sind die Ozonkonzentrationen im Entladungsraum beispielhaft für 2 s und 60 s Plasmadauer dargestellt. Die maximalen Werte dazu sind in Tabelle 4.1 aufgelistet.

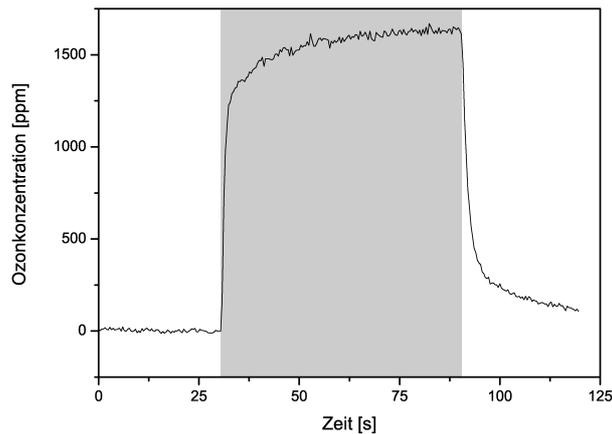
**Tabelle 4.1:** Ozonkonzentration bei 2 s und 60 s Plasmadauer gemittelt über den gesamten Entladungsraum

<b>Plasmaquelle</b>	<b>2 s Plasma</b>	<b>60 s Plasma</b>
<i>CP 100</i>	245 ppm $\pm$ 5,9 ppm	293 ppm $\pm$ 38,7 ppm
<i>NanoCube</i>	1372 ppm $\pm$ 255,0 ppm	1673 ppm $\pm$ 20,7 ppm

Bereits nach 2 s Plasmadauer näherte sich die Ozonkonzentration ihrem Maximalwert. Ein Gleichgewichtszustand wurde nach annähernd 30 s erreicht. Außerdem ist aus den Werten ablesbar, dass nicht nur die eingekoppelte Leistung, sondern auch die Eigenschaften des Plasma starken Einfluss auf die Ozonkonzentration haben. Trotz annähernd gleicher elektrischer Leistung beider Quellen war die Ozonkonzentration des NanoCube über fünf Mal höher als die der CP 100. Folgende Erklärungen lassen sich zu diesem deutlichen Unterschied finden: Nur in den Entladungsfilamenten wurde Ozon gebildet, so dass bei der CP 100 das geringe Verhältnis von „ozonhaltigen“ Filamenten zu „ozonfreien“ Bereichen zu einer niedrigen Konzentration führt. Es wäre aber zu erwarten, dass sich das Ozon bei längerer Messdauer im gesamten Messbereich ausbreitet und letztendlich gegen einen höheren Wert läuft. Daher ist es wahrscheinlicher, dass die Temperatur in den Filamenten der CP 100 sehr hoch ist, das Ozon dadurch bereits zerstört wurde und eine Verschiebung zu höheren Stickoxidkonzentration stattgefunden hat.



(a) NanoCube 2 s

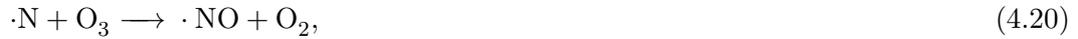


(b) NanoCube 60 s

**Abbildung 4.6:** Ozonkonzentration in der Gasentladung des NanoCube bei a) 2 s und b) 60 s Plasmadauer (grau unterlegter Bereich: eingeschaltetes Plasma)

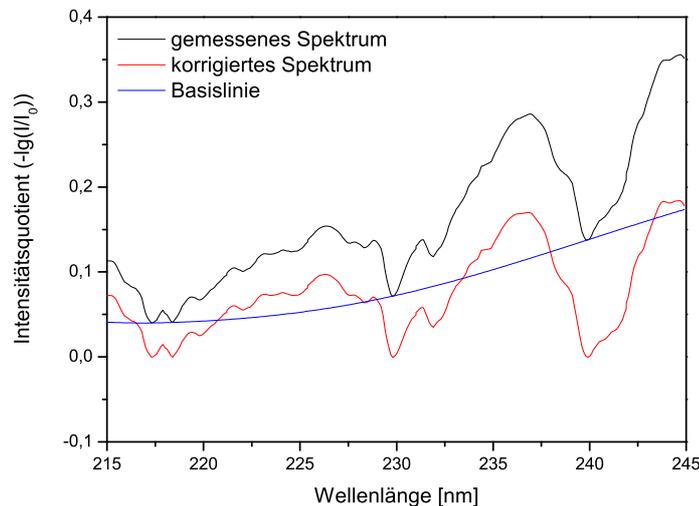
#### 4.1.2 Bestimmung der Stickstoffmonoxidkonzentration

Wie bereits im vorhergehenden Kapitel beschrieben, ist auch Stickstoffmonoxid ein charakteristisches Molekül im Luftplasma, das neben anderen Stickoxiden anzutreffen ist und dessen Konzentration stark temperaturabhängig ist. Neben Gleichungen (4.10) und (4.16) zeigen auch folgende Reaktionen mögliche Wege zur Entstehung von Stickstoffmonoxid:



Die Lebensdauer von Stickstoffmonoxid liegt im Bereich weniger Sekunden, d.h. es reagiert nach kurzer Zeit weiter. Die Gleichungen dazu sind u.a. (4.11), (4.15) und (4.18).

Die Bestimmung der Stickstoffmonoxidkonzentration erfolgte über die Absorption des eingestrahnten Lichtes bei 226,2 nm. Dort befindet sich ein Absorptionsmaximum des Stickstoffmonoxid (siehe Abbildung 4.1). Der Absorptionswirkungsquerschnitt wurde mit einem Testgas bestimmt und liegt dort bei  $\sigma = 8,12 \cdot 10^{-19} \text{ cm}^2$ . Wie aus Abbildung 4.1 ersichtlich, existieren bei einer Wellenlänge von 226,2 nm eine ganze Reihe absorbierender Spezies, die bei der Konzentrationsbestimmung nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz berücksichtigt werden müssten. Die Absorptionswirkungsquerschnitte dieser Spezies verlaufen jedoch im Gegensatz zum Stickstoffmonoxid im Bereich von 200-250 nm kontinuierlich, so dass ihre Absorption im Bereich der Stickstoffmonoxid-Minima annähernd gleich stark ist wie im Bereich der Stickstoffmonoxid-Maxima. Es wurden daher die Intensitätsquotienten  $-\lg \frac{I}{I_0}$  in den Stickstoffmonoxid-Minima bestimmt, die neben der zur Konzentrationsbestimmung verwendeten Wellenlänge von 226,2 nm liegen. Aus diesen Quotienten wurde eine Basislinie erzeugt, die vom gemessenen Spektrum subtrahiert wurde. Nach dieser Korrektur bildet die Intensitätsänderung bei 226,2 nm also nur die Absorption durch Stickstoffmonoxid ab. Die Basislinien-Korrektur ist in Abbildung 4.7 dargestellt.

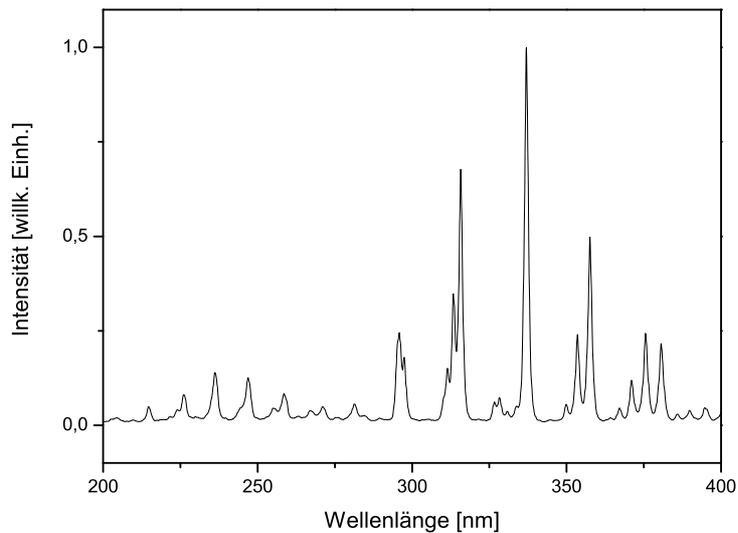


**Abbildung 4.7:** Gemessenes Spektrum und Spektrum nach Basislinien-Korrektur

Eine detaillierte Beschreibung zur Korrektur und zur Messung ist in [87] zu finden. Jede Messung wurde 5 mal wiederholt.

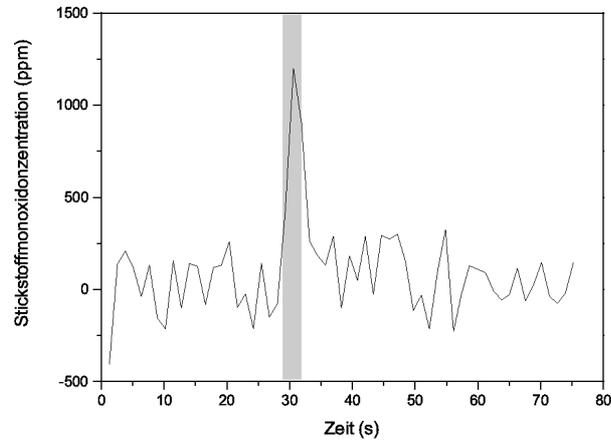
Der Messaufbau setzte sich aus folgenden Komponenten zusammen:

- Lichtquelle: Es wurde eine elektrodenlose Entladungslampe (Analytical Control Instruments), gefüllt mit Stickstoff und Sauerstoff, eingesetzt. Zwischen 200 nm und 290 nm emittiert diese Lampe Licht von angeregtem NO, das Spektrum darüber wird durch angeregtes  $N_2$  und  $N_2^+$  erzeugt. Das Spektrum dieser Lampe ist in Abbildung 4.8 dargestellt.
- Messkammer: Der Messaufbau befand sich aus Strahlenschutzgründen innerhalb einer optisch abgeschlossenen Kammer.
- Spektrometer: Es wurde auch für diese Messungen das Spektrometer EPP 2000 UV (StellarNet Inc.) eingesetzt. Die Integrationszeit variierte je nach Plasmadauer und betrug 500 ms bei 2 s Plasma und 5000 ms bei 60 s Plasma.

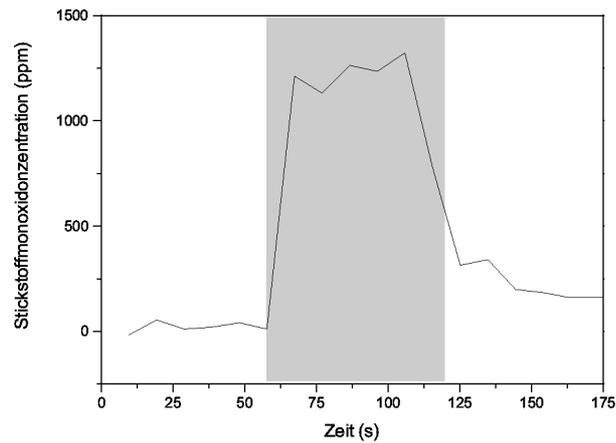


**Abbildung 4.8:** Emissionsspektrum der elektrodenlosen Entladungslampe

In Abbildung 4.9 sind beispielhaft die Stickstoffmonoxidkonzentrationen bei 2 s und 60 s Plasmadauer dargestellt. Alle maximalen Werte sind in Tabelle 4.2 aufgeführt.



(a) NanoCube 2 s



(b) NanoCube 60 s

**Abbildung 4.9:** Stickstoffmonoxidkonzentrationen in der Gasentladung des NanoCube bei a) 2 s und b) 60 s Plasmadauer (grau unterlegter Bereich: eingeschaltetes Plasma)

**Tabelle 4.2:** Stickstoffmonoxidkonzentration in der Entladung bei 2 s und 60 s Plasmadauer

Plasmaquelle	2 s Plasma	60 s Plasma
<i>CP 100</i>	(264 ppm $\pm$ 102,6 ppm)	174 ppm $\pm$ 34,5 ppm
<i>NanoCube</i>	1129,3 ppm $\pm$ 184 ppm	1117 ppm $\pm$ 91,4 ppm

Es zeigt sich damit, dass die Stickstoffmonoxidkonzentrationen in der gleichen Größenordnung wie die Ozonkonzentration lag und dass die Maximalwerte bereits nach 2 s erreicht wurden. Die Messung der CP 100 bei 2 s Plasmadauer ist dabei jedoch kritisch zu hinterfragen. Sie deutet zwar auf einen Anstieg der Stickstoffmonoxidkonzentrationen auf ca. 260 ppm hin, weist aber sehr hohe Schwankungen auf und zeigt keinen charakteristischen Abfall der Konzentration nach dem Ausschalten der Plasmaquelle. Die starken Schwankungen lassen sich auch hier durch die geringe Intensität der Lichtquelle erklären, was bei der kurzen Integrationszeit von 500 ms zu einem schlechten Signal-/Rauschverhältnis führt. So zeigt auch das Ergebnis des NanoCube bei 2 s Plasmadauer eine hohe Schwankungsbreite. Diese Ergebnisse ließen sich durch eine stärkere Lichtquelle oder einen optimierten Messaufbau verbessern.

Zusammenfassend betrachtet ist die Annahme, dass bei der CP 100 auf Grund höherer Temperaturen in den Entladungsfilamenten eine Verschiebung von einer hohen Ozonkonzentration hin zu Stickstoffmonoxid erfolgt ist, so nicht mehr haltbar. Vielmehr scheint der NanoCube deutlich effektiver in der Erzeugung wirksamer Spezies zu sein. Begründet werden kann dies durch ein insgesamt größeres Plasmavolumen, das beim NanoCube durch die vielen Filamente im Grunde den gesamten Entladungsraum ausfüllt und nicht wie bei der CP 100 auf wenige Filamente beschränkt ist. Dieses Ergebnis bestärkt die in Kapitel 3.4.2 getroffene Vermutung, dass tatsächlich die mittlere Elektronenenergie im gesamten Entladungsraum beim NanoCube höher ist als bei der CP 100 und somit eine vermehrte Bildung angeregter Spezies, Ionen und Radikale auftritt.

Im Hinblick auf die Gesundheitsschädlichkeit und die Einhaltung gesetzlich festgelegter Grenzwerten von Ozon und Stickstoffmonoxid wurde mit der CP 100 für Ozon eine Messung außerhalb des Plasmabereiches mit dem Ozonmessgerät Ozon Switch (Eco Sensors) durchgeführt. Demnach fällt bereits ab einem Abstand von 12 mm von der Entladung die Ozonkonzentration unter den zuletzt gültigen MAK-Wert<sup>1</sup> von 0,1 ppm [88]. Da Stickstoffmonoxid noch einmal deutlich schneller zerfällt als Ozon, ist davon auszugehen, dass der MAK-Wert für Stickstoffmonoxid von 25 ppm ebenfalls in geringem Abstand erreicht wird. Dies wurde in vorliegender Arbeit nicht untersucht und ist daher noch in Messungen zu verifizieren.

## 4.2 Messung des pH-Wertes

Typischerweise geht mit der Plasmabehandlung von wasserhaltigen Oberflächen eine Absenkung des pH-Wertes einher [89]. Daher wurde dieser Wert auf der Oberfläche unbehandelter

---

<sup>1</sup> MAK = maximale Arbeitsplatzkonzentration, gültig bis 2005. Die Grenzwerte von Ozon und Stickstoffmonoxid befinden sich derzeit auf der Bearbeitungsliste des Ausschusses für Gefahrstoffe (AGS - UA III „Gefahrstoffbewertung“) zur Übernahme in die Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS 900), in der die derzeit gültigen Arbeitsplatzgrenzwerte (AGW) geführt werden

CASO-Agarplatten, sowie direkt nach der Plasmabehandlung und nach weiteren 120 min bestimmt. Es wurde also untersucht, in wie weit durch die Plasmabehandlung Säuren in den Agar eingetragen wurden, die dann durch Dissoziation Wasserstoffionen an das Wasser abgegeben haben. Diese Wasserstoffionen lagern sich an Wassermoleküle an und bilden Oxoniumionen ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ). In Näherung lässt sich über den pH-Wert die Konzentration dieser Ionen in Mol pro Liter bestimmen:

$$pH \approx -\log \left( c_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot \frac{1}{\text{mol}} \right). \quad (4.22)$$

Die Messung wurde potentiometrisch mit der Glaselektrode des Derma Unit SSC 3 (Courage and Khazaka electronic Ltd.) auf den ungepufferten CASO-Agarplatten Merckoplate<sup>®</sup> durchgeführt. Um festzustellen, ob eine pH-Wert-Änderung auch außerhalb des direkt mit Plasma beaufschlagten Bereiches auftrat, wurde der Wert jeweils 5 mal innerhalb und außerhalb der plasmabehandelten Fläche gemessen. Auch hier wurden die CP 100 und der NanoCube mit jeweils 2 s und 60 s Plasmadauer eingesetzt. Die pH-Wert-Änderungen sind in Tabelle 4.3 aufgeführt.

**Tabelle 4.3:** pH-Werte nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche

Plasmaquelle	Behandlungsdauer	Bereich	Kontrolle	nach Plasma	nach 120 min
CP 100	2 s	innerhalb	7,08 ± 0,13	7,12 ± 0,08	7,12 ± 0,18
		außerhalb		7,16 ± 0,05	7,2 ± 0
	60 s	innerhalb		6,68 ± 0,11	7,08 ± 0,04
		außerhalb		7,08 ± 0,04	7,16 ± 0,05
NanoCube	2 s	innerhalb	7,08 ± 0,13	7,02 ± 0,04	7,22 ± 0,04
		außerhalb		7,1 ± 0,07	7,18 ± 0,04
	60 s	innerhalb		5,74 ± 0,13	6,98 ± 0,22
		außerhalb		6,76 ± 0,18	7,16 ± 0,05

Die Ergebnisse machen deutlich, dass keine der beiden Quellen nach 2 s Behandlung eine Einsäuerung der Agaroberfläche hervorruft. Selbst nach 60 s Plasmaeinwirkung durch die CP 100 war der pH-Wert auf der Oberfläche nur minimal abgesenkt, außerhalb des behandelten Bereiches war keine Veränderung festzustellen. Der NanoCube senkte den pH-Wert nach 60 s auf 5,74, was einer ( $\text{H}_3\text{O}^+$ )-Konzentration von 0,0018 mmol/l entspricht. Auch außerhalb des behandelten Bereiches war hier eine schwache Einsäuerung zu messen. Dieser Effekt kann zum einen durch eine Ausbreitung der angeregten und reaktiven Spezies in der Luft, zum anderen durch Diffusionsprozesse im Agar hervorgerufen worden sein. Nach zwei Stunden lagen

bereits alle Werte wieder um pH 7, die Einsäuerung ist also zeitlich begrenzt und reversibel. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass selbst bei einer Plasmabehandlung von 60 s nur eine geringe Einsäuerung der CASO-Agaroberfläche eintritt, die keine oder nur eine sehr geringe Wirkung auf die im folgenden Kapitel untersuchten Mikroorganismen erwarten lässt. Insgesamt ist der NanoCube jedoch effektiver in der Absenkung des pH-Wertes, was die in Kapitel 4.1.2 getroffenen Annahmen des größeren Entladungsraumes und einer verstärkten Bildung von Ionen, angeregter Spezies und Radikale unterstützt.

