

Indice

1	Introduzione	3
1.1	Plasma medicine: trattamenti al plasma su tessuti biologici	3
1.1.1	Coagulazione del sangue	3
1.2	Cold Atmospheric Plasma	3
1.2.1	Dielectric Barrier Discharge	3
2	Descrizione delle sorgenti sviluppate	5
2.1	Dal primo al terzo prototipo	5
2.2	Attuale schema operativo	5
2.2.1	Alimentatore e trigger ottico	5
2.2.2	Testa	5
2.3	Funzionamento e applicazione	5
3	Profilo elettrico	7
3.1	Setup delle misure di tensione e corrente	7
3.2	Presentazione misure ed analisi	9
4	Forma del plasma	15
4.1	Riprese con telecamera	15
4.1.1	Catena di acquisizione	15
4.1.2	Presentazione misure	15
4.2	Profilo di temperatura	15
4.2.1	Setup termocamera e termocoppia	15
4.2.2	Misure di temperatura	15
5	Analisi spettrometrica	17
5.1	Setup di acquisizione	17
5.2	Presentazione ed analisi misure	19
5.2.1	Riconoscimento righe	19
5.2.2	He + H ₂ O e He + NH ₃	21
5.2.3	Stima temperatura	22

6	Test su tessuti biologici	25
6.1	Setup misure	25
6.2	Analisi risultati	25
7	Conclusioni e sviluppi	27

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Plasma medicine: trattamenti al plasma su tessuti biologici

1.1.1 Coagulazione del sangue

1.2 Cold Atmospheric Plasma

1.2.1 Dielettrical Barrier Discharge

Capitolo 2

Descrizione delle sorgenti sviluppate

2.1 Dal primo al terzo prototipo

2.2 Attuale schema operativo

2.2.1 Alimentatore e trigger ottico

2.2.2 Testa

2.3 Funzionamento e applicazione

Segnale elettrico

Forma e temperatura della *plume* di plasma

Produzione specie gassose reattive

Applicazione a campioni biologici

Capitolo 3

Profilo elettrico

3.1 Setup delle misure di tensione e corrente

Tensione Vengono effettuate misure della tensione in uscita dal secondario utilizzando una sonda per l'alta tensione, al variare dei parametri del segnale in ingresso: frequenza (f) e duty cycle (Δt). Scelta la frequenza di lavoro, viene variata la duty cycle in un range utile, considerando il tempo necessario al terminare delle oscillazioni del segnale prima dell'arrivo di una nuova onda quadra (per frequenze maggiori si potrà arrivare a duty cycle minori). Le misure vengono rilevate con un oscilloscopio in grado di salvare tutta la forma dell'onda misurata. Si ottengono curve come in figura 3.1. La risoluzione della misura (V/div) viene variata in modo da avere l'errore di misura minore possibile. Le prime misure effettuate sono una verifica della tensione in uscita dal circuito secondario in aria, senza aggiunta di gas. Per le misure successive viene immesso nella sezione finale della sorgente del gas He, con un flusso di 2 l/min.

Corrente Vengono effettuate misure della corrente passante tra la sorgente di plasma e un bersaglio metallico. Viene posta una piastra di rame (dimensioni $2\text{ cm} \times 2\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$) ad una distanza di 1 cm dall'elettrodo della sorgente. La piastra bersaglio viene collegata ad una sonda per la misura di corrente, per la quale un segnale letto dall'oscilloscopio come 10 mV corrisponde a 10 mA. Viene inoltre collegata all'uscita del circuito secondario la sonda per l'alta tensione usata precedentemente, in modo da visualizzare contemporaneamente la tensione e la corrente in uscita dalla sorgente. Nuovamente vengono effettuate misure al variare dei parametri del segnale in ingresso: frequenza (f) e duty cycle (Δt), con le stesse modalità delle misure di tensione. Tutte le misure sono effettuate con flusso di gas He pari a 2 l/min. Si ottengono curve come in figura 3.2. Il picco di tensione è identico a quello misurato precedentemente, con valori tipici tra i 3 e i 6 kV, coerenti con le scorse misure per il range di parametri utilizzato. La corrente presenta sempre un primo picco negativo ed un picco secondario positivo, con valori tra i 2 e i 12 mA.

