



Mgr inż. Dominik Terefinko

Rozprawa doktorska pt. „Zbadanie aktywności biologicznej różnych układów zimnej plazmy atmosferycznej”

### Streszczenie w języku polskim

Zimna plazma atmosferyczna (ang. *Cold Atmospheric Pressure Plasma*, CAPP) inicjowana jest w wyniku przyłożenia wysokiego napięcia do gazu wyładowczego, doprowadzając do jego jonizacji. Efektem jest ustalanie się stanu nierównowagi termodynamicznej, w którym temperatura wytworzonych elektronów osiąga wartości wielokrotnie wyższe w porównaniu z temperaturą zjonizowanych molekuł o wyższej masie, gdzie temperatura zimnej plazmy atmosferycznej osiąga najczęściej wartości poniżej 50 °C. Obok zjonizowanych cząstek gazu wyładowczego, zimna plazma stanowi źródło reaktywnych form tlenu i azotu (RFT i RFA) w fazie gazowej tj.  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{OH}^{\bullet}$ ,  $\text{ONOO}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2^+$ . Oddziaływanie zimnej plazmy z ośrodkami ciekłymi bądź stałymi, prowadzi do dalszego udziału tych reaktywnych form w reakcjach kaskadowych, wytwarzając formy o dłuższym czasie życia i wysokiej aktywności zarówno chemicznej jak i biologicznej.

W prezentowanej rozprawie doktorskiej, nowatorskie układy zimnej plazmy atmosferycznej zostały wykorzystane w toku interdyscyplinarnych prac badawczych celem określenia aktywności biologicznej względem komórek linii ludzkiego raka piersi (MCF-7, MDA-MB-231) i komórek nienowotworowych (MCF-10A) a także patogenów bakteryjnych (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*). Układ wyładowczy tzw. pióro plazmowe, został wykorzystany do napromieniowania dwóch pożywek hodowlanych DMEM i Opti-MEM, które to następnie użyto do pośredniego traktowania wspomnianych modeli komórek raka piersi. Komórki poddano również bezpośredniej ekspozycji na źródło zimnej plazmy oraz traktowaniu mieszanemu, w którym komórki napromieniowane bezpośrednio poddano następnie działaniu pożywek hodowlanych napromieniowanych zimną plazmą. Analizując wpływ na żywotność, ruchliwość i indukcję apoptozy w komórkach raka piersi potraktowanych





**„BioTechNan – Program Interdyscyplinarnych Środowiskowych Studiów Doktoranckich KNOW z obszaru Biotechnologii i Nanotechnologii”**

w sposób pośredni, bezpośredni i mieszany, wykonano badania biologiczne tj. test MTT, test zarysowania, barwienia komórkowego Aneksyną V i jodkiem propidyny. Wykorzystując metody optycznej spektroskopii emisyjnej (OES, ang. *Optical Emission Spectroscopy*) dokonano analizy RFT i RFA wytworzonych przez pióro plazmowe w fazie gazowej. Celem określenia zawartości reaktywnych form tlenu i azotu w pożywkach hodowlanych napromieniowanych zimną plazmą, wykorzystano metody kolorymetryczne dla określenia stężeń  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  i całkowitej zawartości RFT. Zbadano ponadto, w jaki sposób dodatek surowicy i większej zawartości składników odżywczych w pożywce hodowlanej wpływa na indukowaną odpowiedź biologiczną a także na wytwarzanie reaktywnych form tlenu i azotu w fazie ciekłej.

Nowatorski układ pióra plazmowego, wraz z zaproponowaną konstrukcją szczotki plazmowej generującej pięć stożków zimnej plazmy zostały poddane wieloczynnikowej optymalizacji parametrów prowadzenia procesu z użyciem metod statystycznych. Celem przeprowadzonej optymalizacji było znalezienie ustawień zapewniających największą efektywność rozkładu antybiotyków z roztworów wodnych. Tak zoptymalizowane układy pióra plazmowego i szczotki plazmowej zostały wykorzystane do stworzenia systemów umożliwiających w trybie ciągłego przepływu potraktowania antybiotyków tj. Ofloksacyny (OFX), Doksycykliny (DXC), Ampicyliny (AMP), Chloroamfenikolu (ChRP) o stężeniu roztworów wodnych  $35 \text{ mg dm}^{-3}$  a także mieszanin tych czterech antybiotyków o stężeniu każdego z analitu wynoszącego  $35 \text{ mg dm}^{-3}$  lub  $10 \text{ mg dm}^{-3}$ . Efektywność degradacji zaproponowanych dwóch układów zimnej plazmy została określona z wykorzystaniem technik badawczych tj. wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (ang. *High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection*, HPLC-DAD), ultrasprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (ang. *Ultra-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometry*, UPLC-MS). Zmiany w zawartości węgla organicznego (TOC) i azotu (TN) w roztworach wodnych antybiotyków poddanych działaniu zimnych plazm zostały określone z pomocą analizatora multi N/C 3100. Możliwości obniżenia zjawiska wielolekowej oporności bakteryjnej zbadano przeprowadzając testy dyfuzyjno-krażkowe,





**„BioTechNan – Program Interdyscyplinarnych Środowiskowych Studiów Doktoranckich KNOW z obszaru Biotechnologii i Nanotechnologii”**

gdzie poprzez degradację farmaceutyków z roztworów wodnych uzyskano jednocześnie redukcję właściwości antybakteryjnych względem *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*. Obserwowana aktywność biologiczna układów pióra plazmowego i szczotki plazmowej została powiązana z wytworzeniem RFT i RFA w roztworach wodnych antybiotyków. Roztwory post plazmowe zostały zbadane pod względem zmian wartości pH, przewodnictwa elektrycznego jak i technik kolorymetrycznych, określających stężenia jonów  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , oraz molekuł  $\text{H}_2\text{O}_2$  i całkowitej zawartości RFT.