## 4.3 Reflektometrie

Die chemischen Veränderungen der CASO-Agaroberfläche wurde mit Hilfe des Reflektometers RQflex® 10 Reflectoquant® (Merck Millipore) durchgeführt. Die Messungen erfolgen bei diesem Gerät über einen Farbumschlag geeigneter Reagenzien auf Teststreifen. Diese werden nach dem Kontakt mit der zu testenden Substanz in das Gerät gesteckt und gegen eine Referenzfläche vermessen. Auch bei diesen Untersuchungen wurden jeweils 5 CASO-Agarplatten verwendet und der Wert nach 2 s und nach 60 s Plasmabehandlung mit der CP 100 und dem NanoCube innerhalb und außerhalb der behandelten Fläche gemessen.

### 4.3.1 Bestimmung der Nitrit- und Nitratkonzentration

Aufgrund der geringen pH-Wert-Absenkung waren keine hohen Säure-Konzentrationen zu erwarten. Am wahrscheinlichsten ist jedoch durch die im Plasma gebildeten Stickoxide ein Auftreten von salpetriger Säure und Salpetersäure auf der CASO-Agaroberfläche. Daher wurden die Oberflächen auf diese Säuren untersucht. Über folgende Reaktionen können diese Säuren in wässrigen Lösungen gebildet werden (CASO-Agar besitzt einen Wassergehalt von über 90%, es kann also mit einer solchen gleichgesetzt werden):



Die Reaktionen laufen bereits teilweise in der Gasphase ab, teilweise finden sie im Agar statt. Es sind temperaturabhängige Gleichgewichtsreaktionen. Die geringe Temperaturdifferenz durch die Plasmabehandlung verschiebt dieses Gleichgewicht jedoch nicht entscheidend.

In Wasser liegen die salpetrige Säure teilweise und die Salpetersäure vollständig dissoziiert vor, so dass die Nitrit- bzw. die Nitratkonzentration der CASO-Agaroberfläche bestimmt wurden. Die Nitritkonzentration wurde wie vorhergehend beschrieben mit Hilfe der Teststreifen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.4 aufgeführt.

**Tabelle 4.4:** Nitritkonzentration in [mmol/l] nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche

Plasmaquelle	Behandlungsdauer	Bereich	Kontrolle	nach Plasma
CP 100	2 s	innerhalb	keine Reaktion	<0,011
		außerhalb		keine Reaktion
	60 s	innerhalb		$0,069 \pm 0,010$
		außerhalb		keine Reaktion
NanoCube	2 s	innerhalb	keine Reaktion	<0,011
		außerhalb		keine Reaktion
	60 s	innerhalb		$0,074 \pm 0,006$
		außerhalb		<0,011

Auch die Nitratkonzentration wurde wie beschrieben ermittelt. Da die Teststreifen zur Bestimmung der Nitratkonzentration gegenüber Nitrit querempfindlich sind, wurde unter der Annahme, dass sich der Fehler linear zur Konzentration verhält, eine Korrektur der Werte durchgeführt. Dazu wurde die Nitritkonzentration vom Messergebnis abgezogen. Die Werte sind in Tabelle 4.5 gelistet.

**Tabelle 4.5:** Nitratkonzentration in [mmol/l] nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche

Plasmaquelle	Behandlungsdauer	Bereich	Kontrolle	nach Plasma
CP 100	2 s	innerhalb	keine Reaktion	<0,048
		außerhalb		keine Reaktion
	60 s	innerhalb		$0,374 \pm 0,085$
		außerhalb		keine Reaktion
NanoCube	2 s	innerhalb	keine Reaktion	$0,048 \pm 0,011$
		außerhalb		keine Reaktion
	60 s	innerhalb		$0,79 \pm 0,038$
		außerhalb		<0,048

Wie bereits nach der pH-Wert-Bestimmung zu erwarten, konnte nach 2 s Plasmabehandlung mit keiner der beiden Quellen Säure auf der CASO-Agaroberfläche nachgewiesen werden. Nach 60 s waren geringe Werte zu messen, die beim Nitrit den Grenzwert für Trinkwasser von 0,013 mmol/l ca. 5-6-fach überschritten. Beim Nitrat lag der Wert sogar noch unter dem Grenzwert von 0,81 mmol/l. Auch nach diesen Ergebnissen kann also angenommen werden, dass die Säuren keinen oder nur einen sehr geringen Einfluss auf die Mikroorganismen ausüben. Außerhalb der plasmabehandelten Bereiche waren keine oder nur sehr geringe Konzentrationen zu messen.

Die maximalen Werte (60 s NanoCube) ergeben umgerechnet für Nitrit 1,3 ppm und für Nitrat 14 ppm. Wie in den Gleichungen (4.23) bis (4.26) beschrieben, entstehen diese Moleküle aus den Stickoxiden im Plasma. Insgesamt reagiert also nur ein sehr geringer Teil dieser Stickoxide mit dem Agar, wie die geringen Mengen von Nitrit und Nitrat im Verhältnis der sehr viel höheren Konzentration von NO zeigen. Die deutlichen NO-Konzentrationsunterschiede bei CP 100 und NanoCube lassen sich in der Säurekonzentration nicht wiederfinden. Der Grund kann eine Sättigung beim Entstehen der Säuren auf der CASO-Agaroberfläche sein, die durch langsame Diffusionsprozesse in den Agar hinein hervorgerufen wird.

#### 4.3.2 Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration

Wasserstoffperoxid besitzt eine starke oxidierende Wirkung und ist als Desinfektionsmittel bekannt. Es entsteht im Plasma auf folgende Weise: Beim Vorhandensein von Wasser werden OH-Radikale erzeugt, aus denen  $\text{H}_2\text{O}_2$  gebildet wird. Eine weitere Möglichkeit zur Erzeugung ist die Reaktion von Dioxid(1-)-Anionen mit Protonen:



Auch hier erfolgte die Messung analog den vorher beschriebenen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.6 dargestellt.

**Tabelle 4.6:** Wasserstoffperoxidkonzentration in [mmol/l] nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche

Plasmaquelle	Behandlungsdauer	Bereich	Kontrolle	nach Plasma
<i>CP 100</i>	2 s	innerhalb	keine Reaktion	<0,006
		außerhalb		keine Reaktion
	60 s	innerhalb		0,059 ± 0,016
		außerhalb		keine Reaktion
<i>NanoCube</i>	2 s	innerhalb	keine Reaktion	0,010 ± 0,004
		außerhalb		keine Reaktion
	60 s	innerhalb		0,221 ± 0,033
		außerhalb		<0,006

Wie aus den Ergebnissen abzulesen, wird auch Wasserstoffperoxid durch die Plasmabehandlung auf der CASO-Agaroberfläche erzeugt. Bereits nach 2 s ließen sich geringe Konzentrationen nachweisen. Außerhalb des behandelten Bereiches war erst nach 60 s Behandlung mit dem NanoCube eine Reaktion der Teststäbchen festzustellen. Innerhalb der behandelten Fläche war die Wasserstoffperoxidkonzentration beim NanoCube deutlich höher bei der CP 100. Der Trinkwassergrenzwert von 0,0029 mmol/l wurde hier um ein Vielfaches überschritten, so dass ein Einfluss auf die Mikroorganismen möglich erscheint. Auch hier lassen sich die höheren Konzentrationen beim NanoCube auf eine höhere Effizienz der Quelle zurückführen.

## 5 Mikrobiologische Untersuchungen

In diesem Kapitel wird die Wirkung der beiden Plasmaquellen auf pathogene Mikroorganismen und auf Hautzellen untersucht und verglichen. Dazu wurden gramnegative Bakterien (*Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*), Hefen (*Candida albicans*) und Keratinozyten (HaCaT, (engl: *Human adult Calcium high Temperature keratinocytes*), eine immortalisierte Keratinozyten-Zelllinie) ausgewählt. Diese Zellen wurden verwendet, da die oberste Hautschicht des Menschen zu über 90% aus diesem Zelltyp aufgebaut ist und somit hauptsächlich mit Plasma und seinen Spezies in Kontakt kommt.

Der Einfluss einer Plasmabehandlung auf grampositive Bakterien wurden bereits in [53] untersucht. Um die daraus gewonnen Erkenntnisse zu erweitern, wurde in dieser Arbeit auf die gleichen Auswerteparameter zurückgegriffen. Dazu zählen das Wachstum/ die Inhibition des Wachstums der Mikroorganismen bzw. ein Lebend-/Tod-Vergleich der Keratinozyten. Des Weiteren wurden die Auswirkung der Plasmabehandlung auf die Morphologie und die DNA der Zellen nach der Behandlung untersucht.

### 5.1 Plasmabehandlung von Bakterien und Hefen

*E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* sind weitverbreitete Mikroorganismen, die pathogene Eigenschaften aufweisen können. Es sind opportunistische Erreger, d.h. sie stellen für gesunde Menschen normalerweise keine Gesundheitsgefährdung dar, da die Abwehrkräfte hier stark genug sind, eine massenhafte Vermehrung der Keime zu unterdrücken. Für immungeschwächten Menschen, die unter Umständen bereits an einer anderen Erkrankung leiden, bedeuten sie jedoch eine ernsthafte, teilweise tödliche Gefahr. Sie zählen daher zu den bedeutenden Krankenhauskeimen.

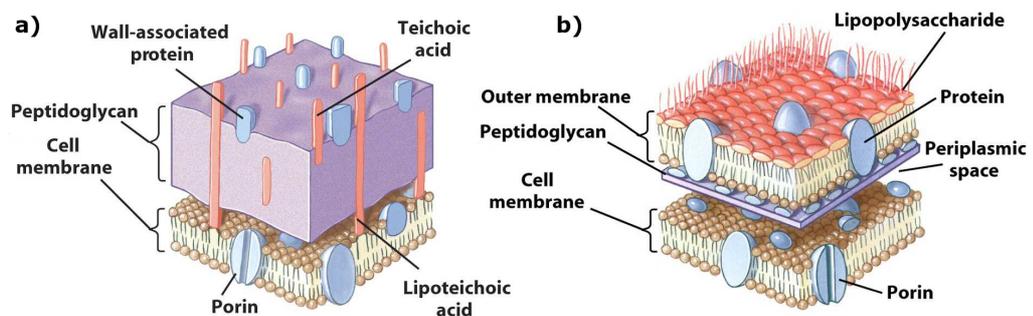
Im folgenden sind die Eigenschaften der untersuchten Organismen kurz beschrieben:

- *E. coli* ist ein stäbchenförmiges, gramnegatives Bakterium mit einer Größe von 2,0 - 6,0  $\mu\text{m}$ . Im Menschen ist es im Darmtrakt vorzufinden. Typischerweise besitzt es keine pathogenen Eigenschaften, es gibt jedoch krankheitserregende Stämme. Als pathogene Eigenschaften sind dann Darm- und Harnwegerkrankungen zu nennen.

- *P. aeruginosa* ist ebenfalls ein stäbchenförmiges, gramnegatives Bakterium. Seine Größe beträgt 2,0 - 4,0 µm. Es ist ein typischer Wasser- und Bodenkeim, der jedoch auch im Darm des Menschen vorkommt. Er kann Lungenentzündungen, Harnweegerkrankungen, Hirnhautentzündungen und Darmerkrankungen hervorrufen und weist teilweise bereits Mehrfachresistenzen gegenüber Antibiotika auf.
- *C. albicans* ist ein Hefepilz, der sowohl in rundlicher Form als auch in Hyphenform, also fadenartig vorliegen kann. In rundlicher Form beträgt die Größe etwa 5 µm. Er kommt beim Menschen auf Schleimhäuten und im Darm, aber auch zwischen Fingern und Zehen und auf den Nägeln vor und kann Kandidosen, also Erkrankungen durch Pilze der Gattung Candida, hervorrufen. Diese Pilzinfektionen können alle besiedelten Bereiche betreffen.

Der Unterschied zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien liegt im Aufbau der Zellwand. Die Zellwand gibt der Zelle ihre Stabilität und erlaubt gleichzeitig einen Austausch lebensnotwendiger Stoffe. Grampositive Bakterien besitzen außerhalb der Zellmembran, die aus einer Doppellipidschicht besteht, eine dicke Zellwand aus Murein (Peptidoglycan). Gramnegative Bakterien haben nur eine dünne Mureinschicht, die bis zu 10 mal dünner als die von grampositiven Bakterien sein kann. Auf dieser Schicht liegt bei gramnegativen Bakterien eine zweite Zellmembran, die sich jedoch von der inneren Membran hinsichtlich Aufbau und chemischer Zusammensetzung unterscheidet (siehe Abbildung 5.1). Daher ist bei gramnegativen Bakterien eine andere Reaktion auf eine Plasmabehandlung möglich als bei grampositiven Bakterien.

Die Zellwand von Hefen besteht u.a. aus Chitin, einem Polysaccharid und verschiedenen Proteinen und dient auch diesen Zellen dazu, ihre Formstabilität aufrecht zu halten. Innerhalb der Zellwand liegt die Zellmembran, die ebenfalls aus Proteinen aufgebaut ist.



**Abbildung 5.1:** Unterschiede im Aufbau der Zellwand bei a) grampositiven und b) gramnegativen Bakterien [90]

Für die Untersuchungen wurden Stämme vom Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, verwendet. *E. coli* (ATCC® 15223) und *P. aeruginosa* (ATCC® 9027) wurden zunächst für 20-24 Stunden bei 37 °C in

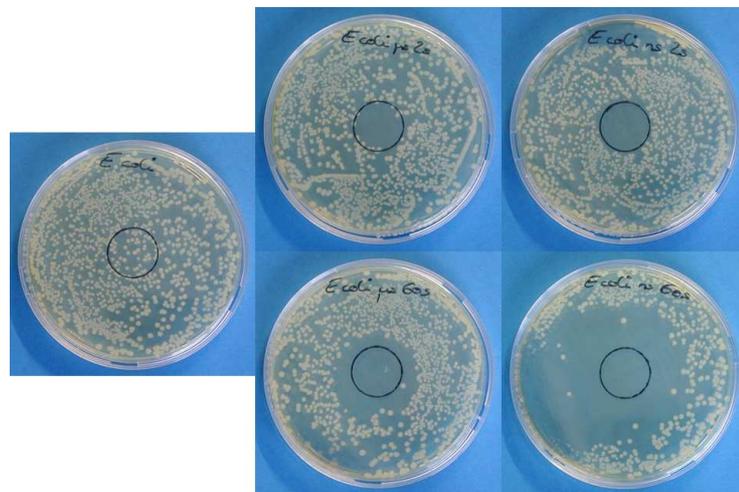
flüssigem CASO-Nährmedium kultiviert, bevor sie über Verdünnungsreihen auf die für die Versuche benötigte Keimzahl eingestellt wurden. *C. albicans* (ATCC® 10231) lag als runde Form vor und wurde vor den Versuchsdurchführungen für 48 Stunden bei 25 °C in Malzextrakt-Bouillon kultiviert. Anschließend erfolgte auch hier über Verdünnungsreihen die Einstellung der erforderlichen Keimzahl, so dass zur Versuchsdurchführung eine einlagige Zellschicht auf dem CASO-Agar vorlag. Die Keimzahlen wurden mit Hilfe einer Thoma-Kammer bestimmt.

Die Plasmabehandlung erfolgte wie bei der physikalischen und chemischen Charakterisierung mit Umgebungsluft als Arbeitsgas. Der Abstand zwischen Elektrode und Mikroorganismen betrug 1 mm. Die Behandlungszeiten lagen bei 2 s und 60 s. Bezogen auf diese Behandlungszeiten ergaben sich Energiedichten von 100 - 270 mJ/cm<sup>2</sup> bzw. 3,0 - 8,1 J/cm<sup>2</sup> bei der CP 100 und 124 - 286 mJ/cm<sup>2</sup> bzw. 3,7 - 8,6 J/cm<sup>2</sup> beim NanoCube.

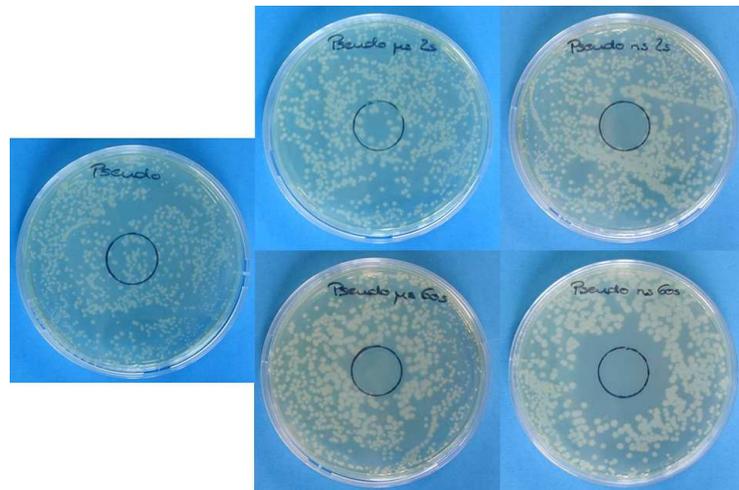
### 5.1.1 Wachstumsinhibition

Bei diesem Versuch wurde untersucht, in wie weit eine direkte Plasmabehandlung der Mikroorganismen Einfluss auf das Wachstum und die Vermehrung der Keime hat. Dazu wurden auf jede Petrischale mit CASO-Agar 100 µl Bouillon mit je 10<sup>3</sup> Keimen aufgebracht, gleichmäßig verteilt und für ca. 2 Stunden antrocknen lassen. Idealerweise sollten nun die Mikroorganismen vereinzelt und mit genügend Abstand voneinander vorliegen, so dass sich aus jedem einzelnen Keim durch Wachstum und Zellteilung eine Kolonie bildet, die mit bloßem Auge erkannt werden und in die Auszählung einfließen kann. Nach der Trocknung erfolgte in der Mitte der Petrischale die Plasmabehandlung (je 2 s und 60 s mit CP 100 und NanoCube). Nach der Plasmabehandlung wurden die Petrischalen für 48 Stunden bei 37 °C inkubiert und dann die Mikroorganismen als koloniebildende Einheiten (KBE) ausgezählt. Jeder Versuch wurde 3 x wiederholt.

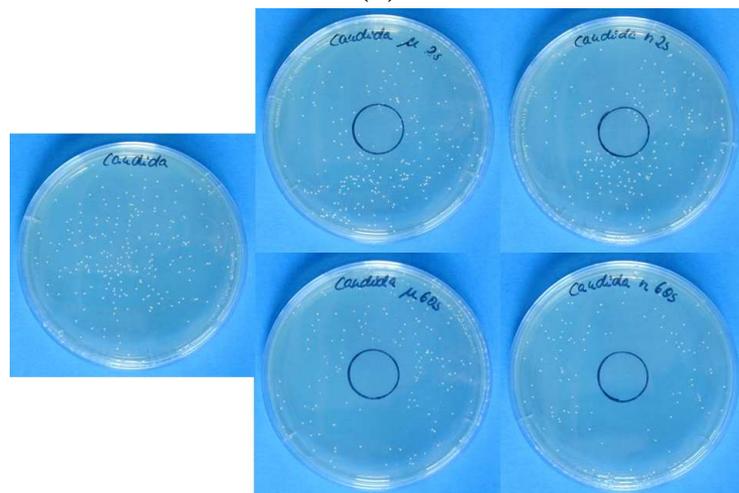
In Abbildung 5.2 sind Fotos der Petrischalen mit den verschiedenen plasmabehandelten Mikroorganismen dargestellt. Auf den darauf folgenden Abbildungen 5.3 werden die Ergebnisse der Auszählung gezeigt. In den Diagrammen auf der linken Seite sind die direkt plasmabehandelten Bereiche abgebildet, auf der rechten Seite die Bereiche außerhalb der behandelten Zone.