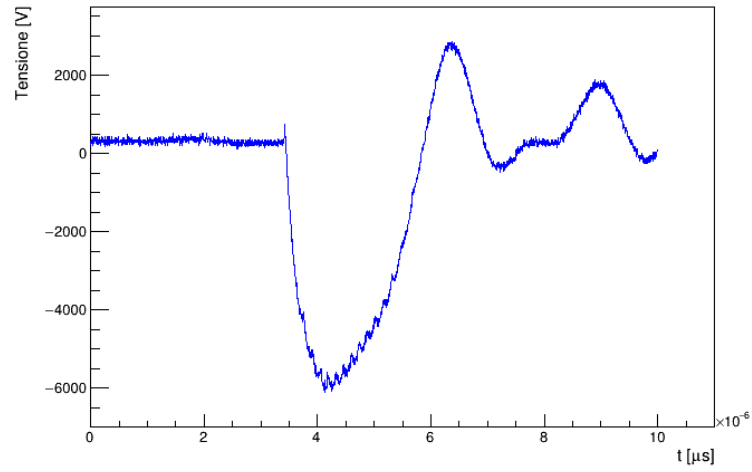


Figura 3.1: Esempio di misura di tensione, $f = 5 \text{ kHz}$ e $\Delta t = 16 \mu\text{s}$

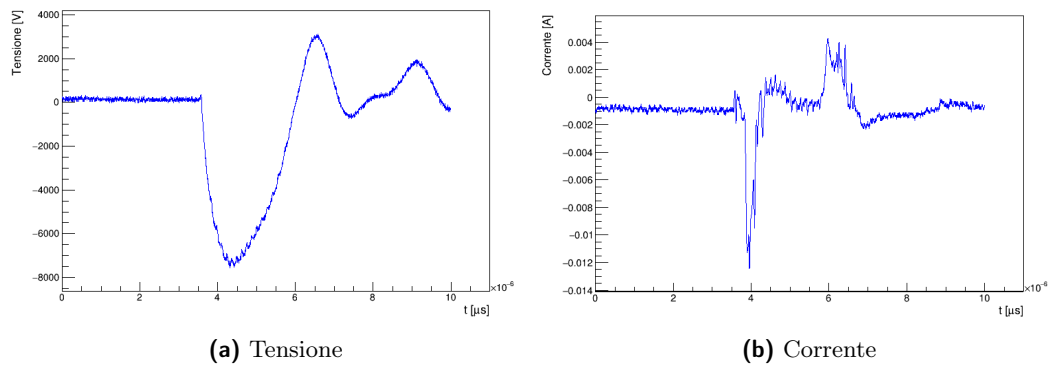


Figura 3.2: Esempio di misure di corrente e tensione per $f = 5 \text{ kHz}$ e $\Delta t = 24 \mu\text{s}$.

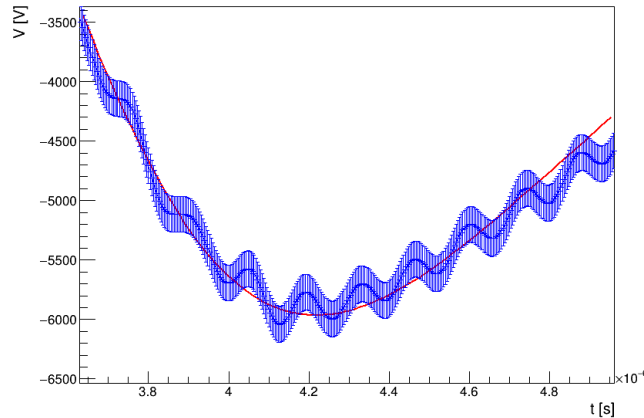


Figura 3.3: Esempio di fit del picco di tensione, $f = 5 \text{ kHz}$ e $\Delta t = 16 \mu\text{s}$

3.2 Presentazione misure ed analisi

Tensione Ogni set di misure viene processato eseguendo la trasformata di Fourier del segnale (usando le routine `fftw3` delle librerie `ROOT`), tagliando le oscillazioni ad alta frequenza e ricostruendone una media. L'obiettivo è di migliorare la stima della posizione del minimo del picco andando ad escludere le oscillazioni a frequenza molto alta del circuito. A queste misure viene aggiunto l'errore dovuto al taglio delle alte frequenze, preso come una media del valore assoluto dell'oscillazione del segnale tagliato. Viene inoltre aggiunto l'errore caratteristico dello strumento di misura, ma è trascurabile rispetto le oscillazioni veloci. Il valore del minimo viene trovato interpolando il set di misure attorno il minimo con una funzione di Landau, in modo da riprodurre l'asimmetria del picco. Da questo fit viene calcolato il massimo. In figura 3.6 un esempio del fit.

Le tensioni del picco così calcolate, al variare della duty cycle per le diverse frequenze, sono presentate in figura 3.4. Per tutte le frequenze di lavoro, sia con gas che senza gas, tra i $4 \mu\text{s}$ e i $16 \mu\text{s}$ risulta un andamento lineare, con tensione variabile tra i 2 kV e i 9 kV. Aumentando ancora il tempo di apertura del circuito la tensione arriva a valori più elevati, fino a un massimo di circa 10 kV, ma viene perso l'andamento lineare.

