ALTERNATOR
Misliti znanost.

Hladna plinska plazma v mehurju vodne pare ali kako uspešno inaktivirati viruse v vodi

1. 2. 2024

Number: 02/2024

Authors:

- Arijana Filipić
- Gregor Primc



Foto: Aaron Marko

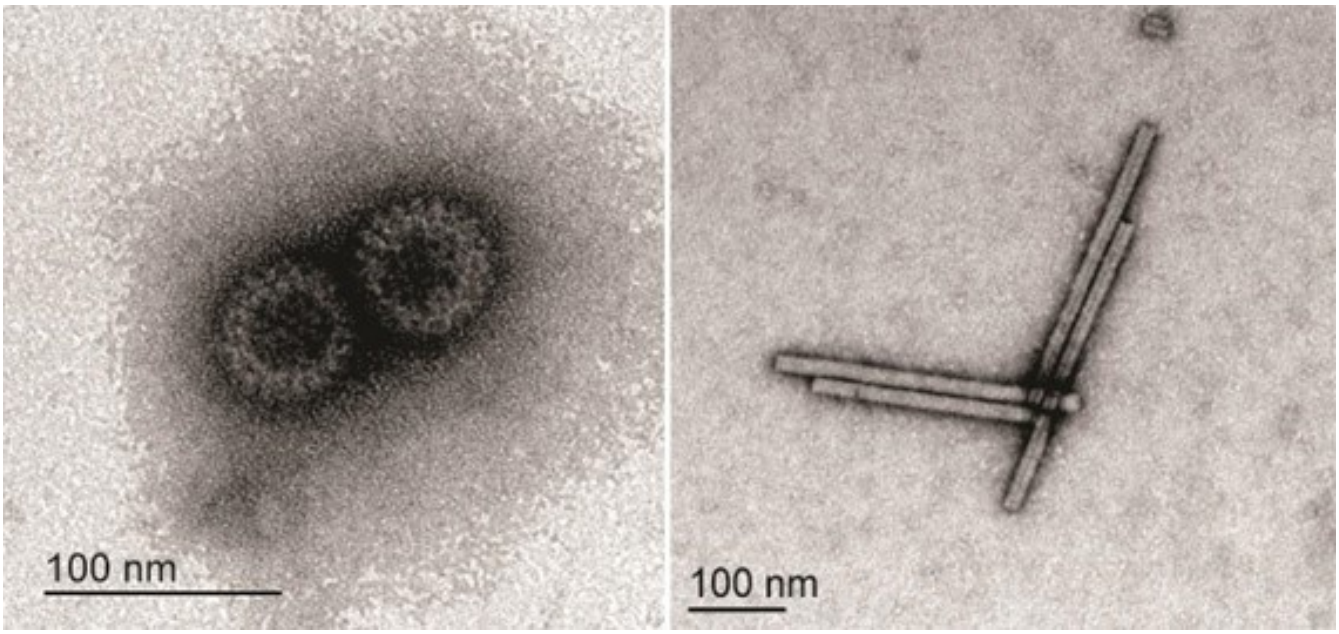
Znano dejstvo je, da brez vode ni življenja, a kljub temu je pomanjkanje čiste vode eden najbolj perečih problemov današnjega časa (https://www.weforum.org/publications/global-risks-report-2022/) . Leta 2020 kar 771 milijonov ljudi (oziroma vsaka deseta oseba) ni imelo dostopa do neoporečne vode (https://washdata.org/sites/default/files/2021-07/jmp-2021-wash-households.pdf) . Do pomanjkanja neoporečne vode prihaja zaradi številnih prepletajočih se razlogov, kot so naraščajoče število prebivalcev, industrializacija ter globalno segrevanje. Vsi ti dejavniki vplivajo na povečanje števila biotskih in abiotskih onesnaževalcev, ki končajo v vodi in povzročajo težave ljudem, živalim in rastlinam. Med tovrstne onesnaževalce sodijo tudi virusi.