(a)



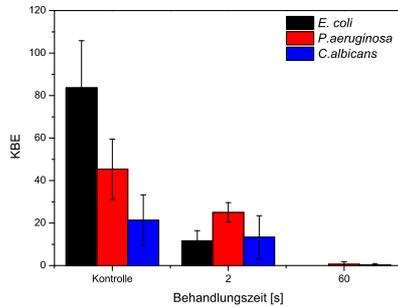
(b)



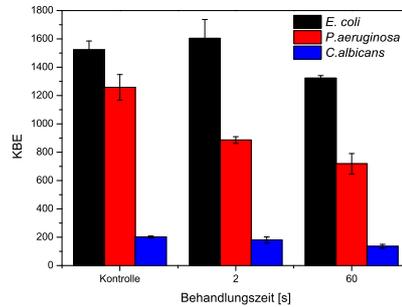
(c)

70 **Abbildung 5.2:** Plasmabehandelte Petrischalen mit a) *E. coli*, b) *P. aeruginosa* und c) *C. albicans*. Links ist die Kontrolle abgebildet, die Petrischalen in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt.

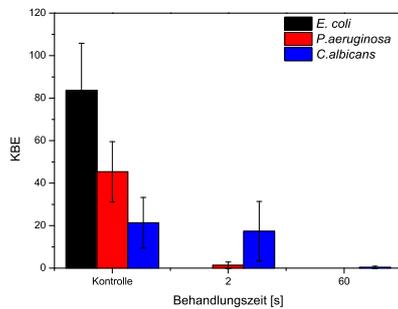
## 5.1 Plasmabehandlung von Bakterien und Hefen



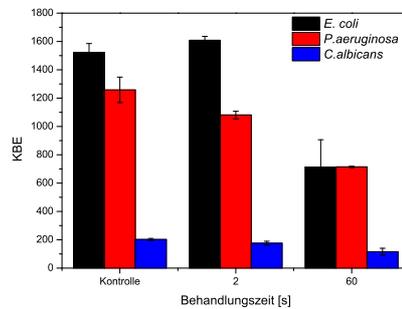
(a) CP 100 innen



(b) CP 100 außen



(c) NanoCube innen



(d) NanoCube außen

**Abbildung 5.3:** Ausgezählte KBE auf CASO-Agar innerhalb und außerhalb des mit CP 100 und NanoCube behandelten Bereichs

Wie zu erkennen ist, zeigte sich auf allen Petrischalen eine Reaktion der Mikroorganismen auf die Plasmabehandlung. Im Anhang ist die Wachstumsinhibition für einen direkten Vergleich untereinander noch einmal prozentual zur Kontrollprobe dargestellt.

Im unmittelbar behandelten Bereich wurde bereits nach 2 s Plasmabehandlung das Wachstum der Bakterien deutlich unterdrückt. Dabei war der NanoCube wirkungsvoller als die CP 100. Im Vergleich der Mikroorganismen zeigte sich die Hefe insgesamt etwas widerstandsfähiger. Hier war die Inhibition des Wachstums nach 2 s Behandlung nicht ganz so deutlich. Nach 60 s war jedoch auch bei *C. albicans* keine KBE mehr in der behandelten Zone zu erkennen. Außerhalb des behandelten Bereiches konnte ebenfalls eine Abnahme der KBE festgestellt werden. Zahlenmäßig zeigte sich hier bis auf die Ergebnisse bei *E. coli* zwischen CP 100 und NanoCube kein signifikanter Unterschied. Beim Betrachten der Fotos wird jedoch besonders beim NanoCube bei allen Mikroorganismen eine deutliche Inhibitionszone rund um den behandelten Bereich sichtbar. Es deutet sich also auch hier eine höhere Effizienz des NanoCube an. Mit dieser Untersuchungsmethode kann allerdings nicht festgestellt werden, ob die Mikroorganismen abgetötet oder nur inaktiviert werden, d.h. dass nur ein verzögertes Wachstum auftritt. Des-

halb wurden die Zellen im nächsten Schritt auf Veränderungen in ihrer Zellstruktur untersucht. Zusätzlich wurde in [91] mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie ein Lebend/Tod-Vergleich der Keime durchgeführt.

### 5.1.2 Morphologie

Um Schäden in der Morphologie der Zellen zu erkennen, wurden die Keime nach der Plasmabehandlung im Rasterelektronenmikroskop (REM) betrachtet. Dazu mussten die Mikroorganismen vakuumtauglich und somit wasserfrei sein und vor dem Einbringen ins Mikroskop zunächst präpariert werden. Dieser Vorgang hatte schonend zu erfolgen um keine nachträglichen Veränderungen in der Zellstruktur zu erzeugen. Die Keime wurden für diesen Prozess abgetötet, falls dies nicht bereits durch die Plasmabehandlung erfolgt ist, chemisch fixiert, entwässert und getrocknet.

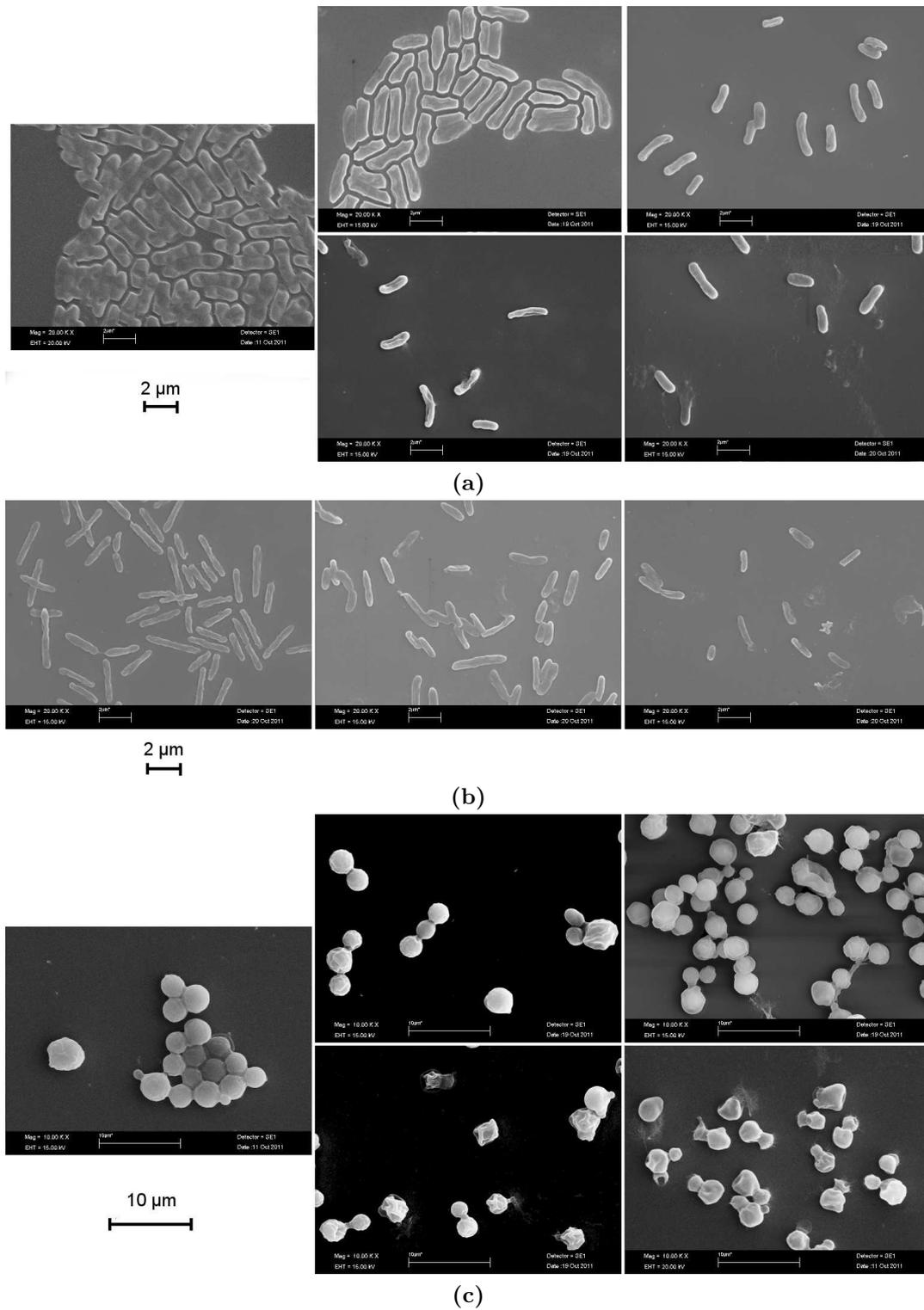
Als Probenträger dienten Mikroskopie-Deckgläschen mit einem Durchmesser von 12 mm. Um die Haftung der Keime auf den Probenträgern zu verbessern, wurden diese zuerst mit Poly-L-Lysin, einem synthetischen Polymer, beschichtet. Dazu wurde auf jedes Deckgläschen 5 µl der Lösung aufgegeben und 10 min einwirken lassen. Die überstehende Flüssigkeit wurde anschließend abgesaugt und das Deckgläschen 2 x mit bidest. Wasser abgespült.

Wie in der vorangegangenen Untersuchung zur Wachstumsinhibition wurde die Mikroorganismen zunächst auf Petrischalen gleichmäßig aufgebracht. Nach kurzer Trocknungszeit wurden sie abgespatelt und auf einem Objektträger in 10 µl NaCl gelöst. Dieser Tropfen konnte nun auf das Deckglas gegeben werden und 10 min antrocknen bevor schließlich die Plasmabehandlung erfolgte (je 2 s und 60 s mit CP 100 und NanoCube). Jede Untersuchung wurde 3x wiederholt. Unmittelbar nach der Behandlung wurde als Fixativ 100 µl Glutaraldehyd-Lösung (2,5% Glutaraldehyd und 0,05 M HEPES-Puffer in bidest. Wasser) hinzugegeben und 1 h einwirken lassen, bevor die Deckgläschen 2 x mit bidest. Wasser abgespült wurden. Zur Entwässerung der Proben diente eine aufsteigende Alkoholreihe (30%, 50%, 70%, 80%, 90% und 2 x 100% Ethanol), in dass die Deckgläschen nacheinander für je 10 min gelegt wurden. Nach dem Entwässern trockneten die Proben an der Luft und verblieben bis zur Beschichtung in einem Exsikkator.

Um die Deckgläschen ins REM einlegen und mikroskopieren zu können, mussten sie im nächsten Schritt auf standardisierte REM-Probeträger aufgeklebt und leitend beschichtet werden. Dazu kam die Sputteranlage Bal-Tec SCD 005, BAL-TEC GmbH, Schalksmühle, zum Einsatz, die eine 10 nm dicke Goldschicht auf die Proben aufbrachte.

Das REM (Leo 420, Leo Electron Microscopy Ltd., Cambridge) wurde mit einem Druck von  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  Pa betrieben und der Elektronenstrahl auf 15 kV, bzw. 20 kV eingestellt. Die Vergrößerung betrug bei den Bakterien 20.000x, bei der Hefe 10.000x. Die Ergebnisse der Plasmabehandlung sind in Abbildung 5.4 dargestellt.

## 5.1 Plasmabehandlung von Bakterien und Hefen



**Abbildung 5.4:** Plasmabehandelte Mikroorganismen (a) *E. coli*, b) *P. aeruginosa* und c) *C. albicans*). Links ist die Kontrolle abgebildet, die Keime in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt (*P. aeruginosa* nur 60 s).

Vom *P. aeruginosa* lagen nicht ausreichend Petrischalen mit Keimen vor, so dass auf eine Plasmabehandlung von 2 s Dauer verzichtet wurde.

Auf den Abbildungen ist zu erkennen, dass alle behandelten Mikroorganismen auf die Plasmabehandlung reagierten. Das Bakterium *E. coli* lag im unbehandelten Zustand in einer Art Zellverband vor, der bereits nach 2 s Behandlung mit der CP 100 Auflösungserscheinungen zeigte. Nach 60 s, bzw. bereits nach 2 s Behandlung mit dem NanoCube waren diese Strukturen vollständig aufgelöst. Es wurden jedoch nach der kurzen Behandlungsdauer bei keiner der beiden Quellen Schädigungen in der Zellstruktur festgestellt. Bei 60 s Plasmabehandlung waren aber bereits deutliche Schädigungen vorhanden. So waren die Zellwände der mit der CP 100 behandelten Zellen an einigen Stellen zerstört, die mit dem NanoCube behandelten Proben wiesen teilweise Zellfragmente und komplett aufgelöste Zellen auf. Die Ergebnisse der behandelten *P. aeruginosa* waren denen der *E. coli* sehr ähnlich. Hier lagen die Keime zwar nicht im Verband vor, die Schäden nach 60 s Plasmabehandlung waren jedoch vergleichbar: Die CP 100 rief nach 60 s partielle Zerstörungen in der Zellwand hervor, während der NanoCube nach 60 s teilweise ganze Zellen in ihrer Struktur auflöste. Die Hefe *C. albicans* zeigte nach 2 s Behandlung mit der CP 100 keine Veränderungen in ihrer Zellstruktur. Der NanoCube verursachte nach 2 s jedoch bereits bei einigen Zellen Defekte in der Zellwand, aus denen der Zellinhalt austrat. Dieser Effekt verstärkte sich nach 60 s Behandlung mit beiden Quellen deutlich, am stärksten war er nach 60 s Plasmabehandlung mit dem NanoCube. Hier waren fast alle Zellen betroffen.

Zusammenfassend lässt sich auch nach diesen Untersuchungen feststellen, dass der NanoCube stärker auf die Mikroorganismen einwirkte als die CP 100. Mögliche Ursachen, die die beobachteten Effekte hervorriefen, werden am Ende von Kapitel 5.1.3 diskutiert.

### 5.1.3 DNA

Neben Schäden in der Zellstruktur wurde außerdem untersucht, ob durch die Plasmabehandlung auch Doppelstrangbrüche in der Erbinformation der Mikroorganismen (engl: *deoxyribonucleic acid*, *DNA*) auftreten. Dazu wurde die Agarose-Gelelektrophorese eingesetzt. Bei dieser Methode wird die extrahierte DNA in Taschen eines Agarose-Gelpads eingefüllt, das in einen Puffer gebettet ist. Durch Anlegen einer Spannung wandern die DNA-Moleküle durch das Gel, wobei die kleineren Moleküle durch ihre geringere Größe bei gleicher Zeit einen weiteren Weg zurücklegen als die größeren Moleküle. Zusätzlich laufen zeitgleich sogenannte DNA-Leitern mit, die festgelegte Strang-Fragmente von DNA enthalten und der Größenbestimmung der Probenstränge dienen. In Abbildung 5.5 ist das Prinzip schematisch dargestellt.

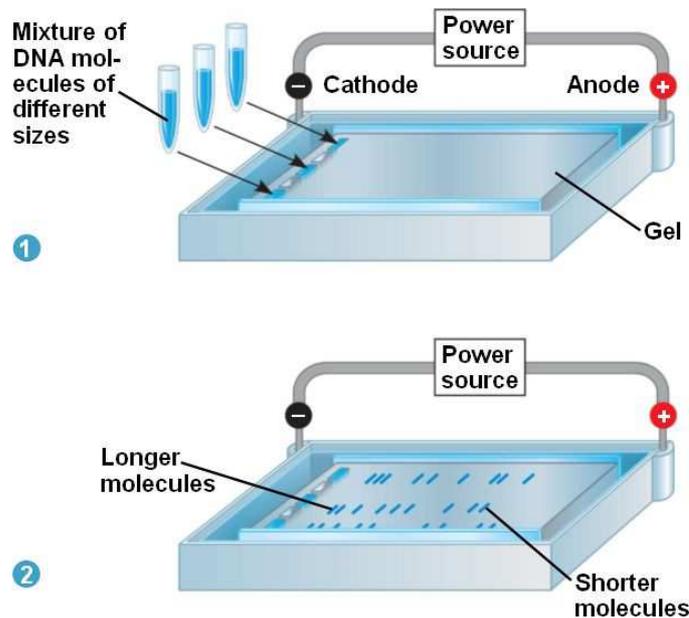
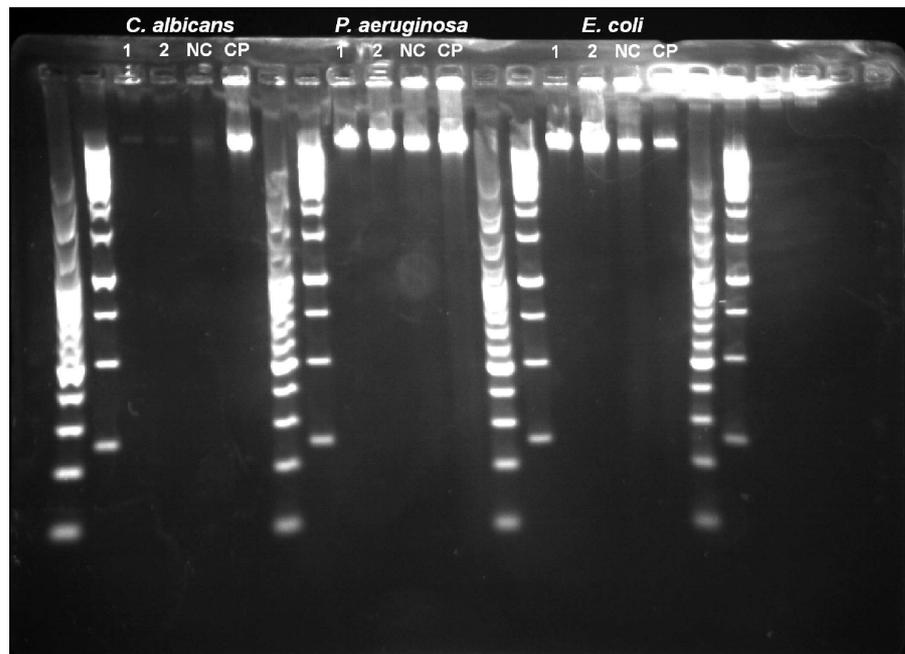


Abbildung 5.5: Prinzip der Gelelektrophorese [92]

Um die DNA der Bakterien und Hefen für die Gelelektrophorese zu extrahieren, wurde ein fertiges Kit der Fa. Qiagen (Gentra<sup>®</sup> Puregene<sup>®</sup> Yeast/Bact. Kit) verwendet. Der Präparationsablauf dazu ist im Anhang aufgeführt. Für diese Methode war eine große Anzahl Bakterien und Hefen ( $0,5-1,5 \cdot 10^9$  Bakterien, bzw.  $1-2 \cdot 10^8$  Hefezellen) notwendig. Diese Menge ließ sich erzielen, in dem für jede Untersuchung jeweils Keime von 25 Agarplatten verwendet wurden. Diese Petrischalen wurden zuvor wie folgt behandelt: Nach der Keimzahlbestimmung wurden  $50 \mu\text{l}$  CASO-Nährlösung mit Keimen auf die Agarplatten ausgebracht. Nach 1 Stunde Trocknungszeit erfolgte die Plasmabehandlung mit CP 100 oder NanoCube für 60 s, bevor die Keime mit  $50 \mu\text{l}$  Nährlösung abgespült und gesammelt wurden. Vor der abschließenden Untersuchung der DNA mussten die Konzentration und Reinheit der Proben bestimmt werden. Dazu stand ein Spektrophotometer (NanoVue<sup>™</sup> der Fa. Fisher Scientific GmbH, Schwerte) zur Verfügung. Die Konzentration wird über die optische Dichte des Mediums bei einer Wellenlänge von 260 nm, die Reinheit über das Verhältnis der optischen Dichten bei 260 nm und 280 nm bestimmt. Ein Wert von 1,8 entspricht einer 100%igen Reinheit. Die Ergebnisse dieser Messungen sind im Anhang aufgelistet. Kontrolle 1 wurde direkt aus der Nährbouillon entnommen, Kontrolle 2 absolvierte mit Ausnahme der Plasmabehandlung die gleiche Prozedur wie die behandelten Proben.