Vengono quindi calcolati i coefficienti dell'interpolazione lineare per le varie frequenze, presentati in figura 3.5. Come si può vedere i parametri non presentano un andamento specifico, sono disposti in modo casuale rispetto la loro media. Questo porta a concludere che non vi sia una dipendenza del funzionamento del circuito dalla frequenza.

Nell'analisi così proposta, viene ignorato che considerando l'errore associato alla stima dei parametri, i valori risultano incompatibili con un valore medio costante. Questo perché gli errori risultanti sono molto sottostimati: gli errori maggiori sono dovuti alle oscillazioni del picco principale al momento della misura, per migliorare la stima del picco bisognerebbe prendere più set di dati per ogni tempo di apertura del circuito.

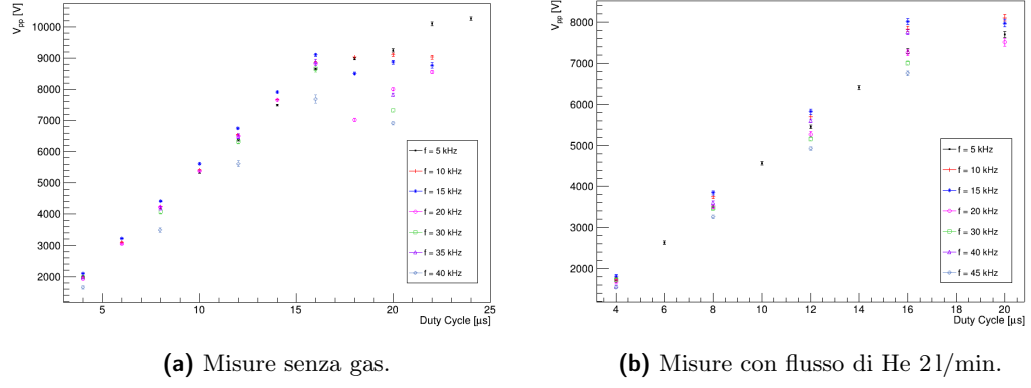


Figura 3.4: Tensioni di picco misurate al variare del tempo di apertura del circuito (Duty Cycle) e per diverse frequenze.

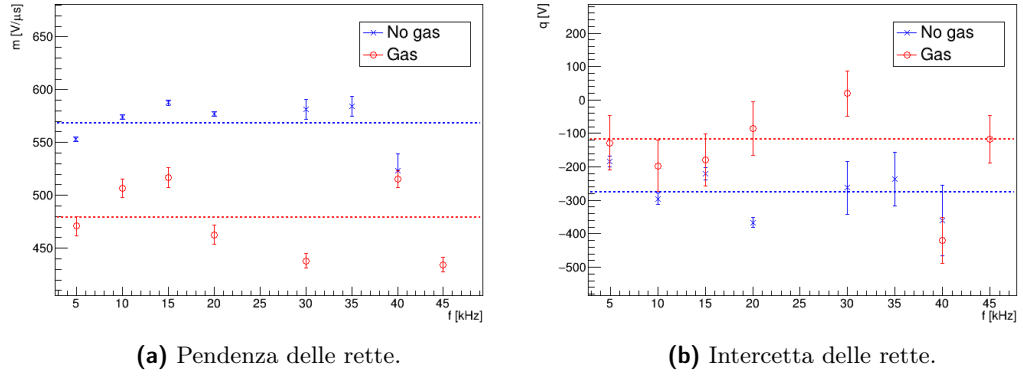


Figura 3.5: Parametri dell'interpolazione lineare dei set di misure nel range, al variare della frequenza.

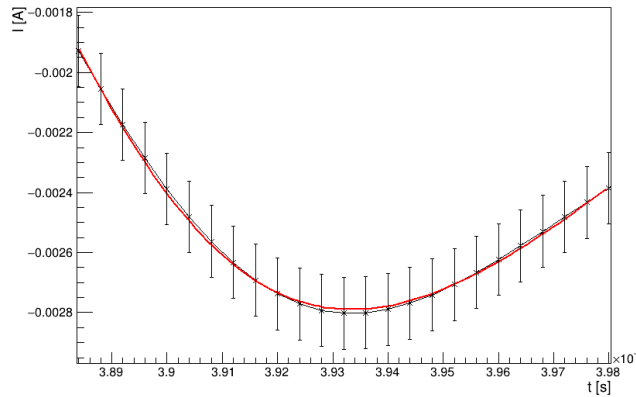


Figura 3.6: Esempio di fit del picco di corrente, $f = 5 \text{ kHz}$ e $\Delta t = 24 \mu\text{s}$