Virusi v vodi

Virusi že milijarde let predstavljajo najštevilčnejšo in najbolj raznoliko biološko entiteto na Zemlji. V vsem tem času so se prilagodili na obstoj v različnih ekosistemih, zaradi česar lahko okužujejo vse (mikro)organizme – od enostavnih in enoceličnih bakterij (viruse, ki okužujejo bakterije, imenujemo bakteriofagi) in celo virusov pa vse do ljudi. Po nekaterih ocenah je na Zemlji približno 1×10^{31} (https://doi.org/10.1038/nrmicro2644) virusov, torej več, kot je zvezd v poznanem vesolju. Čeprav ne preseneča dejstvo, da so gonilna sila evolucije na našem planetu, pa natančna vloga večine virusov še vedno ni znana. Vemo, da nekateri ne povzročajo škode; lahko so celo izrazito koristni in pomembni bodisi za gostitelja

bodisi za okolje. Obstajajo pa tudi virusi, ki povzročajo ogromno težav, med drugim tudi taki, ki se prenašajo z vodo.

Rastlinski virusi, ki se prenašajo z vodo, lahko uničijo celotne nasade (če so na primer prisotni v vodi za namakanje), kar privede do velikih finančnih izgub in do pomanjkanja hrane. Eni najbolj problematičnih rastlinskih virusov, ki se prenašajo z vodo, so iz skupine tobamovirusov. Ta vključuje tudi izrazito odporne viruse, ki lahko okužujejo različne rastline. Mednje sodita virus rjave grbančavosti (https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1187920) plodov paradižnika, zelo nevaren virus, ki ogroža pridelavo paradižnika in paprike, ter virus blage lisavosti paprike (https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115628) (Slika 1), ki okužuje in uničuje vse sorte paprike. Poleg rastlinskih virusov se lahko z vodo prenašajo tudi številni humani virusi, izmed katerih so najpomembnejši enterični virusi. To so nevarni virusi, ki povzročajo več milijonov okužb letno, posledica česar je povišano število hospitalizacij in višja smrtnost. Enterični virusi, kot so norovirus, rotavirus, hepatitis A in E, večinoma povzročajo zdravstvene težave prebavnega trakta, kar lahko vodi v nadaljnje zaplete. Prenašajo se po oralno-fekalni poti, zato prihaja do neposrednih okužb z uživanjem okužene vode ali hrane, ki je bila v stiku z okuženo vodo (na primer sadja in zelenjave po namakanju z okuženo vodo ali školjk, gojenih v taki vodi). Tudi enterični virusi so zelo stabilni in lahko ostanejo infektivni v okoljski vodi dlje časa, zato so prisotni v različnih vodah po vsem svetu.



Slika 1: Virusni delci pod elektronskim mikroskopom, in sicer levo rotavirus in desno virus blage lisavosti paprike (posnetka: dr. Magda Tušek Žnidarič)

Ker so virusi, ki se prenašajo z vodo, zelo problematični, jih je treba ustrezno inaktivirati in preprečiti njihovo širjenje. Za dekontaminacijo vode se uporabljajo različne tehnike, kar je v veliki meri odvisno od tipa in namembnosti obdelane vode: od uporabe klora do različnih filtracij in UV sevanja. Ker imajo vse te tehnologije določene pomanjkljivosti, jih je treba nadomestiti ali združiti z drugimi tehnologijami, kot je hladna plinska plazma.

Hladna plinska plazma

Plazma je stanje snovi, ki se razlikuje od trdnih snovi, tekočin in plinov. Včasih jo imenujemo četrto agregatno stanje (Slika 2), saj ima edinstvene lastnosti, zaradi katerih je uporabna na številnih področjih.