Die Gelpads für die Elektrophorese wurden aus 1 g Agarose (LE Agarose von Biozym Scientific GmbH), 100 ml TBE-Puffer und  $2 \mu\text{l}$  GelRed-Farbstoff (Biotium) zum Einfärben der DNA gegossen. Der Farbstoff interkaliert mit den Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den beiden DNA-Strängen, so dass nur Doppelstrang-DNA gefärbt wird. Als DNA-Leitern dienen zwei

Marker von Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc. (Gene Ruler 1 kb DNA Ladder und Gene Ruler 100 bp Plus DNA Ladder mit Fermentas 6X DNA Loading Dye). Vor dem Einfüllen der Proben wurde die DNA-Lösung mit Wasser so verdünnt, dass sich letztendlich 100-200 ng DNA in jeder Geltasche befanden. Gleichzeitig wurde ein Frontlaufmarker dazugegeben, der ein Herausschwemmen der Probe aus der Geltasche verhinderte. Die Gelelektrophorese lief mit einer Spannung von 90 V und einem Strom von 5 mA. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Abbildung 5.6 dargestellt. Jeweils rechts und links der Proben befinden sich die DNA-Leitern.



**Abbildung 5.6:** Gelelektrophorese der DNA von *C. albicans*, *P. aeruginosa* und *E. coli*

Aus dieser Abbildung wird deutlich, dass bei den untersuchten Mikroorganismen keine Doppelstrangbrüche auftraten. Bei allen Proben war die eingefärbte DNA im oberen Bereich des Gels zu sehen. Kürzere Bruchstücke wären im Gel weiter nach unten gewandert, so dass dort Einfärbungen zu erkennen gewesen wären. Ob andere DNA-Schäden vorlagen, kann mit dieser Methode jedoch nicht ausgeschlossen werden. Die Proben von *C. albicans* waren nur sehr schwach zu erkennen. Der Grund war hier vermutlich im Alter der Proben zu finden. Diese Keime wurden als erstes präpariert und mussten bis zur Gelelektrophorese einige Zeit gelagert werden.

Zur Plasmabehandlung der gramnegativen Bakterien und Hefen kann zusammengefasst werden, dass eine deutliche Wachstumsinhibition auftrat und die Mikroorganismen bei längerer Behandlungsdauer starke morphologische Schäden aufwiesen. DNA-Schäden in Form von Doppelstrangbrüchen waren nicht festzustellen. Zieht man die in [91] durchgeführten Lebend/Tod-

Vergleiche mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie hinzu, wird ersichtlich, dass tatsächlich eine große Anzahl der Keime abgetötet und nicht nur inaktiviert wurden, auch wenn zunächst keine morphologischen Schäden erkennbar waren.

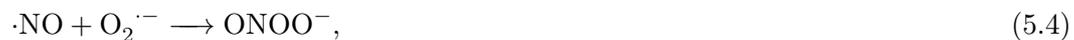
Hauptursache für die Zellschäden ist der direkte Kontakt mit den Plasmaspezies. Schäden durch Temperaturerhöhung oder Stromfluss können auf Grund der geringen Werte nahezu ausgeschlossen werden. Auch die UV-Strahlung scheidet wegen ihrer geringen Intensität als Ursache aus. Um bei den untersuchten Mikroorganismen eine 1-log-Reduktion herbeizuführen, sind Dosen von 81,3 J/m<sup>2</sup> für *E. coli*, 36,0 J/m<sup>2</sup> für *P. aeruginosa* und 447 J/m<sup>2</sup> für *C. albicans* notwendig [93]. Aber selbst der strahlungsintensivere NanoCube liefert in 60 s Plasmabehandlung nur eine Dosis von 131,2 mJ/m<sup>2</sup>.

Zu den Plasmaspezies zählen OH-Radikale, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und ONOO<sup>-</sup>. Diese Spezies verursachen durch Oxidation Kettenreaktionen in Molekülen z.B. der Zellwand, Zellmembran oder DNA. Besonders das OH-Radikal ist hier zu nennen, da es als einziges reaktives Sauerstoffspezies direkt mit biologischen Makromolekülen reagiert [94]. Ein typischer toxischer Effekt des OH-Radikals ist die Lipidperoxidation. Dabei entzieht das Radikal dem Lipid ein Wasserstoffatom und startet somit eine Kettenreaktion, die zur Schädigung der Zellmembran führt (LH = Lipid; L· = Lipidradikal; LOO· = Lipid-Peroxyradikal; LOOH = Lipid-Hydroxyperoxid):



Dieser Prozess tritt stets an einem Kohlenstoffatom auf, das einer Doppelbindung benachbart ist.

ONOO<sup>-</sup>, das aus einer Reaktion von NO- und O<sub>2</sub><sup>-</sup>-Radikalen entsteht, trägt zur Bildung weiterer Radikale bei und kann ebenfalls Lipidperoxidation sowie andere Schäden in Proteinen und DNA verursachen [95]. Die Reaktionsgleichungen zur Entstehung von ONOO<sup>-</sup> und den daraus folgenden Radikalen lauten:



Zusätzlich können dadurch auch Zellfunktionen gestört werden [95].

Auch die Zellwand aus Peptidoglycan kann durch das Auftreffen von Plasmaspezies geschädigt werden. Simulationen in [96] zeigen, dass OH-Radikale, O, O<sub>3</sub> und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durch Wasserstoffabstraktion die Dissoziation wichtiger Bindungen im Murein auslösen und so die Zellwand zerstören.

Weitere Mechanismen, die beim Vorhandensein eines sauren Mediums auftreten können und ebenfalls zur Bildung von OH-Radikalen beitragen, sind die Fenton-, die Haber-Weiss-Reaktion, sowie Fenton-ähnliche Reaktionen [94]. Bei der Fenton-Reaktion findet bei Vorhandensein von Fe<sup>2+</sup> eine Oxidation von organischem Material durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> statt, bei der das H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu einem OH-Radikal und OH<sup>-</sup> reagiert:



Auch andere Metallionen wie z.B. Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> oder Zn<sup>2+</sup> können in Fenton-ähnlichen Reaktionen zur Bildung von Sauerstoffradikalen beitragen.

Bei der Haber-Weiss-Reaktion entstehen OH-Radikale aus einer Reaktion von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und O<sub>2</sub><sup>-</sup>-Radikalen:



Das in [53] mit den gleichen Methoden untersuchte grampositive Bakterium *Staphylococcus epidemidis* zeigte auf die Plasmabehandlung ein anderes Verhalten als die in dieser Arbeit behandelten Mikroorganismen. Das Wachstum wurde wie bei hier untersuchten Keimen unterdrückt und auch die Fluoreszenzmikroskopie zeigte, dass nach der Plasmabehandlung nahezu alle Keime abgestorben sind. Es waren jedoch keinerlei morphologische Schäden zu erkennen, während die DNA Doppelstrangbrüche aufwies. Der Grund für die Unterschiede kann mit dem Aufbau der Zellen begründet werden. Die „dicke“ Zellwand aus Murein schützt das Bakterium vor einer Beeinträchtigung der Struktur, die Zellmembran kann allerdings z.B. durch Lipidperoxidation zerstört werden und somit den Weg für eine Schädigung der DNA durch OH-Radikale freimachen.

## 5.2 Plasmabehandlung humaner Hautzellen

Wie bereits zu Beginn des Kapitels erwähnt, ist die HaCaT-Zelllinie eine immortalisierte Keratinozyten-Linie. Sie wurde aus histologisch normaler Haut eines 62-jährigen Patienten

gewonnen [97]. Keratinozyten haben die Eigenschaft, sich im Lauf ihres Lebenszyklus abzuflachen und zu verhornen und letztendlich eine Schicht aus abgestorbenen, platten Hornzellen (Korneozyten) zu bilden (Hornschicht oder Stratum corneum). Dabei durchwandern sie die Epidermis (Oberhaut), die äußere Hautschicht, in dem sie vom untersten Bereich, dem Stratum basale durch sich durch Zellteilung neu bildende Keratinozyten nach oben geschoben werden.

Bei den HaCaT-Zellen ist die charakteristische Fähigkeit sich zu Hornzellen zu differenzieren, erhalten geblieben. Sie lassen sich *in vitro*, also in künstlicher Umgebung, leicht teilen und vermehren [98]. Sie zeichnen sich weiterhin durch eine hohe Immortalität aus und zeigen im Vergleich mit primären Keratinozyten eine hohe Übereinstimmung in den Eigenschaften. Bei passenden Umgebungsbedingungen bilden sie einen adhärennten Monolayer mit proliferierenden Zellen [99]. Dabei zeigen die Zellen ein charakteristisch abgeflachtes Erscheinungsbild. Der Aufbau der Zellmembran einer menschlichen Zelle ist schematisch in Abbildung 5.7 dargestellt.

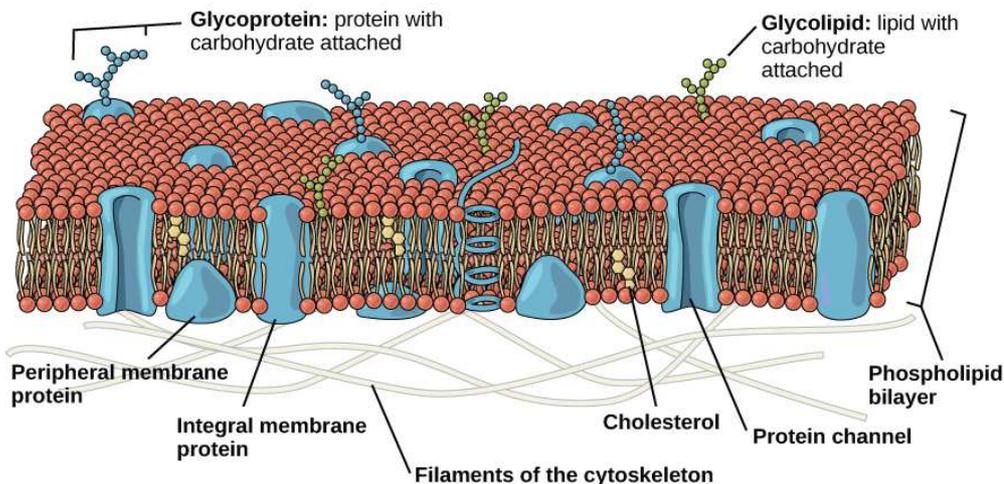


Abbildung 5.7: Aufbau der Zellmembran einer humanen Zelle [100]

Die Zellen wurden über die CLS Cell Lines Service GmbH, Eppelheim vom DKFZ - Deutsches Krebsforschungszentrum in der Helmholtz-Gemeinschaft, Heidelberg, bezogen. Die Kultur erfolgte in Zellkulturflaschen bei 37 °C in einem CO<sub>2</sub>-Brutschrank. Als Nährmedium wurde Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) eingesetzt, das mit Antibiotikum, 10% fetalem Kälberserum (engl: *fetal bovine serum, FBS*) und 2mM L-Glutamin versetzt wurde. Sobald die Zellen einen konfluenten Monolayer gebildet hatten, wurden sie trypsinisiert (Lösung: 0,05% Trypsin, 0,025% EDTA) und passagiert, bzw. wurde für die Plasmabehandlung Zelllösung mit DMEM-Medium in Petrischalen mit 35 mm Durchmesser gegeben und dort konfluent anwachsen lassen. Unmittelbar vor der Plasmabehandlung wurde das Nährmedium abgezogen und die Petrischalen mit je 2 ml phosphatgepufferter Salzlösung (engl: *phospha-*

te buffered saline, PBS) gespült. Die Plasmabehandlung erfolgte analog zur Behandlung der Mikroorganismen.

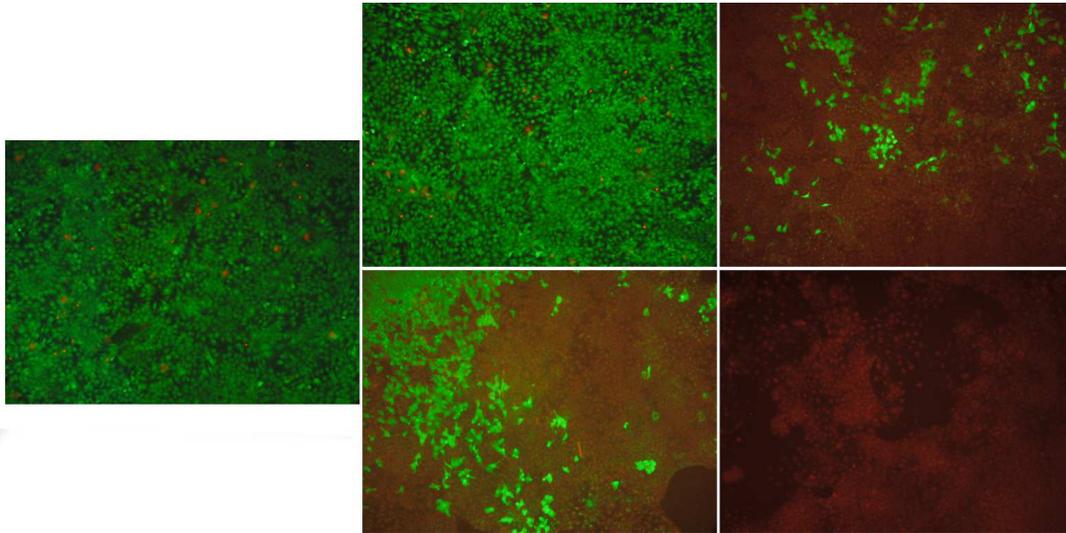
### 5.2.1 Lebend/Tod-Vergleich

Vorversuche haben gezeigt, dass sich konfluent angewachsene HaCaT-Zellen durch eine Plasmabehandlung teilweise vom Boden lösen. Eine Untersuchung zur Wachstumsinhibition ist daher nicht sinnvoll, da sich die Zellen im flüssigen Nährmedium verteilen würden und keine Aussage möglich ist, welche Zellen der Plasmabehandlung ausgesetzt waren. Aus diesem Grund wurde ein Lebend/Tod-Vergleich durchgeführt, d.h. es wurde mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie untersucht, welche Zellen durch eine Plasmabehandlung geschädigt wurden. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass der Test unmittelbar nach dem Einwirken des Plasmas durchgeführt werden kann, die Zellen also nicht weiter kultiviert werden müssen und somit ohne erneute Zugabe des Nährmediums auskommen. Voraussetzung ist dann allerdings eine schnelle Auswertung, da sonst die Zellen allein durch den Aufenthalt in trockener Umgebung, bzw. später durch die Zugabe der Fluoreszenzfarbstoffe geschädigt werden. Für diesen Versuch wurde das LIVE/DEAD® Viability/Cytotoxicity Assay Kit, for mammalian cells von MolecularProbes®, Life Technologies, verwendet.

Zunächst wurden die Zellen aus der Zellkulturflasche gelöst und die Zellzahl mit  $5 \cdot 10^4$  pro 200  $\mu\text{l}$  bestimmt. Für den Lebend/Tod-Vergleich wurden 200  $\mu\text{l}$  der Zelllösung mit 3 ml DMEM-Medium in die Petrischalen gegeben und anschließend für 5 Tage kultiviert. Jeweils drei Petrischalen wurden mit CP 100 und NanoCube für 2 s und 60 s plasmabehandelt, drei Petrischalen dienten als Kontrolle. Direkt nach der Plasmabehandlung erfolgte die Zugabe von 200  $\mu\text{l}$  der Färbelösung. Sie enthält Calcein AM und Ethidium Homodimer-1, die in der Zelle eine fluoreszierende Wirkung auslösen. Calcein AM wird in lebenden Zellen durch intrazelluläre Esterasen in das grün fluoreszierende Calcein umgewandelt, während Ethidium Homodimer-1 nur durch die durchlässig gewordene Membran toter Zellen ins Zellinnere gelangen kann und sich dort an die DNA bindet. Daraufhin fluoresziert dieser Farbstoff im roten Wellenlängenbereich. Die Aufnahmen dieser Untersuchung wurden mit einem Mikroskop Axioplan 2 imaging der Fa. Carl Zeiss Lichtmikroskopie, Göttingen gemacht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.8 dargestellt.

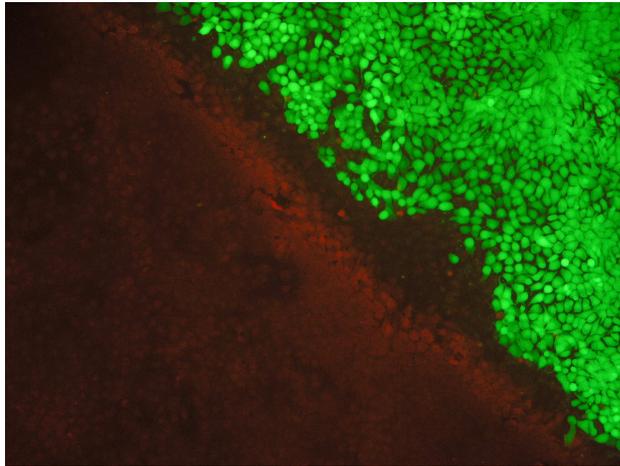
Nach 2 s Plasmabehandlung mit der CP 100 war kein Effekt gegenüber der Kontrolle sichtbar. Es zeigten sich nur vereinzelte tote Zellen, die grün fluoreszierenden, lebenden Zellen überwogen deutlich. Nach 60 s Behandlung mit der CP 100 ergab sich ein sehr differenziertes Bild. In einigen Bereichen waren nahezu alle Zellen vital, während an anderen Stellen fast alle Zellen abgestorben waren. Dazwischen lagen Bereiche, in denen lebende und tote Zellen vorkamen. Dieser Effekt lässt sich auch hier mit der Filamentierung der Entladung erklären. Bei der Plasmabehandlung mit dem NanoCube zeigte sich bereits nach 2 s ein überwiegend abgestorbener Zellrasen, obwohl auch Bereiche mit vitalen Zellen vorhanden waren. Bei der Auswertung wurde deutlich, dass in den Petrischalen teilweise zwei oder mehr Zellschichten

übereinander lagen. Dort waren bei 60 s Behandlung mit der CP 100 und 2 s Behandlung mit dem NanoCube nur die Zellen abgestorben, die direkt dem Plasma ausgesetzt waren. Die unteren Zellschichten fluoreszierten grün, waren also vital. Nach 60 s Plasmabehandlung mit dem NanoCube waren alle Zellen abgestorben.



**Abbildung 5.8:** Fluoreszenzmikroskopie plasmabehandelter HaCaT-Zellen. Links ist die Kontrolle abgebildet, die Zellen in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt.

Bei allen Platten, auf denen die Zellen eine Wirkung auf die Plasmabehandlung zeigten, konnte ganz klar der behandelte Bereich gegenüber dem unbehandelten abgegrenzt werden, da in letzterem kein Effekt auf die Zellen festgestellt wurde. Ein solcher Randbereich ist in Abbildung 5.9 dargestellt.



**Abbildung 5.9:** Randbereich zwischen plasmabehandelten und unbehandelten HaCaT-Zellen

### 5.2.2 Morphologie

Da über die Fluoreszenzmikroskopie eine Schädigung der HaCaT-Zellen durch eine Plasma-behandlung festzustellen war, wurde nun untersucht, in wie weit diese Schädigung mit einer Veränderung der Zellstruktur einhergeht. Dazu wurden die Zellen wie zuvor die pathogenen Mikroorganismen im REM betrachtet. Auch hier mussten Probenträger und Zellen vor dem Einbringen ins Mikroskop präpariert werden.