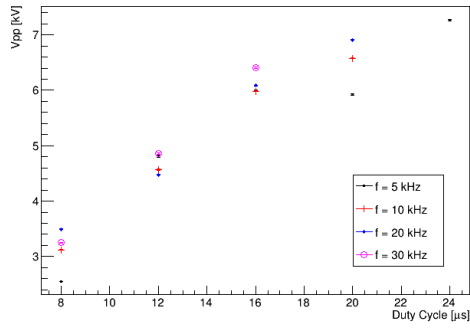
Corrente L'analisi proposta è uguale a quella pensata per i set di misure precedenti: vengono tagliate le oscillazioni ad alta frequenza, ricostruito il segnale (aggiungendo l'errore dovuto al taglio delle alte frequenze e agli strumenti di misura) e il valore del minimo viene trovato interpolando con una funzione di Landau. Da questo fit vengono calcolati valori e posizione di picco di tensione, picco di corrente primario e picco di corrente secondario. In figura 3.6 un esempio del fit.

Le tensioni del picco così calcolate, al variare della duty cycle per le diverse frequenze, sono presentate in figura 3.7. Nuovamente troviamo un andamento lineare per la tensione di picco tra i 4 e i 16 μs . Anche il picco primario di corrente presenta questo andamento lineare, mentre per il picco secondario non è possibile identificare un comportamento simile, i valori si disperdono in modo apparentemente casuale.

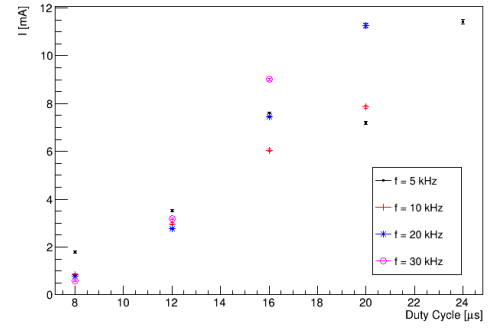
Per il picco di tensione e il primo picco di corrente vengono quindi calcolati i coefficienti dell'interpolazione lineare delle diverse frequenze, presentati in figura 3.8. Per i picchi di tensione nuovamente non viene trovato un andamento specifico dei parametri, i valori si assestano attorno una media lievemente inferiore rispetto le misure riportate precedentemente. Per i picchi di corrente invece viene riscontrato un aumento della pendenza della retta all'aumentare della frequenza, sembrerebbe che a frequenze più elevate la corrente salga più velocemente aumentando il tempo di chiusura del circuito.

In ogni caso sono stati presi pochi set di misure, volendo concentrarsi sull'ordine di grandezza di tensione e corrente all'uscita dalla sorgente, un numero insufficiente per l'analisi di questi effetti.

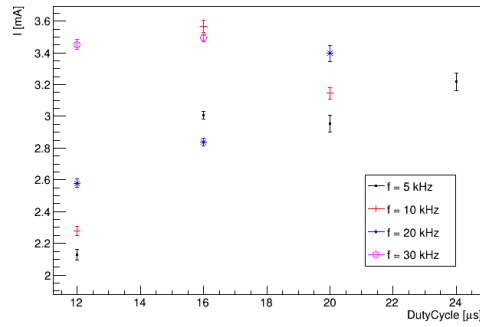
Data la possibilità di visualizzare contemporaneamente sia la tensione sia la corrente in uscita dal circuito, viene proposta un'analisi delle variazioni temporali tra i diversi picchi. In particolare viene calcolato il tempo tra i due picchi di corrente e tra il picco di tensione e il picco di corrente primario, mostrati in figura 3.9. In entrambi i casi non è possibile estrapolare un andamento particolare, indicando che non vi sono differenze significative nei tempi di salita dei picchi al variare del tempo di apertura del circuito e della frequenza.



(a) Modulo del picco di tensione.

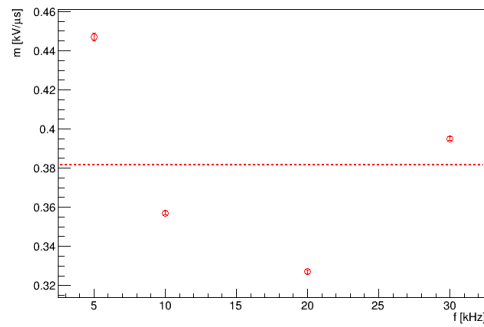


(b) Modulo del picco primario di corrente.

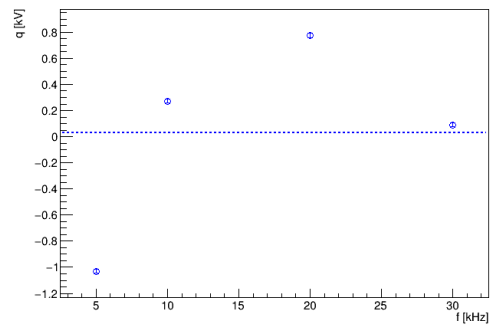


(c) Picco secondario di corrente.