Slika 2: Štiri agregatna stanja v naravi (foto in grafično oblikovanje: Arne Hodalič in Katja Bidovec)

Ko plinu dovedemo zadostno količino toplotne ali električne energije, nekateri (ali celo vsi) atomi in molekule izgubijo

elektrone, plin pa preide v stanje plinske plazme. Poenostavljeno je plinska plazma sestavljena iz pozitivno nabitih ionov in negativno nabitih elektronov, ki se lahko prosto gibljejo, upoštevaje električna polja znotraj plazme. Ker plazma vsebuje nabite delce, lahko nanjo vplivajo električna in magnetna polja. Zaradi tega je plazma električno prevodna, kar pomeni, da lahko prevaja električni tok. Poleg nabitih delcev so v plazmi tudi atomi in molekule s povišano energijo, zaradi česar so zelo kemijsko reaktivni. Plazma zaradi prehodov atomov in molekul z višjih energijskih nivojev na nižje tudi sveti. Ob takšnem prenosu energije se ta sprosti v obliki fotonov oziroma vidne svetlobe, poleg nje pa plazma oddaja tudi nevidno, ultravijolično svetlobo. Po tej lastnosti lahko plinsko plazmo enostavno ločimo od navadnega plina (http://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:doc-PW1D9UUB) .

Plazma je v vesolju zelo pogosta, na Zemlji pa ne. Večina snovi v zvezdah, kot je Sonce, je v obliki plazme. Sončeva plazma je tako vroča, da oddaja svetlobo in druge oblike sevanja. V vesolju je plazma prisotna tudi v obliki sončnega vetra – to je tok plazme, ki prihaja s Sonca in vpliva na Zemljino magnetno polje. Ta interakcija lahko ustvari čudovite pojave, kot je severni oziroma polarni sij, ki je prav tako vrsta plinske plazme. Poleg visokotemperaturne plinske plazme (v to skupino sodijo vse oblike plazme, ki jih srečamo v naravi in vesolju) poznamo tudi več vrst hladne plinske plazme, ki ni zelo vroča in se je lahko varno dotaknemo, zaradi česar je primerna za obdelavo bioloških vzorcev. Srečamo jo v neonskih znakih, fluorescenčnih lučeh in plazemskih kroglah.