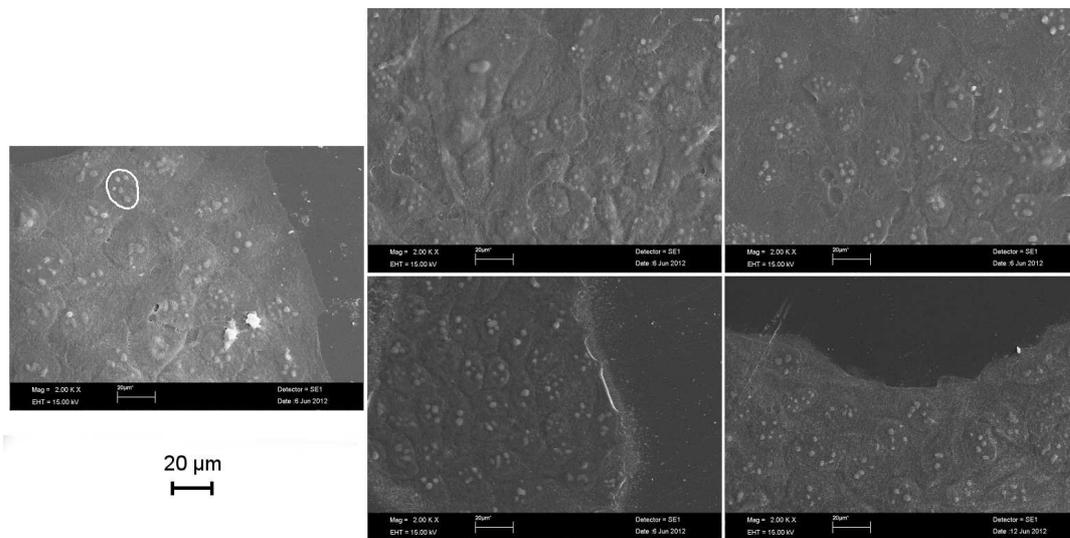
Da HaCaT-Zellen nur schlecht auf Glasoberflächen anwachsen, selbst wenn diese zuvor wachstumsfördernd mit Collagen beschichtet wurden, musste auf die Deckgläschen als Probeträger verzichtet werden. Da sich die Petrischalen als Untergrund für Zellwachstum und –proliferation bewährt hatten, wurden sie auf 1-2 cm<sup>2</sup> große Stücke zurechtgeschnitten und als Probeträger verwendet. Vor der Verwendung wurden sie 24 h in 70%er-Ethanollösung gelegt und anschließend 3 x mit PBS gespült. Zum Anwachsen der HaCaT-Zellen wurde je ein Probeträger in eine Petrischale gelegt und dort hinein 150 µl der Zelllösung mit 3 ml DMEM-Lösung gegeben.

Vor dem Einfüllen der Zelllösung in die Petrischalen wurde die Zellzahl mit  $5,4 \cdot 10^4$  pro 200 µl bestimmt. Da für diesen Versuch die Kultivierungsdauer 6 Tage betrug, wurden nur 150 µl der Zelllösung in die Schalen eingefüllt um den Zellrasen nicht zu dicht werden zu lassen. Die Petrischalen wurden mit CP 100 und NanoCube für 2 s und 60 s behandelt. Jede Untersuchung wurde 3x wiederholt. Nach der Plasmabehandlung erfolgte als Vorbereitung für die Elektronenmikroskopie der Trocknungsvorgang. Dazu wurden die Proben zunächst mit PBS gespült und anschließend für 30 min je 1 ml Fixativ auf die Proben gegeben. Als Fixativ diente eine 25%ige Glutaraldehydlösung, die mit PBS auf eine 3%ige Lösung verdünnt wurde. Nach dem Fixierungsvorgang wurden die Proben 2 x mit PBS gespült, bevor auch hier die

Entwässerung der Proben mit einer aufsteigende Alkoholreihe (je 10 min 30%, 50%, 70%, 80%, 90% und 2 x 100% Ethanol) erfolgte. Nach dem Entwässern trockneten die Proben an der Luft und lagerten bis zur weiteren Präparation in einem Exsikkator.

Im nächsten Schritt wurden die Proben auf die standardisierten REM-Probeträger aufgeklebt und mit einer 10 nm dicken Goldschicht beschichtet.

Für REM-Aufnahmen wurde das Mikroskop mit einem Druck von  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  Pa betrieben und der Elektronenstrahl auf 15 kV eingestellt. Die Vergrößerung betrug 1.000x - 2.000x. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Abbildung 5.10 dargestellt.

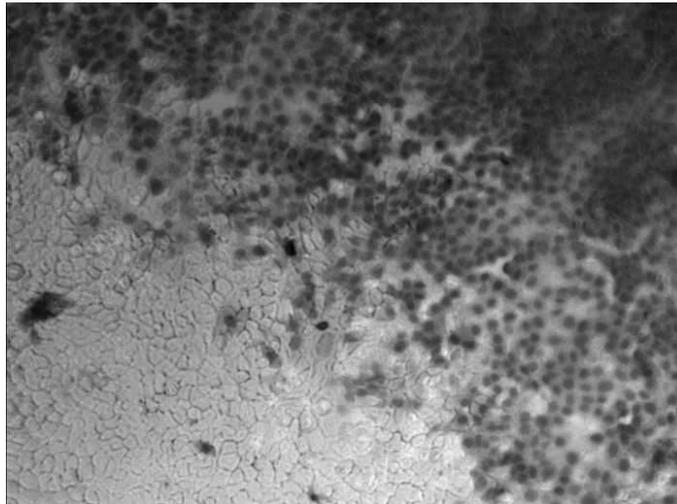


**Abbildung 5.10:** REM-Aufnahmen plasmabehandelter HaCaT-Zellen. Links ist die Kontrolle abgebildet, die Zellen in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem Nano-Cube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt.

Auf den Aufnahmen sind augenscheinlich keine Unterschiede in der Morphologie von unbehandelten und plasmabehandelten Zellen zu erkennen. Deutlich sind auf allen Bildern die abgeflachten Zellen des Monolayers mit den rundlichen Zellkernen zu sehen (zur besseren Erkennbarkeit ist eine Zelle weiß umrandet). Die kugelförmigen Erhebungen in den Zellkernen sind Kernkörperchen (Nucleoli), die faserigen Strukturen zwischen den Zellen sind Desmosomen, die den Zellverband zusammenhalten. Aus den Ergebnissen lässt sich folgern, dass das Absterben der Zellen nicht durch eine Zerstörung der mechanischen Funktion des Zytoskelettes ausgelöst wird.

### 5.2.3 DNA

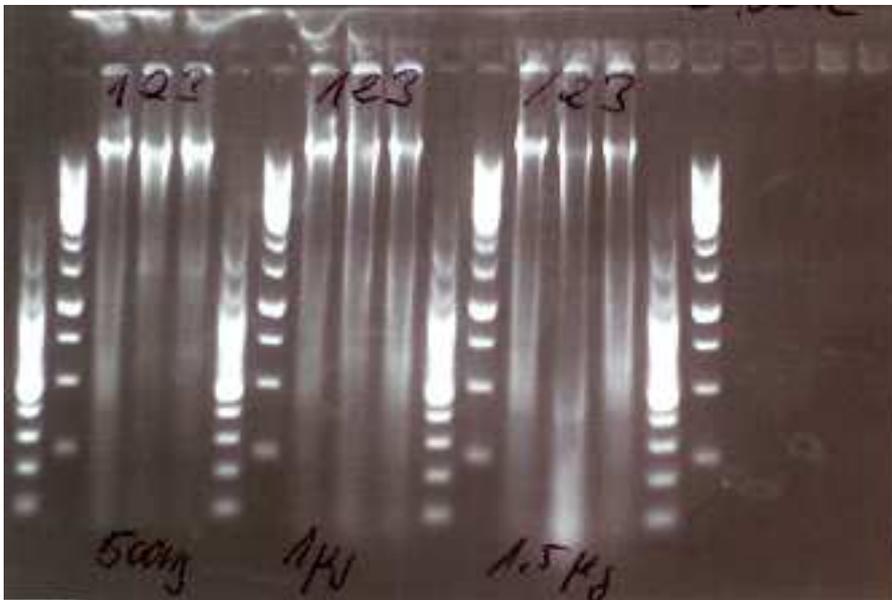
Im letzten Untersuchungsabschnitt zu den humanen Keratinozyten wurde die DNA der HaCaT-Zellen auf Einflüsse durch die Plasmabehandlung untersucht. Wie bei den Mikroorganismen musste auch hier zunächst die DNA extrahiert werden um anschließend durch die Gelelektrophorese mögliche Doppelstrangbrüche zu identifizieren. Die Extraktion der DNA erfolgte mit Hilfe des QIAmp DNA Blood Mini Kit (Qiagen), dessen Ablauf geringfügig modifiziert wurde (Präparationsablauf siehe Anhang). Für diesen Versuch wurden die Zellen zunächst in 12-Well-Platten mit einem Durchmesser von ca. 22 mm / Well kultiviert, bis ein dichter Zellrasen entstanden war. Vor der Plasmabehandlung wurde das Nährmedium abgezogen und die Zellen 2 x mit PBS gespült. Nach der Plasmabehandlung wurden die Zellen zur Kontrolle mit Trypanblau eingefärbt und lichtmikroskopisch untersucht. Bei diesem Verfahren gelangt der Farbstoff in abgestorbene Zellen und färbt sie blau ein, während lebende Zellen unverändert nahezu farblos erscheinen. Dabei zeigte sich, dass in den Wellplatten geringen Durchmessers das Plasma zum Rand des Wellbodens hin zündete, da tote Zellen ausschließlich in den Randbereichen der Wells anzutreffen waren. Somit war also keine homogene Behandlung des gesamten Welldurchmessers möglich (siehe Abbildung 5.11).



**Abbildung 5.11:** Lichtmikroskopische Aufnahme mit Trypanblau eingefärbter und plasmabehandelter HaCaT-Zellen. Rechts oben ist bogenförmig der Randbereich des Wells zu erkennen.

Um diesen Effekt zu vermeiden wurden die Zellen daraufhin in 6-Well-Platten mit einem Durchmesser von 35 mm kultiviert und der Versuch wiederholt. Diesmal war eine homogene Plasmabehandlung der Zellen möglich. Um nun aber alle Zellen des Wells 60 s zu behandeln, musste die Elektrode über die Oberfläche bewegt werden. Dabei ließ nicht vermeiden, dass die Zellen in der Mitte des Wells teilweise bis zu 240 s behandelt wurden. Je 3 Wells wurden

mit CP 100 und NanoCube behandelt, 3 Wells dienten als Kontrolle. Nach der Behandlung erfolgte pro Well eine Zugabe von 420  $\mu$ l eines Premixes aus im QIAmp-Kit enthaltenen Proteaselösung, PBS und Buffer AL und 200  $\mu$ l Ethanol. Nach 20 min Inkubationszeit in einem Thermoschüttler bei 56 °C und lichtmikroskopischer Kontrolle, ob alle Zellen lysiert waren, wurde die Flüssigkeit aus den Wells abgezogen und nach dem im Anhang beschriebenen Isolierungsprotokoll weiter aufbereitet. Entsprechend der Plasmabehandlung, bzw. der Kontrolle wurde das DNA-Eluat aus den 3 Wells kumuliert, da für die Gelelektrophorese ausreichend DNA vorliegen musste. Die Konzentration und Reinheit der DNA nach abgeschlossener Präparation sind im Anhang aufgeführt. Die Gelelektrophorese erfolgte analog zu den Mikroorganismen in 1%igem Agarosegel. Die Taschen wurde mit je 500 ng, 1  $\mu$ g und 1,5  $\mu$ g DNA beladen. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Abbildung 5.12 dargestellt. Jeweils rechts und links der Proben befinden sich die DNA-Leitern.



**Abbildung 5.12:** Gelelektrophorese der DNA von HaCaT-Zellen. Nr. 1 ist die Kontrolle, Nr. 2 die mit dem NanoCube und Nr. 3 die mit der CP 100 behandelte Probe.

Die Auswertung der Gelelektrophorese lässt keinen eindeutigen Schluss auf eine DNA-Schädigung zu. Alle Proben zeigen einen ähnlichen Verlauf, was auf gleich große DNA-Bruchstücke deutet. Da auch die Kontrolle das gleiche Erscheinungsbild aufweist, kann die Fragmentierung nicht auf die Plasmabehandlung zurückzuführen sein. Bei der höchsten Beladung von 1,5  $\mu$ g DNA sind möglicherweise bei der mit dem NanoCube behandelten Probe (Nr. 2) kleinere DNA-Fragmente zu erkennen, eine Wiederholung der Gelelektrophorese bestätigte diesen Verlauf jedoch nicht.

Insgesamt reagierten die HaCaT-Zellen anders auf die Plasmabehandlung als die in dieser Ar-

beit behandelten, pathogenen Mikroorganismen. Wie die Fluoreszenzmikroskopie zeigte, starben die als Monolayer vorliegenden Zellen aber ebenfalls ab. Allerdings wiesen sie eine gewisse Robustheit gegenüber der Plasmabehandlung auf, da bei 2 s Behandlungsdauer mit der CP 100 keine Wirkung auf die Vitalität der Zellen festzustellen war. Im Unterschied zu den Keimen waren bei den Keratinozyten keine morphologischen Schäden zu erkennen. Dieses Ergebnis zeichnete sich schon bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen ab, denn im Gegensatz dazu konnten in [91] bereits dort strukturelle Veränderungen bei den Mikroorganismen festgestellt werden. Die Ergebnisse der Gelelektrophorese sind mit großen Unsicherheiten behaftet. Möglicherweise traten durch die Behandlung mit dem NanoCube DNA-Doppelstrangbrüche auf. Ähnliche Untersuchungen in [101] zeigen bei kurzen Behandlungszeiten von 1 min jedoch ebenfalls keine bis sehr geringe DNA-Schäden, so dass das Ergebnis in Abbildung 5.12 möglicherweise durch andere Ergebnisse verfälscht wurde und tatsächlich keine DNA-Schäden auftraten.

Auch bei den Keratinozyten können als Hauptursache für die Zellschäden die Plasmaspezies und hierbei insbesondere die reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies angenommen werden. Auch wenn bei den Untersuchungen keine morphologischen Veränderungen festzustellen waren, ist dennoch von einer Schädigung der Zellmembran auszugehen, da der Fluoreszenzfarbstoff Ethidium Homodimer-1 nur durch eine aufgelöste Membranstruktur ins Innere der Zellen gelangt. Da die Zellmembran ebenfalls hauptsächlich aus einer Doppellipidschicht aufgebaut ist, liegt eine Schädigung durch Lipidperoxidation nahe, hervorgerufen durch das OH-Radikal und ONOO<sup>-</sup>.

Ein Grund für die Sensitivität der Zellen gegenüber der Plasmabehandlung liegt darin, dass die Keratinozyten ohne schützendes Nährmedium behandelt werden. Befindet sich während der Plasmabehandlung eine Flüssigkeitsschicht über den Zellen, reagieren diese sehr viel unempfindlicher, wie Untersuchungen in [51] gezeigt haben. Dort war nach 20 s Plasmabehandlung kein erhöhtes Verhältnis toter zu lebender Zellen feststellbar.

## 6 Fazit und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Plasmaquellen (CP 100 und NanoCube), die nach dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung arbeiten, charakterisiert und verglichen. Der generelle Unterschied dieser Geräte liegt in verschiedenen Spannungsanstiegszeiten von  $7,8 \cdot 10^{-8} \text{ s kV}^{-1}$  bei der CP 100 und  $5,6 \cdot 10^{-10} \text{ s kV}^{-1}$ . Bei beiden Quellen wurde die gleiche Elektrodenkonfiguration verwendet.

In Kapitel 3, der physikalischen Charakterisierung, wurden über elektrische Messungen die Elektronendichte und die Leistung bestimmt. Die Elektronendichte betrug bei der CP 100  $1,7 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$  und beim NanoCube  $2,5 \cdot 10^{11} \text{ cm}^{-3}$ . Die Leistungsmessung ergab für die CP 100 272 mW und für den NanoCube 287 mW auf CASO-Agar als Gegenelektrode, was bei der verwendeten Elektrode Leistungsdichten von  $136 \text{ mW/cm}^2$ , bzw.  $143 \text{ mW/cm}^2$  entspricht. Darüber hinaus wurde die in das behandelte Material eingebrachte Wärmeleistung untersucht. Für Aluminium als Gegenelektrode wurde eine Leistung von 19 mW bei der CP 100 und 55 mW beim NanoCube gemessen.

Die Gas- und Elektronentemperatur erfolgte über optische Emissionsspektroskopie. Hier wurde in der Entladung der CP 100 eine Gastemperatur von 537 K und eine Elektronentemperatur von  $68 \cdot 10^3 \text{ K}$  und in der Entladung des NanoCube eine Gastemperatur von 412 K und eine Elektronentemperatur von  $49 \cdot 10^3 \text{ K}$  ermittelt. Dies ergibt mittlere Elektronenenergien von 8,8 eV, bzw. 6,3 eV.

Zusätzlich wurden die Agartemperatur, die UV-Strahlung und der Einfluss der Luftfeuchte auf die Plasmamparameter untersucht. Die Agartemperatur stieg bei 60 s Behandlung mit der CP 100 um 0,36 K, bei der Behandlung mit dem NanoCube um 0,43 K. Die Bestrahlungsstärke im UV-Bereich lag bei  $0,73 \text{ mW/m}^2$  (CP 100) und  $2,19 \text{ mW/m}^2$  (NanoCube). Bei verschiedenen Luftfeuchten veränderte sich die Leistung bei der CP 100 nur wenig. Hier war bereits bei geringen Luftfeuchten eine starke Filamentierung zu erkennen. Beim NanoCube zeigte sich mit steigender Luftfeuchte eine Zunahme der Filamentierung und eine Abnahme der Leistung. Die Ergebnisse der Gas- und Elektronentemperatur bei verschiedenen Luftfeuchten weisen durch die lichtschwache Entladung und das daraus resultierende schlechte Signal-/Rauschverhältnis starke Schwankungen auf. Hier würden sich durch einen verbesserten optischen Aufbau verbesserte Resultate erzielen lassen.

Die Ergebnisse zeigen, dass der NanoCube fast durchgängig höhere Werte lieferte. Lediglich bei den emissionsspektroskopischen Untersuchungen lagen die Ergebnisse der CP 100 über denen des NanoCube. Tatsächlich wird dieser Effekt dem Messprinzip geschuldet sein: die

wenigen energiereichen und damit lichtintensiven Filamente gehen überproportional ins Emissionsspektrum ein und verschieben damit das Ergebnis hin zu höheren Werten.

Im vierten Kapitel, der chemischen Charakterisierung wurden mit Hilfe der Absorptionsspektroskopie Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration im Entladungsspalt bestimmt. Auch hier zeigte der NanoCube mit einer Ozonkonzentration von 1673 ppm und einer Stickstoffmonoxidkonzentration von 1117 ppm sehr viel höhere Werte als die CP 100 mit 293 ppm Ozonkonzentration und 174 ppm Stickstoffmonoxidkonzentration (nach 60 s Plasmabehandlung). Begründen lässt sich dieses Ergebnis mit dem größeren Entladungsvolumen und der höheren Elektronenenergie, der eine verstärkte Bildung der Plasmaspezies folgt. Dies wird auch durch die Resultate der weiteren Untersuchungen in diesem Kapitel unterstützt, der Messung von pH-Wert, Nitrit- Nitrat- und Wasserstoffperoxidkonzentration im Agar.