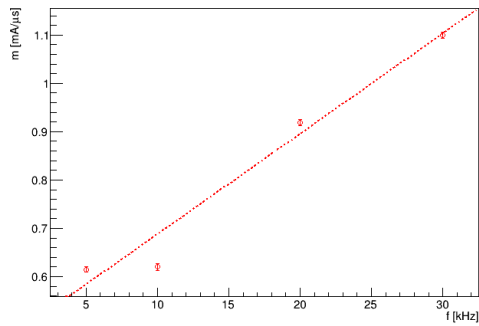
Figura 3.7: Valori dei picchi misurati al variare del tempo di apertura del circuito (Duty Cycle) e per diverse frequenze.



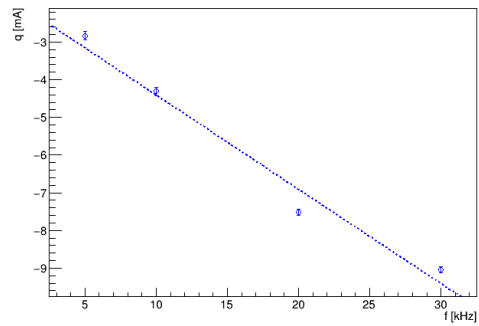
(a) Pendenze dei picchi di tensione.



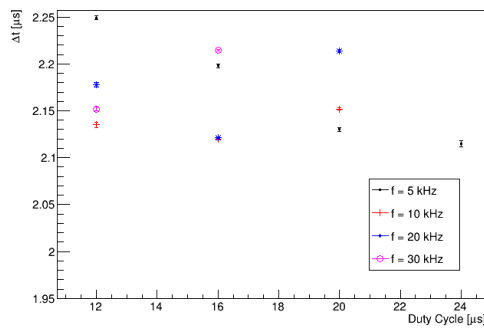
(b) Intercette dei picchi di tensione.



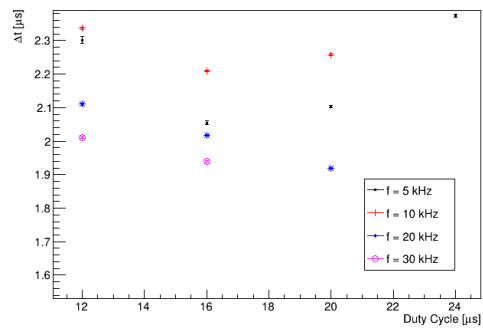
(c) Pendenze dei picchi di corrente.



(d) Intercette dei picchi di corrente.

Figura 3.8: Parametri dell'interpolazione lineare dei picchi delle misure di tensione e corrente.

(a) Tempo tra i picchi di corrente.



(b) Tempo tra picco tensione e primo picco di corrente.

Figura 3.9: Misura delle differenze temporali tra i picchi.

Capitolo 4

Forma del plasma

4.1 Riprese con telecamera

4.1.1 Catena di acquisizione

4.1.2 Presentazione misure

4.2 Profilo di temperatura

4.2.1 Setup termocamera e termocoppia

4.2.2 Misure di temperatura

Capitolo 5

Analisi spettrometrica

La determinazione delle specie reattive prodotte dal plasma a pressione atmosferica può essere effettuata tramite misure spettrometriche della sorgente in funzione su un bersaglio. Gli effetti del trattamento al plasma si pensano dovuti alla presenza di ROS e RNS, quindi vengono raccolte misure nel range di lunghezze d'onda utili ad osservare le emissioni di molecole di OH (305.00 – 313.00 nm), N₂ (280.00 – 500.00 nm) e NO (220.0 – 290.0 nm) (vedi articoli).

I prototipi di sorgente sviluppati permettono di variare il range dei parametri di funzionamento, in modo da modulare l'intensità del trattamento. Per verificare come cambia lo spettro in base alle diverse modalità di funzionamento, si osservano la variazione nell'intensità delle emissioni al cambiare di frequenza e tempo di apertura del circuito.

Si vuole osservare l'intensità relativa delle righe al variare del gas in ingresso, quindi la sorgente viene azionata con diverse miscele di gas. La misura standard viene effettuata con flusso di He, nella solita modalità di funzionamento della sorgente. Vengono poi predisposte due ulteriori modalità di misura dove il gas viene fatto gorgogliare in una soluzione di acqua o di ammoniaca prima dell'inserimento all'uscita della sorgente, per arricchire i prodotti delle reazioni di ioni contenenti, rispettivamente, ossigeno o azoto.

A partire dalla forma delle righe di alcune specie molecolari, è inoltre possibile stimare la temperatura rotazionale alla quale avviene l'emissione misurata. Le emissioni dovute alla molecola OH o N₂ sono varie righe dalle intensità variabili a seconda della temperatura delle molecole, misurando l'intensità relativa dei picchi si può ricavare la temperatura rotazionale delle molecole.