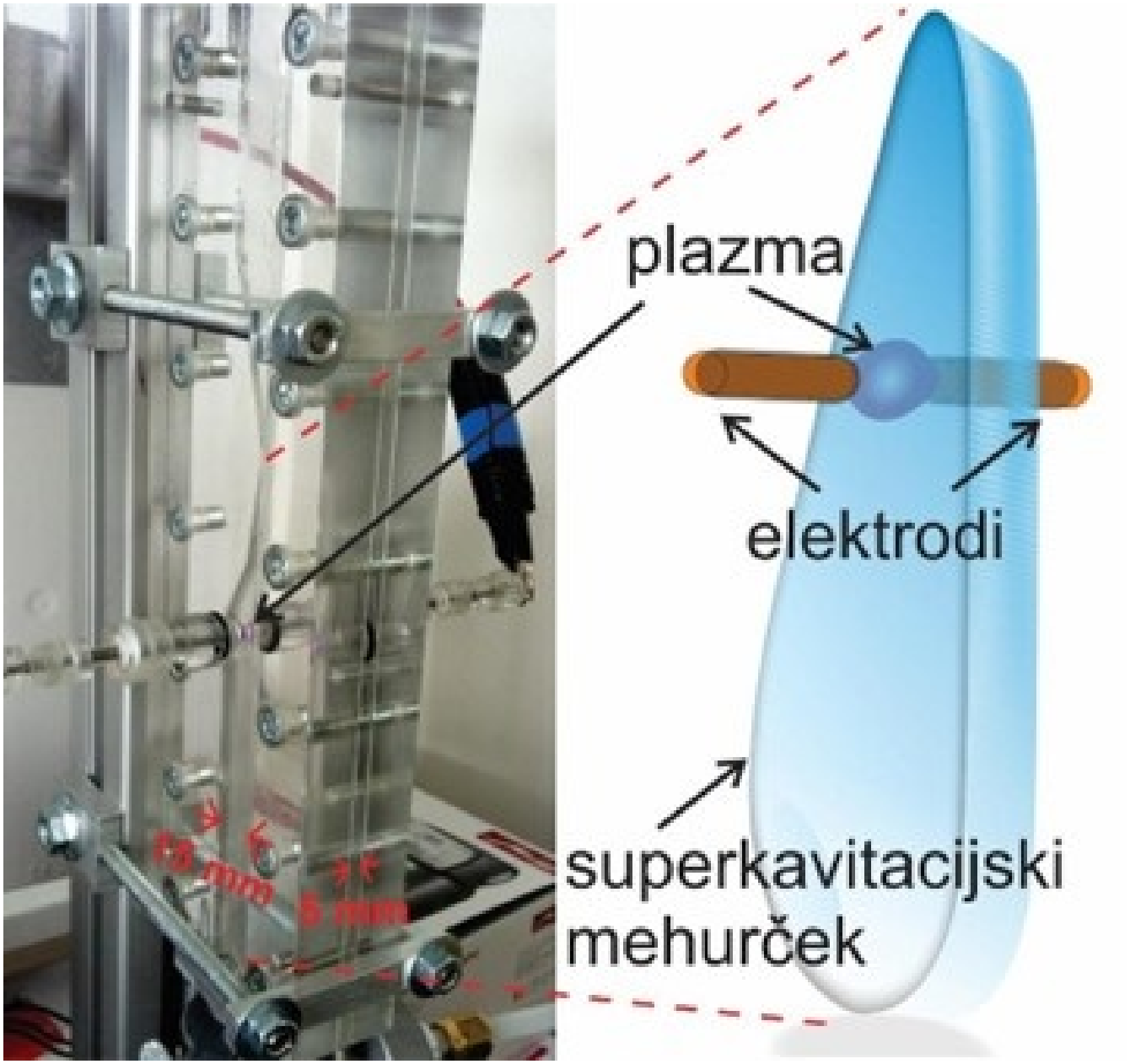
Plazemske tehnologije so okolju prijazne, kar jim daje prednost pred nekaterimi drugimi, okolju škodljivimi tehnikami (https://shop.elsevier.com/books/non-thermal-plasma-technology-for-polymeric-materials/thomas/978-0-12-813152-7) . V laboratoriju plazmo umetno ustvarimo tako, da plin izpostavimo dovolj visoki temperaturi ali močnemu električnemu polju. S plazmo lahko spremenimo površino trdnih in tekstilnih materialov, kot so plastika (https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.153817) , kovina, keramika, bombaž (https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.153931) itd., da izboljšamo njihove lastnosti, kot so oprijem, odpornost proti koroziji in trajnost. Uporablja se tudi za nanašanje tankih plasti materialov, kot so kovine, polprevodniki in polimeri, na različne podlage (https://doi.org/10.1016/j.tsf.2018.05.046) . Hladna plinska plazma se uporablja v medicinske in biološke namene, v zadnjih letih jo s pridom izkoriščamo tudi za dekontaminacijo površin, tekočin, zraka in zemlje. Vse več raziskav in razvoja se usmerja v čiščenje voda; s hladno plazmo se poskuša odstranjevati oziroma razgrajevati ostanke antibiotikov, hormonov in endokrinih motilcev ter inaktivirati patogene mikroorganizme, vključno z virusi.

Zakaj bi hladno plinsko plazmo sploh uporabili za inaktivacijo virusov? Pomembni plazemski delci, ki nastajajo v plazmi pri določenih plinih in pogojih ter prispevajo k dezinfekciji, so reaktivne kisikove in dušikove zvrsti ter UV sevanje. Reaktivne zvrsti, kot so različni radikali, ozon in vodikov peroksid, so zelo močni oksidanti, ki lahko oksidirajo oziroma uničujejo ves organski material, od lipidov do proteinov in nukleinskih kislin. V večini študij inaktivacije virusov s hladno plinsko plazmo so pokazali, da so za inaktivacijo ključne prav reaktivne zvrsti. Če plazma proizvaja zadostno količino UV sevanja, lahko tudi to vpliva na viruse, saj povzroči nastanek mutacij genetskega materiala, s čimer prepreči njihovo razmnoževanje.