Der pH-Wert war auf der ungepufferten CASO-Agaroberfläche nur geringfügig abgesunken. Er betrug nach 60 s Behandlung mit der CP 100 6,7, nach der Behandlung mit dem NanoCube 5,7.

Die Unterschiede von Nitrit- und Nitratkonzentration zwischen der mit CP 100 und NanoCube behandelten Agaroberfläche waren nicht so gravierend wie die Unterschiede von Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration im Entladungsspalt (nach 60 s Plasma: CP 100: Nitritkonzentration 0,069 mmol/l und Nitratkonzentration 0,37 mmol/l; NanoCube: Nitritkonzentration 0,074 mmol/l und Nitratkonzentration 0,79 mmol/l). Als Begründung wird eine Sättigung der Agaroberfläche bei der Bildung von Nitrit und Nitrat angenommen.

Mit den vorhandenen Messgeräten waren die chemischen Veränderungen im Agar teilweise erst nach 60 s Plasmabehandlung und auch nur im direkt behandelten Bereich messbar. Wasserstoffperoxid war beim NanoCube aber bereits nach 2 s Plasmabehandlung nachweisbar. Hier war auch wieder ein deutlicher Konzentrationsunterschied zwischen beiden Quellen feststellbar (nach 60 s Plasma: CP 100: Wasserstoffperoxidkonzentration 0,059 mmol/l; NanoCube: Wasserstoffperoxidkonzentration 0,221 mmol/l).

In nachfolgenden Studien wäre die Untersuchung von Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration bei verschiedenen Luftfeuchten von Interesse. Die Messung der anderen Parameter im Agar würden hier vermutlich keine Unterschiede aufweisen, da die Messmethode zu unempfindlich ist.

In Kapitel 5, den mikrobiologischen Untersuchungen, konnte eine starke Wirkung der Plasmabehandlung auf die pathogenen Mikroorganismen und Zellen beobachtet werden. Mit beiden Plasmaquellen war nach 60 s Behandlung das Wachstum der Mikroorganismen vollständig unterdrückt. Im REM zeigten sich hier die deutlichsten Schäden. Allerdings waren in den Untersuchungen zur DNA keine Doppelstrangbrüche feststellbar. Bei den Keratinozyten waren nach 60 s Plasmabehandlung mit dem NanoCube alle Zellen abgestorben. Die REM-Aufnahmen zeigten jedoch keine morphologischen Schäden. Die Untersuchung der DNA von HaCaT-Zellen lieferte mit Unsicherheiten behaftete Ergebnisse. Hier sollte im Weiteren die Präparation der DNA optimiert werden.

---

Die Untersuchungen von Wachstum, bzw. Lebend-/Tod-Vergleich bei den HaCaT-Zellen, Morphologie und der DNA ergaben auch hier, wie aus den bisherigen Ergebnissen zu erwarten, dass der NanoCube insgesamt wirkungsvoller ist als die CP 100. Doch auch bei der vermeintlich schwächeren Plasmaquelle war bereits nach 2 s Behandlung eine Wirkung auf die Mikroorganismen zu sehen. Zieht man alle bisher gewonnenen Ergebnisse hinzu, lässt dies nur den Schluss zu, dass die Ursache dafür im direkten Kontakt mit den Plasmaspezies in der Entladung zu finden ist. Die anderen Parameter zeigten nach zwei Sekunden Plasmabehandlung keine oder so sehr geringe Veränderungen, dass sie keinen Einfluss auf die Vitalität der Organismen haben.

Neben einer Verbesserung der DNA-Präparation bei den Keratinozyten sollte das Verhalten der Organismen und Zellen in verschiedenen Zeitabständen nach der Plasmabehandlung untersucht werden, um erst nach längerer Zeit eintretende Schäden oder deren Regeneration erkennen zu können.

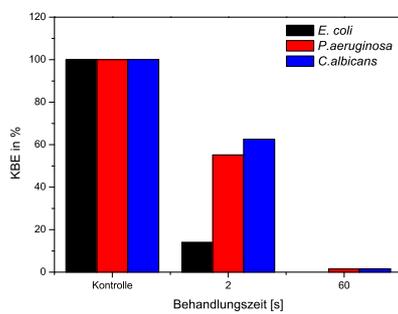
Es mag zunächst nachteilig erscheinen, dass sich die Plasmabehandlung schädigend auf die HaCaT-Zellen auswirkt. Dazu kann aufgeführt werden, dass *in vitro*-Untersuchungen zwar Hinweise auf eine mögliche Reaktion *in vivo* geben, tatsächlich kann sich das Verhalten aber unterscheiden. So reagieren die Zellen *in vivo*, im Zellverband, sehr viel unempfindlicher als ein Zell-Monolayer *in vitro*. Außerdem besitzen Keratinozyten die Fähigkeit zur Regeneration und Reparatur von Defekten. Um Gewissheit über das Verhalten von Keratinozyten auf eine Plasmabehandlung zu erlangen, bleibt letztendlich nur eine Studie „am lebenden Objekt“. Erste Untersuchungen der CP 100 an einem Mausmodell zeigten hierbei keine Schädigungen [102].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass beide Quellen eine desinfizierende Wirkung gegenüber pathogenen Mikroorganismen aufweisen. Der NanoCube ist bei geringfügig höherer Leistung als die CP 100 durch die effizientere Erzeugung der Plasmaspezies sogar noch etwas wirksamer. Nun müssen weitere medizinische Untersuchungen zeigen, für welche therapeutischen Einsätze die Quellen in Frage kommen. Ein mit der CP 100 vergleichbarer Aufbau wurde vor kurzem in einer klinischen Studie in der Therapie venöser Ulcera getestet [66]. Klinische Studien mit einer Quelle, die kürzere Spannungsanstiegszeiten im Bereich des NanoCube besitzt, stehen noch aus.

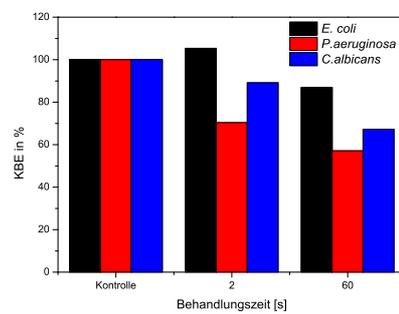


# Anhang

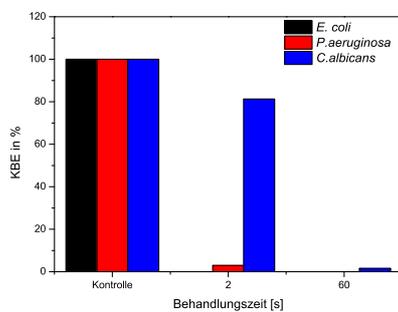
a) Ausgezählte KBE auf CASO-Agar innerhalb und außerhalb des mit CP 100 und NanoCube behandelten Bereichs prozentual zur Kontrollprobe



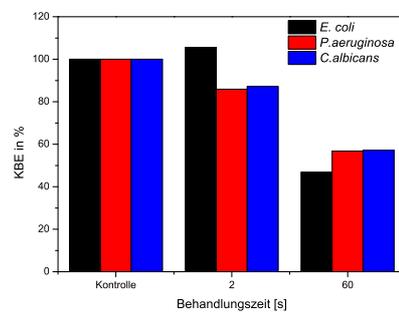
(a) CP 100 innen



(b) CP 100 außen



(c) NanoCube innen



(d) NanoCube außen

## b) Konzentration und Reinheit der DNA-Proben

<i>E. coli</i>	µg/ml	Ratio 260/280
Kontrolle 1	131,0	1,85
Kontrolle 2	175,0	1,85
CP 100	77,0	1,84
NanoCube	86,5	1,84
<i>P. aeruginosa</i>	µg/ml	Ratio 260/280
Kontrolle 1	202,5	1,84
Kontrolle 2	180,5	1,85
CP 100	85,0	1,80
NanoCube	113,5	1,80
<i>C. albicans</i>	µg/ml	Ratio 260/280
Kontrolle 1	76,0	1,89
Kontrolle 2	75,0	1,89
CP 100	101,5	1,93
NanoCube	81,5	1,81
HaCaT-Zellen	µg/ml	Ratio 260/280
Kontrolle	218,0	2,0
CP 100	120,0	2,0
NanoCube	136,0	2,0

## c) Medien für mikrobiologische Untersuchungen

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Zusammensetzung</b>
Antibiotic-Antimycotic	Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis	
Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar zur Keimzahlbestimmung und Isolierung von Mikroorganismen Merckoplate®	Merck KGaA, Darmstadt	
Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon für die Mikrobiologie	Merck KGaA, Darmstadt	
6X DNA Loading Dye	Fermentas, Thermo Scientific Inc., Waltham	Fisher
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	Biochrom, Berlin	
EDTA	Biological Industries, Beit Haemek	
Ethanol	Carl Roth, Karlsruhe	≥ 99,5 %, Ph.Eur., reinst

Fetales Kälberserum (FBS)	Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis	
Frontlaufmarker		42 g Harnstoff, Merck KGaA, Darmstadt oder 50 g Saccharose, Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis, 200 µl 0,5 M EDTA ,pH 8,0, 100 ml Bidest, 0,1 g Bromphenolblau, Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis, 100 ml bidest H <sub>2</sub> O
GelRed Nucleic Acid Stain	Biotium, Hayward	10,000X in Wasser
Gene Ruler 100 bp DNA Ladder	Fermentas, Thermo Scientific Inc., Waltham	Fisher
Gene Ruler 1 kb DNA Ladder	Fermentas, Thermo Scientific Inc., Waltham	Fisher
Gentra <sup>®</sup> Puregene <sup>®</sup> Yeast/Bact. Kit	Qiagen, Hilden	Cell Suspension Solution, Lytic Enzyme Solution, RNase A Solution, and Reagents
LE Agarose	Biozym Scientific GmbH, Hesisch Oldendorf	
Glutaraldehyde solution, specially purified for use as an electron microscopy fixative	Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis	Grade I, 25% in H <sub>2</sub> O
HEPES-Puffer	Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis	
L-Glutamin	Biochrom, Berlin	
LIVE/DEAD <sup>®</sup> Viability/Cytotoxicity Assay Kit, for mammalian cells	MolecularProbes <sup>®</sup> , Life Technologies, Carlsbad	
Malzextrakt-Bouillon für die Mikrobiologie	Merck KGaA, Darmstadt	
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	Biochrom, Berlin	
Polylysin	Biochrom	wässrige Lösung mit 0,1 mg/ml Poly-L-Lysin
QIAmp DNA Blood Mini Kit	Qiagen, Hilden	
TBE-Puffer		108 g Tris, 55 g Borsäure, beides Merck KGaA, Darmstadt, 40 ml 0,5 M EDTA, pH 8,0 (146,1 g EDTA, Aldrich Co. LLC, St. Louis, 40 g NaOH, Merck KGaA, Darmstadt, 1000 ml bidest H <sub>2</sub> O
Trypsin	Biological Industries, Beit Haemek	

## d) Präparationsprotokoll zur DNA-Extraktion der Hefen

### Protocol: DNA Purification from Yeast Using the Gentra Puregene Yeast/Bact. Kit

This protocol is for purification of genomic DNA from fresh or frozen samples of 1 ml overnight yeast cultures (approximately  $1-2 \times 10^8$  cells) using the Gentra Puregene Yeast/Bact. Kit.

#### Things to do before starting

- Preheat water baths to 37°C for use in steps 6 and 20 and 65°C for use in step 21 of the procedure.
- Frozen yeast samples should be thawed and equilibrated to room temperature (15–25°C) before beginning the procedure.

#### Procedure

1. Prepare an overnight culture containing  $1-2 \times 10^8$  cells.
2. Transfer 1 ml of the cell suspension to a 1.5 ml microcentrifuge tube on ice.
3. Centrifuge for 5 s at 13,000–16,000 x g to pellet cells.
4. Carefully discard the supernatant by pipetting or pouring.
5. Add 300 µl Cell Suspension Solution, and pipet up and down.
6. Add 1.5 µl Lytic Enzyme Solution, and mix by inverting 25 times. Incubate for 30 min at 37°C.
7. Centrifuge for 1 min at 13,000–16,000 x g to pellet cells.
8. Carefully discard the supernatant by pipetting or pouring.
9. Add 300 µl Cell Lysis Solution, and pipet up and down to lyse the cells.
10. Add 100 µl Protein Precipitation Solution, and vortex vigorously for 20 s at high speed.
11. Centrifuge for 3 min at 13,000–16,000 x g.  
The precipitated proteins should form a tight pellet. If the protein pellet is not tight, incubate on ice for 5 min and repeat the centrifugation.
12. Pipet 300 µl isopropanol into a clean 1.5 ml microcentrifuge tube and add the supernatant from the previous step by pouring carefully.  
Be sure the protein pellet is not dislodged during pouring.
13. Mix by inverting gently 50 times.
14. Centrifuge for 1 min at 13,000–16,000 x g.  
The DNA may be visible as a small white pellet.
15. Carefully discard the supernatant, and drain the tube by inverting on a clean piece of absorbent paper, taking care that the pellet remains in the tube.

16. Add 300  $\mu$ l of 70% ethanol and invert several times to wash the DNA pellet.
17. Centrifuge for 1 min at 13,000–16,000  $\times$  *g*.
18. Carefully discard the supernatant. Drain the tube on a clean piece of absorbent paper, taking care that the pellet remains in the tube. Allow to air dry for 5 min.  
The pellet might be loose and easily dislodged. Avoid over-drying the DNA pellet, as the DNA will be difficult to dissolve.
19. Add 100  $\mu$ l DNA Hydration Solution and vortex for 5 s at medium speed to mix.
20. Add 1.5  $\mu$ l RNase A Solution, and mix by vortexing by 1 s. Pulse spin to collect liquid, and incubate at 37°C for 15–60 min.
21. Incubate at 65°C for 1 h to dissolve the DNA.
22. Incubate at room temperature (15–25°C) overnight with gentle shaking. Ensure tube cap is tightly closed to avoid leakage. Samples can then be centrifuged briefly and transferred to a storage tube.

## e) Präparationsprotokoll zur DNA-Extraktion der gramnegativen Bakterien

### Protocol: DNA Purification from Gram-Negative Bacteria Using the Gentra Puregene Yeast/Bact. Kit

This protocol is for purification of genomic DNA from fresh or frozen samples of 0.5 ml Gram-negative bacterial cultures using the Gentra Puregene Yeast/Bact. Kit.

#### Things to do before starting

- Preheat water baths to 37°C for use in step 6, 65°C for use in step 18, and 80°C for use in step 5 of the procedure.
- Gram-negative bacterial cultures can be used either fresh or frozen. Typically, an overnight culture contains  $1-3 \times 10^9$  cells/ml. Due to the small genome size of Gram-negative bacteria, up to  $3 \times 10^9$  cells may be used for the protocol. Thus, culture can either be used directly, or, if necessary, concentrated by centrifuging. To concentrate, pellet 1 ml of overnight culture at 13,000–16,000 x g for 1 min. Remove the supernatant, leaving 200 µl residual fluid. Thoroughly suspend the pellet in the residual fluid by pipetting up and down 10 times. Place the sample on ice for immediate use or store frozen at –80°C.
- Frozen bacterial samples should be thawed and equilibrated to room temperature (15–25°C) before beginning the procedure.

#### Procedure

1. Prepare an overnight culture.
2. Transfer 500 µl of the culture (containing approximately  $0.5-1.5 \times 10^9$  cells) to a 1.5 ml microcentrifuge tube on ice.
3. Centrifuge for 5 s at 13,000–16,000 x g to pellet cells.
4. Carefully discard the supernatant by pipetting or pouring.
5. Add 300 µl Cell Lysis Solution, and mix by pipetting up and down. Incubate sample at 80°C for 5 min to lyse the cells.

Samples are stable in Cell Lysis Solution for at least 2 years at room temperature (15–25°C).

6. Add 1.5 µl RNase A Solution, and mix by inverting 25 times. Incubate for 15–60 min at 37°C.
7. Incubate for 1 min on ice to quickly cool the sample.
8. Add 100 µl Protein Precipitation Solution, and vortex vigorously for 20 s at high speed.
9. Centrifuge for 3 min at 13,000–16,000 x g.

The precipitated proteins should form a tight pellet. If the protein pellet is not tight, incubate on ice for 5 min and repeat the centrifugation.

10. **Pipet 300  $\mu$ l isopropanol into a clean 1.5 ml microcentrifuge tube and add the supernatant from the previous step by pouring carefully.**  
Be sure the protein pellet is not dislodged during pouring.
11. **Mix by inverting gently 50 times.**
12. **Centrifuge for 1 min at 13,000–16,000  $\times$  g.**  
The DNA will be visible as a small white pellet.
13. **Carefully discard the supernatant, and drain the tube by inverting on a clean piece of absorbent paper, taking care that the pellet remains in the tube.**
14. **Add 300  $\mu$ l of 70% ethanol and invert several times to wash the DNA pellet.**
15. **Centrifuge for 1 min at 13,000–16,000  $\times$  g.**
16. **Carefully discard the supernatant. Drain the tube on a clean piece of absorbent paper, taking care that the pellet remains in the tube. Allow to air dry for 5 min.**  
The pellet might be loose and easily dislodged. Avoid over-drying the DNA pellet, as the DNA will be difficult to dissolve.
17. **Add 100  $\mu$ l DNA Hydration Solution and vortex for 5 s at medium speed to mix.**
18. **Incubate at 65°C for 1 h to dissolve the DNA.**
19. **Incubate at room temperature overnight with gentle shaking. Ensure tube cap is tightly closed to avoid leakage. Samples can then be centrifuged briefly and transferred to a storage tube.**

f) Präparationsprotokoll zur DNA-Extraktion der HaCaT-Zellen (QIAmp DNA Blood Mini Kit)

(Protease-Stocklösung: 24 mg + 1,2 ml Lösung (stabil 2 Monate: 2-8 °C, aliquot. -20 °C))

- 20 µl Proteaselösung + 200 µl Zelllösung mischen
- + 200 µl Buffer AL, mischen, kurz zentrifugieren
- 20 min Inkubation bei 56 °C, kurz zentrifugieren
- + 200 µl 96-100 % Ethanol, mischen, kurz zentrifugieren
- gesamtes Volumen auf Säule pipettieren (620 µl/ Säule)
- Zentrifugieren: 1 min. 8000 rpm
- Eluat verwerfen, Säule in neues E-Cup stellen
- + 500 µl AW1
- Zentrifugieren: 1 min. 8000 rpm
- Eluat verwerfen
- + 500 µl AW2
- Zentrifugieren: 2 min. 13000 rpm
- Eluat verwerfen
- Wdh. trocken zentrifugieren
- Säule in steriles 1,5 ml E-Cup stellen
- + 200 µl Buffer AE, 1 min Inkubation bei Raumtemperatur
- Zentrifugieren: 1 min. 8000 rpm
- Eluat enthält DNA