5.1 Setup di acquisizione

La misura viene effettuata tramite uno spettrometro IsoPlane dalla lunghezza focale di 320 mm, con tre diversi reticoli: 150, 1200 e 2400 g/mm, corrispondenti alle risoluzioni di La risoluzione maggiore viene utilizzata per acquisire le righe OH e N_{2,rot}, mentre per acquisire lo spettro totale vengono utilizzati i reticoli a piccola e media risoluzione.



Figura 5.1: Configurazione per le misure spettrometriche. Si vedono la sorgente in funzione, il bersaglio in metallo, obiettivo e fibra ottica a sinistra.

f [kHz]	Δt [μ s]
5	15
10	10
15	10

Tabella 5.1: Parametri di funzionamento utilizzati per le diverse misure.

Lo spettrometro è accoppiato ad una telecamera PIXIS di $2048 \times \dots$ pixels quadrati dal lato di $\dots \mu\text{m}$, con un massimo di 65 000 conteggi per il singolo canale. La luce viene raccolta da una lente in quarzo di focale \dots e diametro \dots , portata da una fibra ottica dallo spessore di \dots e lunghezza di \dots e collegata all'entrata dello spettrometro.

Per l'acquisizione viene posizionata la sorgente in funzione a distanza di 1 cm dal bersaglio in metallo (collegato a terra) con l'ottica focalizzata sul flusso di gas, come in foto 5.2. Vengono distinte due posizioni dell'ottica:

- posizione 1 = obiettivo sull'uscita della sorgente
- posizione 2 = obiettivo sul punto di impatto del plasma sulla sorgente, ad 1 cm dall'uscita della sorgente

Per ogni misura viene stabilito un tempo di acquisizione idoneo ad avere un numero ottimale di eventi, evitando la saturazione dei singoli canali. Una volta stabilito il tempo viene eseguita una misura di fondo, a sorgente spenta, e successivamente viene avviata la misura con sorgente attiva.

Per la sorgente vengono utilizzati sia il prototipo precedente, **prototipo 1**, sia il prototipo sviluppato durante questo lavoro, **prototipo 2**.

Vengono inoltre provate tre diverse modalità di funzionamento della sorgente, variando frequenza e tempo di chiusura del circuito, mostrate in Tabella 5.1. Il flusso del gas di elio viene mantenuto pari a 2 L/min.

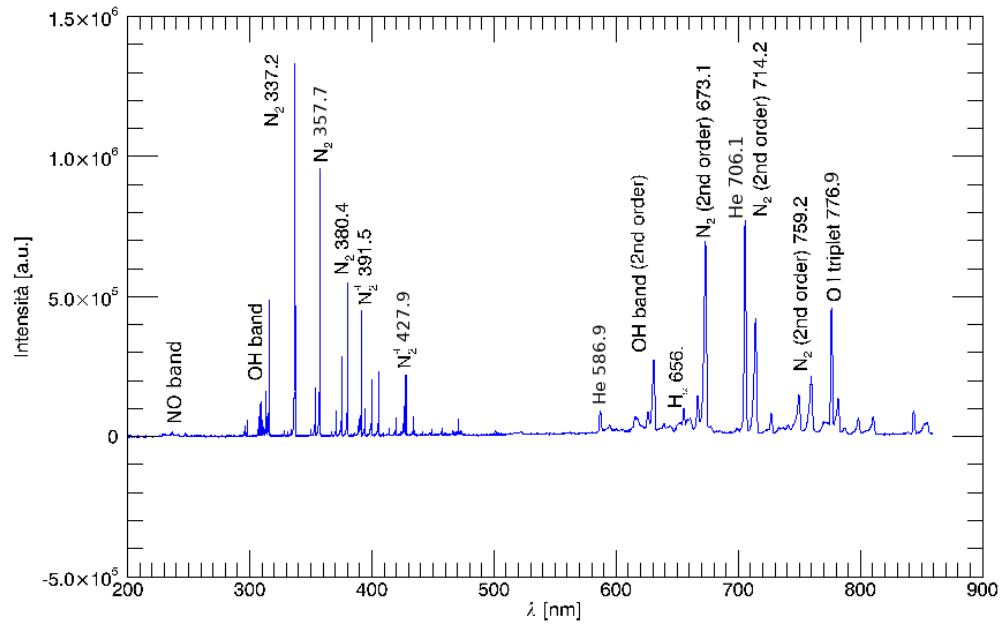


Figura 5.2: Spettro acquisito con condizioni di misura standard ($f = 5$ kHz e $\Delta t = 16$ μ s), obiettivo puntato vicino l'uscita del gas dalla sorgente.