Inaktivacija virusov s plazmo je relativno mlado, a hitro razvijajoče se področje. Vse več študij poroča o uporabi različnih virov hladne plazme za inaktivacijo humanih, živalskih in rastlinskih virusov ali njihovih nadomestkov v ali na različnih matricah (https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.003) . Pri določanju uspešnosti inaktivacije virusov v tekočinah je večina študij usmerjenih v volumne, manjše od 1 mililitra (https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.103839) . Zgolj nekaj raziskav je preučilo inaktivacijo virusov v večjih volumnih vode (> 1 mL), med njimi tudi dve raziskavi, v katerih so znanstveniki pokazali uspešno inaktivacijo virusov, kot sta virus Y krompirja (https://doi.org/10.1007/s12560-019-09388-y) in virus blage lisavosti paprike (https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.618209) .

Združitev hladne plinske plazme s superkavitacijo za inaktivacijo virusov v vodi

Čeprav je plazemska inaktivacija virusov v vodi z namenom dekontaminacije vode zelo perspektivno področje, ima tudi določene omejitve. Kot pove že ime, lahko hladno plinsko plazmo ustvarimo le v plinu. Tudi ko obdelujemo vodo s plazmo, plazmo v resnici ustvarimo v plinu, kot na primer v mehurčku plina, ki poči v vodi ali ob stiku z vodno gladino. Zato potrebujemo druge rešitve, ki omogočajo vžig plazme neposredno v vodi in s tem obdelavo večjih volumnov vode. Na tem mestu na pomoč priskoči hidrodinamska kavitacija – pojav nastanka mehurčkov ali mehurčka vodne pare v tekočini zaradi padca tlaka. Ko vodo z zadostno hitrostjo potisnemo preko ovire, na primer zožitve, tlak pade in ustvari se množica manjših mehurčkov, celo mikromehurčkov, medtem ko se pri posebnih pogojih množica mehurčkov združi v mehur, ki ga imenujemo superkavitacija (https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009) (Slika 3). Časovno stabilen superkavitacijski mehur je potreben za konstantno vzbujanje plinske plazme vodne pare znotraj mehurja. S posebno geometrijo lahko mehur vodne pare »prebodemo« z elektrodami, ki nam omogočijo ustvarjanje močnega električnega polja znotraj mehurja. Zaradi znižanega tlaka takšna konfiguracija omogoča vzbujanje plinske plazme pri tlaku nekaj 10 milibarov, kar ustvari različne reaktivne delce, ki lahko inaktivirajo viruse.



Slika 3: Unikatna laboratorijska naprava, ki združuje hladno plinsko plazmo in superkavitacijo za dekontaminacijo vode. Mehur vodne pare (superkavitacija) se začne oblikovati takoj po zoženemu delu, imenovanemu Venturijeva zožitev, saj ta privede do pospešitve toka vode in posledično padca tlaka ter uparjanja vode. Volumen mehurja vodne pare je približno 9 cm^3, medtem ko je njegova dolžina približno 15 cm. Prevzeto in prevedeno po Filipić idr. 2023 (https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108285) .