## Literaturverzeichnis

- [1] LANGMUIR, I.: Oscillations in Ionized Gases. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 14(8) (1928), August, S. 627-637
- [2] TROMPETER, F.-J.: *Barrierentladungen zum Abbau von Schadstoffen in motorischen Verbrennungsabgasen*, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Diss., April 2001
- [3] KOGELSCHATZ, U.: Dielectric-Barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications. In: *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 23 (2003), März, Nr. 1, S. 1-46
- [4] WIENEKE, S.; BORN, S. ; VIÖL, W.: Sealed-off CO<sub>2</sub> lasers excited by an all-solid-state 0.6 MHz generator. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 33 (2000), Nr. 11, S. 1282-1286
- [5] OKAZAKI, S.; KOGOMA, M.; UEHARA, M. ; KIMURA, Y.: Appearance of stable glow discharge in air, argon, oxygen and nitrogen at atmospheric pressure using a 50 Hz source. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 26 (1993), Nr. 5, S. 889-892
- [6] MASSINES, F.; RABEHI, A.; DECOMPS, P.; GADRI, R.B.; SEGUR, P. ; MAYOUX, C.: Experimental and theoretical study of a glow discharge at atmospheric pressure controlled by dielectric barrier. In: *Journal of Applied Physics* 83 (1998), Nr. 6, S. 2950-2957
- [7] TEPPER, J.; LINDMAYER, M. ; SALGE, J.: Pulsed uniform barrier discharges at atmospheric pressure. In: *HAKONE VI International Symposium on High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry 1, Cork, Ireland, 1998*
- [8] PALMER, A.J.: A physical model on the initiation of atmospheric pressure glow discharges. In: *Applied Physics Letters* 25 (1974), August, Nr. 3, S. 138-140
- [9] BRENNING, N.; AXNAS, I.; NILSSON, J.O. ; ENINGER, J.E.: High Pressure Pulsed Avalanche Discharges: Formulas for Required Preionization Density and Rate for Homogeneity. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 25 (1997), S. 83-88
- [10] KOGELSCHATZ, U.: Fundamentals and applications of dielectric barrier discharges. In: *Proceedings HAKONE VII, Vol. 1, 1-7, Greifswald, 2000*

- [11] GERTHSEN, C.; MESCHEDE, D. ; VOGEL, H.: *Gerthsen Physik*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2010
- [12] KAPZOW, N.A.: *Elektrische Vorgaenge in Gasen und im Vakuum*. VEB Verlag der Wissenschaften, Berlin, 1955
- [13] GERICKE, K.-H.; BÜTTGENBACH, S.: Abschlußbericht des Teilvorhabens Mikroreaktordesign Konzeption und Realisation des Reaktormoduls, Analyse der chemischen Abbauprozess im Rahmen des Verbundvorhabens Elektrisch steuerbare Mikroreaktoren zur Abgasentsorgung fluorhaltiger Substanzen / Technische Universität Braunschweig. 2003. – Forschungsbericht
- [14] MEINERS, A.: *Entwicklung, Charakterisierung und Anwendungen nichtthermischer Luft- Plasmajets*, Georg-August-Universität Göttingen, Diss., 2011
- [15] STROTH, U.: *Materialien zu Vorlesungen der Plasmaphysik*. [www.ipf.uni-stuttgart.de/lehre/plasmaphys](http://www.ipf.uni-stuttgart.de/lehre/plasmaphys)
- [16] HOLZER, F.: *Oxidation von organischen Verbindungen unter Nutzung von porösen und unporösen Feststoffen im nichtthermischen Plasma*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 2003
- [17] HINRICHSSEN, V.: *Hochspannungstechnik, Vorlesungsskript*. Technische Universität Darmstadt, 2011
- [18] KOUBEK, B.: *Entwicklung und Untersuchung eines Pulsgenerators zur Ansteuerung dielektrisch behinderter Entladungen*, Goethe-Universität Frankfurt am Main, Diplomarbeit, 2009
- [19] KOGELSCHATZ, U.: Filamentary and Diffuse Barrier Discharges. In: *APP Spring Meeting Greifswald*, 2001
- [20] AYAN, H.; STAACK, D.; FRIDMAN, G.; GUTSOL, A.; MUKHIN, Y.; STARIKOVSKII, A.; FRIDMAN, A. ; FRIEDMAN, G.: Application of nanosecond-pulsed dielectric barrier discharge for biomedical treatment of topographically non-uniform surfaces. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 42 (2009), Nr. 12, S. 125202 (5pp)
- [21] *Kapitel Basics and Biomedical Applications of Dielectric Barrier Discharge (DBD)*. In: BIBINOV, N.; RAJASEKARAN, P.; MERTMANN, P.; WANDKE, D.; VIÖL, W. ; AWAKOWICZ, P.: *Biomedical Engineering, Trends in Materials Science*. InTech, 2011
- [22] TRAMPERT, K.: *Ladungstransportmodell dielektrisch behinderter Entladungen*, Universität Karlsruhe (TH), Diss., 2008
- [23] BECKER, K.H.; KOGELSCHATZ, U. ; SCHOENBACH, K.H.: *Non-Equilibrium Air Plasmas at Atmospheric Pressure*. Institute of Physics, 2005

- [24] RÜCKAUF, A.: *Zur Entladungscharakteristik und Stoffwandlung im nichtthermischen Plasma des ferroelektrischen Schüttungsreaktors*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 2002
- [25] ITIKAWA, Y.: Cross Sections for Electron Collisions with Nitrogen Molecules. In: *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 35 (2005), Nr. 1, S. 31–53
- [26] BRANDENBURG, R.; EHLBECK, J.; STIEBER, M.; WOEDTKE, T. von; ZEYMER, J.; SCHLUETER, O. ; WELTMANN, K.-D.: Antimicrobial Treatment of Heat Sensitive Materials by Means of Atmospheric Pressure Rf-Driven Plasma Jet. In: *Contributions to Plasma Physics* 47 (2007), Nr. 1-2, S. 72–79
- [27] HALFMANN, H.; BIBINOV, N.; WUNDERLICH, J. ; AWAKOWICZ, P.: A double inductively coupled plasma for sterilization of medical devices. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 40 (2007), Nr. 14, S. 4145
- [28] DENG, X.T.; SHI, J.J. ; KONG, M.G.: Protein destruction by a helium atmospheric pressure glow discharge: capability and mechanisms. In: *Journal of Applied Physics* 101 (2007), Nr. 7, S. 074701
- [29] MOREAU, M.; ORANGE, N. ; FEUILLOLEY, M.G.J.: Non-thermal plasma technologies: New tools for bio-decontamination. In: *Biotechnology Advances* 26 (2008), S. 610–617
- [30] Schutzrecht DE 103 24 926 ( 03.02.2005). VIÖL, W. (Erfinder); Cinogy (Anmelder).
- [31] KONG, M.G.; KROESEN, G.; MORFILL, G.; NOSENKO, T.; SHIMIZU, T.; DIJK, J. van ; ZIMMERMANN, J.L.: Plasma medicine: an introductory review. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115012 (35pp)
- [32] LAROSSI, M.: Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. In: *Plasma Science, IEEE Transactions on* 24 (1996), jun, Nr. 3, S. 1188–1191
- [33] LAROSSI, M.; ALEXEFF, I. ; KANG, W.L.: Biological decontamination by nonthermal plasmas. In: *Plasma Science, IEEE Transactions on* 28 (2000), feb, Nr. 1, S. 184–188
- [34] LAROSSI, M.: Nonthermal Decontamination of Biological Media by Atmospheric-Pressure Plasmas: Review, Analysis and Prospects. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 30 (2002), August, Nr. 4, S. 1409–1415
- [35] LAROSSI, M.; MINAYEVA, O.; DOBBS, F.C. ; WOODS, J.: Spores Survivability After Exposure to Low-Temperature Plasmas. In: *Plasma Science, IEEE Transactions on* 34 (2006), aug., Nr. 4, S. 1253–1256

- [36] FRIDMAN, G.; PEDDINGHAUS, M.; BALASUBRAMANIAN, M.; AYAN, H.; FRIDMAN, A.; GUTSOL, A. ; BROOKS, A.: Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air. In: *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 26 (2006), August, Nr. 4, S. 425–442
- [37] FRIDMAN, G.; SHERESHEVSKY, A.; JOST, M.; BROOKS, A.; FRIDMAN, A.; GUTSOL, A.; VASILETS, V. ; FRIEDMAN, G.: Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge Plasma in Air Promoting Apoptotic Behavior in Melanoma Skin Cancer Cell Lines. In: *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 27 (2007), April, Nr. 2, S. 163–176
- [38] DOBRYNIN, D.; FRIDMAN, G.; FRIEDMAN, G. ; FRIDMAN, A.: Mechanisms of direct dielectric barrier discharge plasma inactivation of *e. coli*. In: *IEEE International Conference on Plasma Science - Abstracts ICOPS 2009*, 2009, S. 1
- [39] WU, A.S.; KALGHATGI, S.; DOBRYNIN, D.; SENSENIG, R.; PODOLSKY, E.; DULAIMI, E.; PAFF, M.; GARCIA, K.; WASKO, K.; FRIDMAN, G.; BALASUBRAMANIAN, M.; OWNBEY, R.; BARBEE, K.A.; FRIDMAN, A.; FRIEDMAN, G.; JOSHI, S.G. ; BROOKS, A.D.: Porcine intact and wounded skin responses to FE-DBD atmospheric non-thermal plasma. In: *The Journal of surgical research* 179 (2013)
- [40] STOFFELS, E.; FLIKWEERT, A.J.; STOFFELS, W.W. ; KROESEN, G.M.W.: Plasma needle: a non-destructive atmospheric plasma source for fine surface treatment of (bio)materials. In: *Plasma Sources Science and Technology* 11 (2002), Nr. 4, S. 383–388
- [41] STOFFELS, E.; KIEFT, I.E.; SLADEK, R.E.J.; BEDEM, L.J.M. van d.; LAAN, E.P. van d. ; STEINBUCH, M.: Plasma needle for in vivo medical treatment: recent developments and perspectives. In: *Plasma Sources Science and Technology* 15 (2006), Nr. 4, S. S169–S180
- [42] IZA, F.; KIM, G.J.; LEE, S.M.; LEE, J.K.; WALSH, J.L.; ZHANG, Y.T. ; M.G.KONG: Microplasmas: Sources, Particle Kinetics, and Biomedical Applications. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 4, S. 322–344
- [43] LEE, S.M.; HONG, Y.J.; SEO, Y.S.; IZA, F.; KIM, G.C. ; LEE, J.K.: Simulations of biomedical atmospheric-pressure discharges. In: *Computer Physics Communications* 180 (2009), Nr. 4, S. 636 – 641
- [44] VANDAMME, M.; ROBERT, E.; PESNEL, S.; BARBOSA, E.; DOZIAS, S.; SOBILO, J.; LERONDEL, S.; PAPE, A. L. ; POUVESLE, J.-M.: Antitumor Effect of Plasma Treatment on U87 Glioma Xenografts: Preliminary Results. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, S. 264–273
- [45] VANDAMME, M.; ROBERT, E.; LERONDEL, S.; SARRON, V.; RIES, D.; DOZIAS, S.; SOBILO, J.; GOSSET, D.; KIEDA, C.; LEGRAIN, B.; POUVESLE, J.-M. ; PAPE, A. L.:

- ROS implication in a new antitumor strategy based on non-thermal plasma. In: *International Journal of Cancer* 130 (2012), Nr. 9, S. 2185–2194
- [46] ROBERT, E.; VANDAMME, M.; SOBILO, J.; SARRON, V.; RIES, D.; DOZIAS, S.; BRULLE, L.; LERONDEL, S.; PAPE, A. L. ; POUVESLE, J.-M.: First Achievements and Opportunities for Cancer Treatment Using Non-thermal Plasma. In: MACHALA, Zdenko (Hrsg.); HENSEL, Karol (Hrsg.) ; AKISHEV, Yuri (Hrsg.): *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*. Springer Netherlands, 2012 (NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology), S. 381–392
- [47] SHIMIZU, T.; STEFFES, B.; POMPL, R.; JAMITZKY, F.; BUNK, W.; RAMRATH, K.; GEORGI, M.; W.STOLZ; SCHMIDT, H.-U.; URAYAMA, T.; FUJII, S. ; MORFILL, G.E.: Characterization of Microwave Plasma Torch for Decontamination. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 6, S. 577–582
- [48] FOEST, R.; KINDEL, E.; A., H. L.; OHL; STIEBER, M. ; WELTMANN, K.-D.: RF Capillary Jet - a Tool for Localized Surface Treatment. In: *Contributions to Plasma Physics* 47 (2007), Nr. 1-2, S. 119–128
- [49] WELTMANN, K.-D.; KINDEL, E.; BRANDENBURG, R.; MEYER, C.; BUSSIAHN, R.; WILKE, C. ; WOEDTKE, T. von: Atmospheric Pressure Plasma Jet for Medical Therapy: Plasma Parameters and Risk Estimation. In: *Contributions to Plasma Physics* 49 (2009), Nr. 9, S. 631–640
- [50] LANGE, H.; FOEST, R.; SCHÄFER, J. ; WELTMANN, K.-D.: Vacuum UV Radiation of a Plasma Jet Operated With Rare Gases at Atmospheric Pressure. In: *Plasma Science, IEEE Transactions on* 37 (2009), june, Nr. 6, S. 859 –865
- [51] TÜMMEL, S.; MERTENS, N.; WANG, J. ; W. VIÖL, Wolfgang: Low Temperature Plasma Treatment of Living Human Cells. In: *Plasma Processes and Polymers* 4 (2007), Nr. S1, S. S465–S469
- [52] KUCHENBECKER, M.; BIBINOV, N.; KAEMLING, A.; WANDKE, D.; AWAKOWICZ, P. ; VIÖL, W.: Characterization of DBD plasma source for biomedical applications. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 42 (2009), Nr. 4, S. 045212 (10pp)
- [53] HELMKE, A.; HOFFMEISTER, D.; BERGE, F.; EMMERT, S.; LASPE, P.; MERTENS, N.; VIÖL, W. ; WELTMANN, K.-D.: Physical and Microbiological Characterisation of Staphylococcus epidermidis Inactivation by Dielectric Barrier Discharge Plasma. In: *Plasma Processes and Polymers* 8 (2011), Nr. 4, S. 278–286
- [54] MORFILL, G.E.; SHIMIZU, T.; STEFFES, B. ; SCHMIDT, H.-U.: Nosocomial infections: a new approach towards preventive medicine using plasmas. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115019 (10pp)

- [55] EMMERT, S.; BREHMER, F.; HÄNSSLE, H.; HELMKE, A.; MERTENS, N.; AHMED, R.; SIMON, D.; WANDKE, D.; MAUS-FRIEDRICHS, W.; DÄSCHLEIN, G.; SCHÖN, M.P. ; VIÖL, W.: Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. In: *Clinical Plasma Medicine* (2013), Nr. 0
- [56] ISBARY, G.; MORFILL, G.; SCHMIDT, H.U.; GEORGI, M.; RAMRATH, K.; HEINLIN, J.; KARRER, S.; LANDTHALER, M.; SHIMIZU, T.; STEFFES, B.; BUNK, W.; MONETTI, R.; ZIMMERMANN, J.L.; POMPL, R. ; STOLZ, W.: A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. In: *British Journal of Dermatology* 163 (2010), Nr. 1, S. 78–82
- [57] ISBARY, G.; ZIMMERMANN, J.L.; SHIMIZU, T.; LI, Y.-F.; MORFILL, G.E.; THOMAS, H.M.; STEFFES, B.; HEINLIN, J.; KARRER, S. ; STOLZ, W.: Non-thermal plasma - More than five years of clinical experience. In: *Clinical Plasma Medicine* (2013), Nr. 0
- [58] LLOYD, G.; FRIDMAN, G.; JAFRI, S.; SCHULTZ, G.; FRIDMAN, A. ; HARDING, K: Gas Plasma: Medical Uses and Developments in Wound Care. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, S. 194–211
- [59] ROSSI, F.; KYLIAN, O.; RAUSCHER, H.; HASIWA, M. ; GILLILAND, D.: Low pressure plasma discharges for the sterilization and decontamination of surfaces. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115017 (33pp)
- [60] JIANG, C.; CHEN, M.-T.; GORUR, A.; SCHAUDINN, C.; JARAMILLO, D.E.; COSTERTON, J.W.; SEDGHIZADEH, P.P.; VERNIER, P.T. ; GUNDERSEN, M.A.: Nanosecond Pulsed Plasma Dental Probe. In: *Plasma Processes and Polymers* 6 (2009), Nr. 8, S. 479–483
- [61] RUPF, S.; LEHMANN, A.; HANNIG, M.; SCHÄFER, B.; SCHUBERT, A.; FELDMANN, U. ; SCHINDLER, A.: Killing of adherent oral microbes by a non-thermal atmospheric plasma jet. In: *J Med Microbiol* 59 (2010), Nr. 2, S. 206–212
- [62] POTTER, M.J.; HARRISON, R.; RAMSDEN, A.; BRYAN, B.; ANDREWS, P. ; GAULT, D.: Facial acne and fine lines: transforming patient outcomes with plasma skin regeneration. In: *Annals of Plastic Surgery* 58 (6) (2007), S. 608–13
- [63] ELSAIE, M.L.; KAMMER, J.N.: Evaluation of plasma skin regeneration technology for cutaneous remodeling. In: *Journal of Cosmetic Dermatology* 7 (2008), Nr. 4, S. 309–311
- [64] LEE, H.W.; KIM, G.J.; KIM, J.M.; PARK, J.K.; LEE, J.K. ; KIM, G.C.: Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. In: *Journal of Endodontics* 35(4) (2009), S. 587–91

- [65] DOBRYNIN, D.; WU, A.; KALGHATGI, S.; PARK, S.; SHAINSKY, N.; WASKO, K.; DUMANI, E.; OWNBEY, R.; JOSHI, S.; SENSENIG, R. ; BROOKS, A.D.: Live Pig Skin Tissue and Wound Toxicity of Cold Plasma Treatment. In: *Plasma Medicine* 1 (2011), Nr. 1, S. 93–108
- [66] BREHMER, F.; HÄNSSLE, H.A.; DÄSCHLEIN, G.; GÖRLITZ, R. Ahmedand A.; SIMON, D.; SCHÖN, M.P.; WANDKE, D. ; EMMERT, S.: Treatment of chronic venous leg ulcers with a hand-held DBD plasma generator (PlasmaDerm® VU-2010): Results of a monocentric, two-armed, open, randomized, and controlled trial (NCT01415622), *Experimental Dermatology*, 2013
- [67] ELIASSON, B.; KOGELSCHATZ, U.: Nonequilibrium volume plasma chemical processing. In: *Plasma Science, IEEE Transactions on* 19 (1991), dec, Nr. 6, S. 1063–1077
- [68] PITCHFORD, L.C.; ONEIL, S.V. ; RUMBLE, J.R.: Extended Boltzmann analysis of electron swarm experiments. In: *Phys. Rev. A* 23 (1981), Jan, S. 294–304
- [69] WINTER, M.: *Emissionsspektroskopische Untersuchung der Umströmung von Probenkörpern in hochenthalpen Plasmaströmungen*, Universität Stuttgart, Diss., 2006
- [70] LASERTECHNIK, Berlin: *Aryelle 150 Echellespektrometer, Datenblatt*. 2012
- [71] STAACK, D.; FAROUK, B.; GUTSOL, A.F. ; FRIDMAN, A.A.: Spectroscopic studies and rotational and vibrational temperature measurements of atmospheric pressure normal glow plasma discharges in air. In: *Plasma Sources Science and Technology* 15 (2006), Nr. 4, S. 818–827
- [72] HIRSCHBERG, J.: *Charakterisierung einer medizinischen Plasmaquelle mit  $\mu$ s- und ns- Anregung*, Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst Hildesheim/ Holzminden/ Göttingen, Masterarbeit, 2012
- [73] PANCHESHNYI, S.: Comments on 'Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas'. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 39 (2006), Nr. 8, S. 1708
- [74] OMAIRI, T.: *Elektronentemperaturbestimmung einer dielektrisch behinderten Entladung für klinische Anwendungen*, Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst Hildesheim/ Holzminden/ Göttingen, Masterarbeit, 2012
- [75] KOSSYI, I.A.; KOSTINSKY, A.Y.; MATVEYEV, A.A. ; SILAKOV, V.P.: Kinetic scheme of the non-equilibrium discharge in nitrogen-oxygen mixtures. In: *Plasma Sources Science and Technology* 1 (1992), Nr. 3, S. 207–220
- [76] NON-IONIZING RADIATION PROTECTION, The International C.: Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelengths between 180nm and 400nm (Incoherent optical radiation). In: *Health Physics* 87 (2004), Nr. 2, S. 171–186