5.2 Presentazione ed analisi misure

Per entrambe le sorgenti, l'analisi prevede il riconoscimento delle emissioni misurate, il confronto delle intensità variando distanza e parametri di funzionamento della sorgente, il confronto delle intensità variando il gas immesso, la stima delle temperature rotazionali delle molecole OH e N_2 .

5.2.1 Riconoscimento righe

L'output dello spettrometro viene letto tramite routine IDL ed il riconoscimento dei picchi viene effettuato tramite la classe TSpectrum presente nelle librerie ROOT. Ogni misura viene confrontata con uno spettro di background preso con lo stesso tempo di acquisizione e sorgente spenta, riuscendo così ad escludere i picchi dovuti al fondo. In figura ?? si vedono le principali righe estrapolate dalle acquisizioni, in particolare si vedono le righe relative ad NO, OH, H_2 e N_2 , tabulate in Tabella 5.2 .

L'acquisizione migliore, nella quale vengono riconosciuti più picchi, è quella mostrata in Figura ??, corrispondente alla posizione 1 e condizioni standard di misura, $f = 5$ kHz.

	λ [nm]	I [arb.u.]
OH	308.3	106
	309.1	113
N ₂	315.9	381
	337.2	1000
	357.7	722
	375.6	232
	380.4	423
N ₂ ⁺	391.5	355
	427.9	180
NO	236.3	27
	237.0	26
	247.0	28
	247.8	27
H _{α}	656.0	113
He	586.9	122
	706.1	649
O	776.9	393

Tabella 5.2: Picchi rilevanti nello spettro di emissione del prototipo 1, condizioni di misura standard, posizione 1.

	OH	N ₂
f = 5 kHz	1.00	1.00
f = 10 kHz	0.95	0.81
f = 15 kHz	0.62	0.63
posizione 1	1.00	1.00
posizione 2	0.10	0.82

Tabella 5.3: Intensità relative delle porzioni interessanti di spettro, al variare di frequenza e posizione, per il prototipo 1.

Per verificare gli effetti di una diversa frequenza nel funzionamento della sorgente vengono confrontate le intensità relative alle righe di OH e N₂, sommando i conteggi per le varie porzioni di spettro. Non vengono prese in considerazione le righe del gruppo relativo all'NO in quanto troppo deboli. In Tabella 5.3 i risultati, dove vengono confrontate i conteggi alle varie frequenze rispetto i conteggi ottenuti nelle condizioni standard di lavoro, $f = 5$ kHz. Si nota un calo evidente nei conteggi, crescente con l'aumentare della frequenza di lavoro.

Allo stesso modo viene variata la posizione dell'obbiettivo, dalla posizione 1, puntato all'uscita della sorgente, alla posizione 2, puntato all'uscita del bersaglio. I risultati sempre in Tabella 5.3, dove vengono presentati i conteggi nella posizione 2 rispetto i conteggi nella posizione 1. Viene trovato un effetto diverso sulle diverse specie, le emissioni di OH diminuiscono molto, mentre quelle relative l'N₂ diminuiscono in maniera inferiore.

5.2.2 He + H₂O e He + NH₃

Vengono misurati gli spettri di emissione in condizioni di lavoro standard, $f = 5$ kHz, posizione 1, trattando il flusso di elio prima di inserirlo nella sorgente. Per il prototipo 1, l'arricchimento di specie reattive dell'ossigeno o dell'azoto avviene facendo gorgogliare l'elio in una soluzione di acqua o ammoniaca, mantenendo un flusso in uscita dalla bombola sempre di 2 L/min. Le misure così acquisite presentano un'intensità molto minore per tutte le righe dello spettro e non vi sono variazioni rilevanti per le lunghezze d'onda interessate, cioè le emissioni relative ad OH per la soluzione di acqua e relative ad N₂ per la soluzione di ammoniaca.

	T [K]
OH	336 ± 30
N ₂	322 ± 41

Tabella 5.4: Stima delle temperature di rotazione delle molecole.

5.2.3 Stima temperatura

Lo spettro di emissione della molecola OH è della forma presentata in Equazione 5.1 (vedi articolo):

$$\begin{aligned}
 I_i(T) &= I_{0,i} \exp - \frac{E_n(T - T_0)}{T_0 T} \\
 S_i(\lambda, T) &= \frac{I_i(T)}{\sigma \sqrt{2\pi}} \exp \frac{(\lambda - \lambda_i)^2}{2\sigma^2} \\
 S(\lambda, T) &= \sum_i S_i(\lambda, T)
 \end{aligned} \tag{5.1}$$

dove I_i è l'intensità ad una determinata energia E_n e $I_{0,i}$ è l'intensità misurata ad una temperatura di riferimento T_0 . Le S_i sono la convoluzione di I_i con una distribuzione gaussiana nelle λ e lo spettro finale S sarà la somma degli spettri relativi la singola transizione. Simulando diversi spettri nelle varie temperature, sarà possibile stimare la temperatura rotazionale degli ioni presenti nel gas.