Takšno unikatno napravo, ki združuje hladno plinsko plazmo in superkavitacijo, je kot prvo na svetu izumila in patentirala (https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/072801332/publication/US11807555B2?q=US11807555B2) interdisciplinarna skupina raziskovalcev (med njimi tudi avtorja prispevka) treh slovenskih institucij: Instituta "Jožef Štefan", Nacionalnega inštituta za biologijo in Fakultete za strojništvo Univerze v Ljubljani. S to tehnologijo smo obdelovali približno pol litra vode, ki je vsebovala bakteriofag MS2. Ta virus se zaradi podobne strukture in odziva na okoljske spremembe ter na primerjalno inaktivacijo z različnimi tehnologijami za čiščenje vode pogosto uporablja kot nadomestek humanih enteričnih virusov. Uporabili smo virusno koncentracijo, ki je bila več kot 10^5 enot, ki tvorijo plake, na mililiter vode, kar predstavlja podobno ali višjo koncentracijo enteričnih virusov v različnih vodnih virih. Združena naprava vsebuje del z Venturijevo zožitvijo z dimenzijami 5 mm (širina) × 0,5 mm (višina) (Slika 3), kar privede do pospešitve toka vode, padca tlaka in nastanka supekavitacijskega mehurja vodne pare. Ta mehur je prostorsko in časovno stabilen, kar omogoča vzbujanje plazme. Mehur je namreč z obeh strani preboden s titanovimi elektrodami, izoliranimi s steklom, kar preprečuje potencialno omočenje elektrod in posledično prevajanje toka skozi vodo namesto za vzbujanje plazme. Elektrodi sta povezani s sinusnim generatorjem visoke napetosti, ki vzbuja plazmo pri 44 kilohercih ter porabi približno 24 W moči. Maksimalna električna napetost med elektrodama dosega 800 V, medtem ko je električni tok okrog 1,5 A. Med obdelavo vode z virusi smo vzdrževali pretok vode pri 1,05 ± 0,15 L/min ter spremljali tudi druge parametre, in sicer tlak v superkavitacijskem mehurju, temperaturo in pH vode ter nastanek vodikovega peroksida. Glavni cilj raziskave je bil preučiti, ali lahko z unikatno tehnologijo, ki združuje hladno plazmo in superkavitacijo, inaktiviramo viruse v vodi. Poleg tega smo preučili inaktivacijske mehanizme, saj nas je zanimalo, kateri plazemski delci so ključni pri virusni inaktivaciji in

ali lahko poškodujejo virusno RNK. V zadnjem sklopu študije smo preučili tudi toksičnost obdelane vode. Pomembno je namreč, da voda po obdelavi ni škodljiva za končnega uporabnika. Toksičnost smo preverjali v dveh sistemih, in sicer na človeških celicah in rastlinah krompirja.

Z uporabo tehnologije, ki združuje hladno plinsko plazmo in superkavitacijo, smo pokazali, da lahko uspešno inaktiviramo več kot 5 logaritmov virusov v približno pol litra vode v zelo kratkem času, v največ štirih minutah. Ugotovili smo, da so pri virusni inaktivaciji ključne reaktivne zvrsti plazme, ki lahko poškodujejo virusno RNK, in da v tako kratkem času, potrebnem za uspešno virusno inaktivacijo, ne nastajajo toksične spojine, ki bi negativno vplivale na človeške celice ali rastline. S tem smo pokazali, da ima ta tehnologija (bodisi samostojno bodisi v kombinaciji z že obstoječimi tehnologijami) potencial za uporabo kot okolju prijazno orodje za inaktivacijo virusov v vodi, posledično pa za čiščenje vode. Z upoštevanjem pretoka vode ter porabljene energije za kroženje vode in vzbujanje plazme se lahko tehnologija, ki je trenutno na laboratorijski stopnji, primerja z drugimi dezinfekcijskimi metodami, kot so tehnologije kloriranja, ultravijolične svetlobe in ozonacije. Tehnologija s hladno plinsko plazmo v nasprotju z nekaterimi drugimi ne vnaša zunanjih kemikalij, saj izkorišča le pojav vodnega mehurja in elektrike, zaradi česar je okolju prijazna.

https://www.alternator.science/en/long/hladna-plinska-plazma-v-mehurju-vodne-pare-ali-kako-uspesno-inaktivirati-viruse-v-vodi/