- [77] FALKENSTEIN, Z.; COOGAN, J.J.: Microdischarge behaviour in the silent discharge of nitrogen - oxygen and water - air mixtures. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 30 (1997), Nr. 5, S. 817
- [78] KOO, I.G.; CHO, J.H. ; LEE, W. M.: Influence of the Gas Humidity on the Uniformity of RF-Powered Atmospheric-Pressure Low-Temperature DBD Plasmas. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 2, S. 161–167
- [79] KIKUCHI, Y.; MIYAMAE, M.; NAGATA, M. ; FUKUMOTO, N.: Effects of Environmental Humidity and Temperature on Sterilization Efficiency of Dielectric Barrier Discharge Plasmas in Atmospheric Pressure Air. In: *Japanese Journal of Applied Physics* 50 (2011)
- [80] FRIDMAN, G.; FRIEDMAN, G.; GUTSOL, A.; SHEKHTER, A.B.; VASILETS, V.N. ; FRIDMAN, A.: Applied Plasma Medicine. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 6, S. 503–533
- [81] PEKÁREK, S.: Non-Thermal Plasma Ozone Generation. In: *Acta Polytechnica* 43 (2003), Nr. 6, S. 47–51
- [82] KOLB, H.; KOLB-BACHOFEN, V.: Nitric oxide in autoimmune disease: cytotoxic or regulatory mediator? In: *Immunology Today* 19 (1998), Nr. 12, S. 556 – 561
- [83] KELLER-RUDEK, H.; MOORTGAT, G. K.: *MPI-Mainz-UV-VIS Spectral Atlas of Gaseous Molecules*. <http://www.atmosphere.mpg.de/enid/2295>
- [84] ELIASSON, B.; HIRTH, M. ; KOGELSCHATZ, U.: Ozone synthesis from oxygen in dielectric barrier discharges. In: *J.Phys. D: Appl. Phys.* 20 (1987), S. 1421–1437
- [85] MCCLURKIN, J.D.; MAIER, D.E.: Half-life time of ozone as a function of air conditions and movement. In: *10th International Working Conference on Stored Product Protection*, 2010
- [86] MAHMOODZADA, M.: *Absorptionsspektroskopische Bestimmung der Ozonkonzentration in der Gasentladung verschiedener DBD Plasmen*. 2012
- [87] PETERS, F.: *Messung der Konzentration von Stickstoffmonoxid in medizinischen Plasmaquellen*, Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst Hildesheim/ Holzminden/ Göttingen, Masterarbeit, 2012
- [88] HANS, S.: *Untersuchungen zur Plasmabehandlung von Haut mit dem medizinischen Plasmagenerator*, Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst Hildesheim/ Holzminden/ Göttingen, Diplomarbeit, 2007
- [89] HELMKE, A.; HOFFMEISTER, D.; MERTENS, N.; EMMERT, S.; SCHUETTE, J. ; VIOEL, W.: The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), S. 115025 (10pp)

- [90] BLACK, J.G.: *Microbiology: Principles and Explorations*. John Wiley & Sons, 2008
- [91] HELMKE, A.; GRÜNIG, P.; FRITZ, U.-M.; WANDKE, D.; EMMERT, S.; PETERSEN, K. ; VIÖL, W.: Low-temperature Plasma - a Prospective Microbicidal Tool. In: *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* 7 (2012), Nr. 3, S. 223–30
- [92] DUPAGE, College of: *Biology 1151: Principles of Biological Science*. <http://bio1151.nicerweb.com/>, 2010
- [93] ASSOCIATION, International U.: General Guideline for UVGI Air and Surface Disinfection Systems. (2005)
- [94] POSSELT, D.: *Eisen(diarylsalen)-Komplexe als neuartige Zytostatika: Synthese, pharmakologische und biochemische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus*, Freie Universität Berlin, Diss., 2006
- [95] SZABO, C.; ISCHIROPOULOS, H. ; RADI, R.: Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. In: *Nature Reviews Drug Discovery* 6 (2007), S. 662–680
- [96] YUSUPOV, M.; BOGAERTS, A.; HUYGH, S.; SNOECKX, R.; DUIN, A.C.T. van ; NEYTS, E.C.: Plasma-Induced Destruction of Bacterial Cell Wall Components: A Reactive Molecular Dynamics Simulation. In: *The Journal of Physical Chemistry C* 117 (2013), S. 5993 – 5998
- [97] BOUKAMP, P.; PETRUSSEVSKA, R.T.; BREITKREUTZ, D.; HORNING, J.; MARKHAM, A. ; FUSENIG, N.E.: Normal Keratinization in a Spontaneously Immortalized Aneuploid Human Keratinocyte Cell Line. In: *The Journal of Cell Biology* 106 (1988), S. 761–771
- [98] SCHÜRER, N.; KÖHNE, A.; SCHLIEP, V.; BARLAG, .K ; GOERZ, G.: Lipid composition and synthesis of HaCaT cells, an immortalized human keratinocyte line, in comparison with normal human adult keratinocytes. In: *Experimental Dermatology* 2 (1993), S. 179–85
- [99] KÜRSCHNER, U.: *Untersuchungen zur Toxizität und Biotransformation an der humanen Keratinozytenzelllinie HaCaT*, Martin- Luther- Universität Halle- Wittenberg, Diss., 2007
- [100] COLLEGE, OpenStax: *Biology*. <http://cnx.org/content/col111448/1.9/>. Version: 2013
- [101] BLACKERT, S.; HAERTEL, B.; WENDE, K.; WOEDTKE, T. von ; LINDEQUIST, U.: Influence of non-thermal atmospheric pressure plasma on cellular structures and processes in human keratinocytes (HaCaT). In: *J Dermatol Sci* 70 (2013), Nr. 3, S. 173–181

- [102] RAJASEKARAN, P.; OPLAENDER, C.; HOFFMEISTER, D.; BIBINOV, N.; SUSCHEK, C.V.; WANDKE, D. ; AWAKOWICZ, P.: Characterization of Dielectric Barrier Discharge (DBD) on Mouse and Histological Evaluation of the Plasma-Treated Tissue. In: *Plasma Processes and Polymers* 8 (2011), Nr. 3, S. 246-255

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Plasmabehandlung der Haut . . . . .	2
2.1	Prinzipielle Aufbauten einer DBD (nach [10]); planare Anordnungen mit a) zwei Dielektrika und b) einem Dielektrikum und c) zylindrische Anordnung mit zwei Dielektrika . . . . .	5
2.2	Paschenkurven verschiedener Gase [15] . . . . .	8
2.3	Feldstärkeverlauf in einer Elektronenlawine ( $E_g$ ist die Grundfeldstärke) nach [18] . . . . .	9
2.4	Einfaches Ersatzschaltbild einer DBD . . . . .	13
2.5	Mit Bolsig+ berechnete Elektronenenergieverteilungsfunktionen bei verschiedenen reduzierten elektrischen Feldstärken . . . . .	17
2.6	In der Plasmamedizin eingesetzte Quellen: a) DBD, b) BCD, c) Jet . . . . .	18
3.1	Strom- und Spannungsverlauf von a) CP 100 und b) NanoCube . . . . .	24
3.2	Schematischer Aufbau der Elektrode . . . . .	25
3.3	CP 100 mit Elektrode . . . . .	26
3.4	NanoCube mit Elektrode . . . . .	26
3.5	Gasentladungen der beiden Quellen, aufgenommen mit einer Canon EOS 300D, Belichtungszeit 5 s . . . . .	27
3.6	Schematischer Messaufbau für die elektrischen Messungen . . . . .	27
3.7	Temperaturverlauf auf der Aluminiumplatte beim Einsatz des NanoCube . . . . .	32
3.8	Darstellung der diskreten Energieniveaus eines Moleküls und eines Strahlungsübergangs zwischen zwei Zuständen [69] . . . . .	33
3.9	Potentialkurven von $N_2$ nach [14]; die roten Pfeile kennzeichnen die verwendeten Übergänge . . . . .	34
3.10	Aufbau eines Echellespektrometers [70] . . . . .	35
3.11	Emissionsspektren a) der CP 100 und b) des NanoCube . . . . .	36
3.12	Gemessenes und simuliertes Spektrum von a) CP 100 und b) NanoCube. Die Simulationsparameter sind auf Seite 37 zu finden. . . . .	39
3.13	Emissionswirkungsquerschnitte von Elektronenstößen mit $N_2$ - Molekülen der 0-0-Transitionen des 2. positiven Systems von $N_2$ bei 337,1 nm und des 1. negativen Systems von $N_2^+$ bei 391,44 nm [25] . . . . .	40
3.14	Berechnete Intensitätsverhältnisse von CP 100 und NanoCube über die reduzierte elektrische Feldstärke . . . . .	43

3.15	Mit Bolsig+ berechnete mittlere Elektronenenergie $\bar{\epsilon}$ . . . . .	44
3.16	Schematischer Messaufbau für die UV-Messung . . . . .	46
4.1	Absorptionswirkungsquerschnitte für typische Spezies im Luftplasma (nach [83]) . . . . .	50
4.2	Schematischer Messaufbau für die Absorptionsspektroskopie . . . . .	51
4.3	Simulierte Teilchendichten typischer Spezies im Luftplasma [67] . . . . .	53
4.4	Absorptionswirkungsquerschnitt von Ozon [83] . . . . .	54
4.5	Messaufbau zur Bestimmung der Ozonkonzentration, a) Faser zur Lampe, b) Kollimationslinsen, c) Messkammer, d) Faser zum Spektrometer . . . . .	55
4.6	Ozonkonzentration in der Gasentladung des NanoCube bei a) 2 s und b) 60 s Plasmadauer (grau unterlegter Bereich: eingeschaltetes Plasma) . . . . .	57
4.7	Gemessenes Spektrum und Spektrum nach Basislinien-Korrektur . . . . .	58
4.8	Emissionsspektrum der elektrodenlosen Entladungslampe . . . . .	59
4.9	Stickstoffmonoxidkonzentrationen in der Gasentladung des NanoCube bei a) 2 s und b) 60 s Plasmadauer (grau unterlegter Bereich: eingeschaltetes Plasma) . . . . .	60
5.1	Unterschiede im Aufbau der Zellwand bei a) grampositiven und b) gramnegativen Bakterien [90] . . . . .	68
5.2	Plasmabehandelte Petrischalen mit a) <i>E. coli</i> , b) <i>P. aeruginosa</i> und c) <i>C. albicans</i> . Links ist die Kontrolle abgebildet, die Petrischalen in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt. . . . .	70
5.3	Ausgezählte KBE auf CASO-Agar innerhalb und außerhalb des mit CP 100 und NanoCube behandelten Bereichs . . . . .	71
5.4	Plasmabehandelte Mikroorganismen (a) <i>E. coli</i> , b) <i>P. aeruginosa</i> und c) <i>C. albicans</i> ). Links ist die Kontrolle abgebildet, die Keime in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt ( <i>P. aeruginosa</i> nur 60 s) . . . . .	73
5.5	Prinzip der Gelelektrophorese [92] . . . . .	75
5.6	Gelelektrophorese der DNA von <i>C. albicans</i> , <i>P. aeruginosa</i> und <i>E. coli</i> . . . . .	76
5.7	Aufbau der Zellmembran einer humanen Zelle [100] . . . . .	79
5.8	Fluoreszenzmikroskopie plasmabehandelter HaCaT-Zellen. Links ist die Kontrolle abgebildet, die Zellen in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt. . . . .	81
5.9	Randbereich zwischen plasmabehandelten und unbehandelten HaCaT-Zellen . . . . .	82
5.10	REM-Aufnahmen plasmabehandelter HaCaT-Zellen. Links ist die Kontrolle abgebildet, die Zellen in der Mitte wurden mit der CP 100 und rechts mit dem NanoCube behandelt. Die obere Reihe wurde jeweils 2 s, die untere jeweils 60 s behandelt. . . . .	83

5.11 Lichtmikroskopische Aufnahme mit Trypanblau eingefärbter und plasma-behandelter HaCaT-Zellen. Rechts oben ist bogenförmig der Randbereich des Wells zu erkennen. . . . .	84
5.12 Gelelektrophorese der DNA von HaCaT-Zellen. Nr. 1 ist die Kontrolle, Nr. 2 die mit dem NanoCube und Nr. 3 die mit der CP 100 behandelte Probe.	85



# Tabellenverzeichnis

2.1	Typische Parameter einer DBD . . . . .	10
3.1	Eingekoppelte Leistung von CP 100 und NanoCube bei verschiedenen Gegenelektroden . . . . .	30
3.2	Eingebrachte Wärmeleistung von CP 100 und NanoCube in Agar und Aluminium . . . . .	32
3.3	Parameter der verwendeten N <sub>2</sub> -Transitionen . . . . .	42
3.4	Parameter zur Berechnung der Ratenkonstanten mit BOLSIG+ . . . . .	43
3.5	UV-Bestrahlungsstärke und -Dosis von CP 100 und NanoCube . . . . .	46
3.6	Ermittelte Parameter der Plasmaquellen bei verschiedenen relativen Luftfeuchten und konstanter Temperatur (23°C) . . . . .	47
4.1	Ozonkonzentration bei 2 s und 60 s Plasmadauer gemittelt über den gesamten Entladungsraum . . . . .	56
4.2	Stickstoffmonoxidkonzentration in der Entladung bei 2 s und 60 s Plasmadauer . . . . .	60
4.3	pH-Werte nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche . . . . .	62
4.4	Nitritkonzentration in [mmol/l] nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche . . . . .	64
4.5	Nitratkonzentration in [mmol/l] nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche . . . . .	64
4.6	Wasserstoffperoxidkonzentration in [mmol/l] nach 2 s und 60 s Plasmabehandlung mit CP 100 und NanoCube auf der CASO-Agaroberfläche . . . . .	66



# Publikationen und Konferenzbeiträge

## Publikationen

- S. TÜMMEL, N. MERTENS, J. WANG, W. VIÖL: Low Temperature Plasma Treatment of Living Human Cells, *Plasma Processes and Polymers*, Vol. 4, Nr. S1, pp. S465-S469 (2007).
- A. HELMKE, D. HOFFMEISTER, N. MERTENS, S. EMMERT, J. SCHUETTE, W. VIÖL: The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air, *New Journal of Physics*, Vol. 11, (2009)
- P. AWAKOWICZ, N. BIBINOV, M. BORN, B. BUSSE, R. GESCHE, A. HELMKE, A. KAEMLING, V. KOLB-BACHOFEN, R. KOVACS, S. KUEHN, J. LIEBMANN, N. MERTENS, U. NIEMANN, C. OPLAENDER, H.-E. PORTEANU, J. SCHERER, C. SUSCHEK, W. VIÖL, D. WANDKE: Biological Stimulation of the Human Skin Applying Health Promoting Light and Plasma Sources, *Contributions to Plasma Physics*, Vol. 49, Nr. 9, pp. 641-647, (2009)
- N. MERTENS, W. VIÖL: Dielectric barrier discharge plasma - a versatile tool for biological applications, Chapter 7 „*Biological and Environmental Applications of Gas Discharge Plasmas*“, Nova Science Publishers, Inc., pp. 237-261 (2010)
- A. HELMKE, D. HOFFMEISTER, F. BERGE, S. EMMERT, P. LASPE, N. MERTENS, W. VIÖL, K.-D. WELTMANN: Physical and Microbiological Characterisation of Staphylococcus epidermidis Inactivation by Dielectric Barrier Discharge Plasma, *Plasma Processes and Polymers*, Vol. 8 Nr. 4, pp. 278-286 (2011)
- S. EMMERT, F. BREHMER, H. HÄNSSLE, A. HELMKE, N. MERTENS, R. AHMED, D. SIMON, D. WANDKE, W. MAUS-FRIEDRICH, G. DÄSCHLEIN, M. P. SCHÖN, W. VIÖL: Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more, *Clinical Plasma Medicine*, Vol. 1 pp. 24-28 (2013)
- J. HIRSCHBERG, T. OMAIRI, N. MERTENS, A. HELMKE, S. EMMERT AND W. VIÖL: Influence of excitation pulse duration of dielectric barrier discharges on biomedical applications, *Journal of Physics D: Applied Physics*, Vol. 46 (2013)

- N. MERTENS, M. MAHMOODZADA, P. GRÜNIG, P. LASPE, S. EMMERT, W. VIÖL: Inactivation of microorganisms using cold atmospheric pressure plasma with different temporal discharge characteristics, eingereicht in *Plasma Processes and Polymers*, (2013)

## Konferenzbeiträge

- N. MERTENS, S. HANS, W. VIÖL: Low temperature plasma treatment of biological tissue, *International Conference on Plasma Medicine*, Corpus Christi 2007
- N. MERTENS, A. GOPPOLD, S. EMMERT, W. VIÖL: Dielectric barrier discharge - a powerful tool for medical applications, *20<sup>th</sup> International Conference of the Society for Medical Innovation and Technology*, Wien 2008
- N. MERTENS, A. HELMKE, A. GOPPOLD, S. EMMERT, W. VIÖL: Dielectric barrier discharge plasma - an upcoming approach in skin treatment, eingeladener Vortrag, *2<sup>nd</sup> International Workshop on Plasma-Tissue Interaction*, Greifswald 2009
- N. MERTENS, A. HELMKE, A. GOPPOLD, S. EMMERT, W. VIÖL: Low temperature plasma treatment of human tissue, *2<sup>nd</sup> International Conference on Plasma Medicine*, San Antonio 2009
- N. MERTENS, A. HELMKE, D. HOFFMEISTER, D. WANDKE, P. LASPE, S. EMMERT, W. VIÖL: Inactivation of *Staphylococcus epidermidis* - a comparative study of DBD and UV, *3<sup>rd</sup> International Conference on Plasma Medicine*, Greifswald 2010
- N. MERTENS, M. MARSCHESKI, J. HIRSCHBERG, T. OMARI, O. HÖFT, W. MAUS-FRIEDRICHS, S. EMMERT, W. VIÖL: Analysis of plasma treatment skin lipids by XPS, *4<sup>th</sup> International Conference on Plasma Medicine*, Orleans 2012

# Lebenslauf

Name: Nina Mertens  
Geburtsdatum: 11.09.1980  
Geburtsort Göttingen  
Familienstand verheiratet, ein Kind

---

1987-2000 Freie Waldorfschule Göttingen  
2000-2004 Studium der Feinwerktechnik an der Fachhochschule Hildesheim/Holzwinden/Göttingen in Göttingen, Abschluss: Diplomingenieur  
Diplomarbeit: „Aufbau und Erprobung eines mittelfrequenzangeregten diffusionsgekühlten Koaxial-CO<sub>2</sub>-Lasers“  
2004-2006 Studium des Optical Engineering an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst (HAWK) in Göttingen, Abschluss: Master of Science  
Masterarbeit: „UV laser ablation and plasma treatment of wooden surfaces - a comparing investigation“  
2006-2012 Mitarbeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin/ Doktorandin im Forschungsbereich: „Plasmamedizin“ an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst (HAWK) in Göttingen  
2012-2013 Elternzeit