La procedura consiste nel simulare diversi spettri $S(\lambda, T)$ come presentati in 5.1, calcolare gli scarti quadratici medi rispetto le misure e ricavare la temperatura dalla simulazione migliore. Tipicamente sono stati simulati spettri con 200 temperature diverse, su un range di temperature possibili variabili, a seconda della misura considerata. L'errore sulla stima della temperatura viene calcolato come media della differenza tra la temperatura minima che avesse uno scarto quadratico medio fino al 5% superiore rispetto al minimo e la differenza della temperatura massima con le stesse condizioni.

In figura 5.3 sono presentati due esempi di fit delle emissioni interessate. In 5.4 vengono presentate le diverse temperature ottenute, compatibili tra loro.

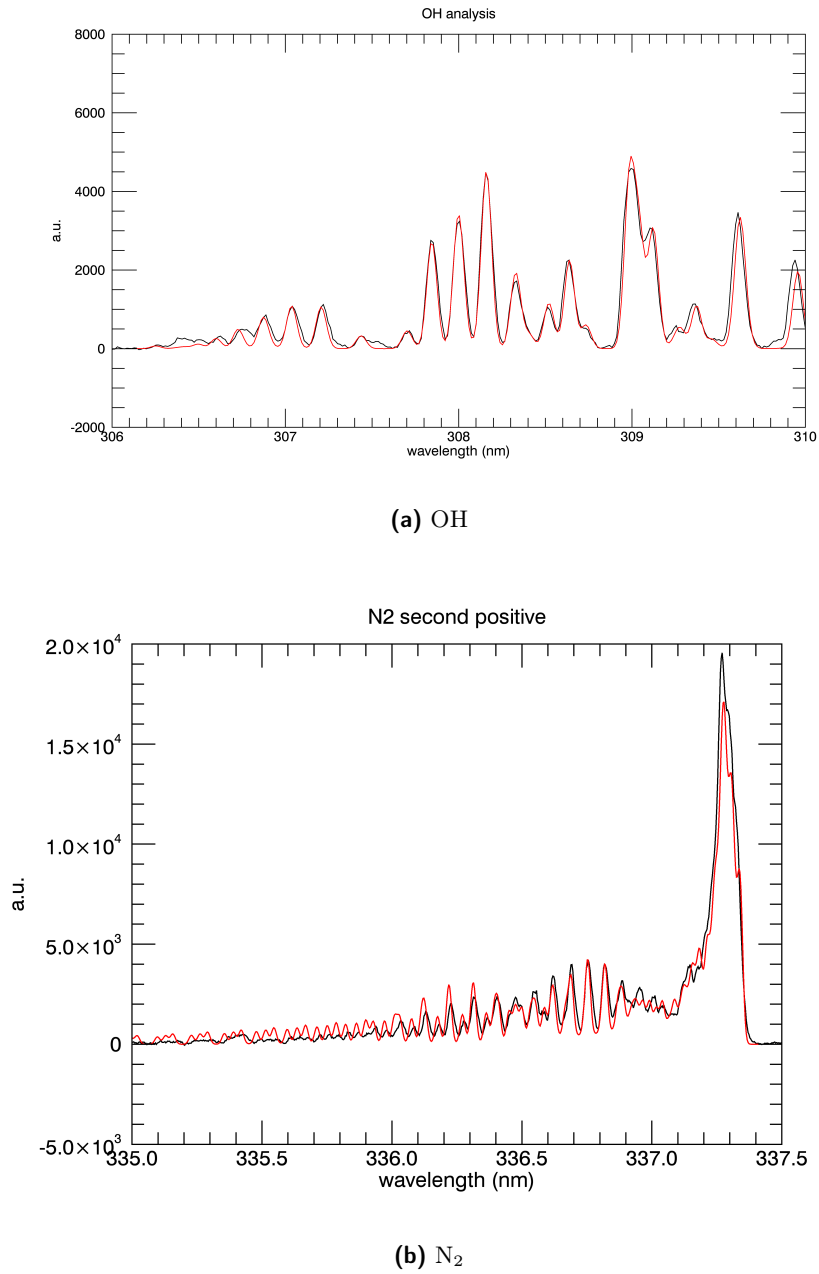


Figura 5.3: Fit delle emissioni con spettri simulati, misure prese con il prototipo 1, in condizioni standard, posizione 1.

Capitolo 6

Test su tessuti biologici

6.1 Setup misure

6.2 Analisi risultati

Capitolo 7

Conclusioni e sviluppi