

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
3.1.1	Misure senza elio	7
3.1.2	Misure con elio	8
3.2	Presentazione misure ed analisi	8
3.2.1	Tensione di picco senza elio	8
3.2.2	Tensione e corrente con elio	9
3.2.3	Corrente efficace	14
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

La sorgente di plasma funziona tramite l'applicazione di un'alta differenza di potenziale tra gli elettrodi separati da materiale dielettrico, come descritti nel capitolo ???. La tensione in ingresso nel circuito della testa della sorgente vengono amplificati fino a tensioni di alcuni kV. Dall'arduino di controllo è possibile regolare il tempo di apertura del circuito in un range di $[2-20]$ μs e la frequenza di lavoro in un range di $[2-60]$ kHz. I parametri importanti per caratterizzare il funzionamento della sorgente saranno quindi tensione e corrente all'uscita del circuito secondario del trasformatore, al variare dei parametri di funzionamento. Utilizzando una lastra metallica posta a potenziale, è possibile misurare la corrente in un dato range temporale. È inoltre possibile stimare la corrente efficace che attraversa il bersaglio, importante nel valutare gli effetti dell'applicazione del plasma.

3.1 Setup delle misure di tensione e corrente

Si vogliono effettuare misure di tensione della sorgente sia senza immissione di elio, senza formazione della plume di plasma, sia nelle condizioni di funzionamento tipiche, con flusso di elio di 2 L/min. Le tensioni vengono misurate tramite una sonda ... con attenuazione $\times 1000$, le correnti tramite una sonda *Tektronix CT2* che per una corrente di 1 mA restituisce un segnale di 1 mV. I dati vengono letti su un oscilloscopio *Yokogawa DL9040*, che permette il salvataggio dell'intera forma d'onda misurata nei diversi canali. Viene effettuata la caratterizzazione elettrica di entrambi i prototipi di sorgente, per i quali il circuito utilizzato è lo stesso, quindi non si aspettano variazioni significative.

3.1.1 Misure senza elio

La sonda ad alta tensione viene collegata all'uscita del circuito secondario, mentre una sonda con attenuazione $\times 10$ viene utilizzata per controllare il segnale in ingresso. La sorgente viene azionata variando la 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). Si ottengono curve come in

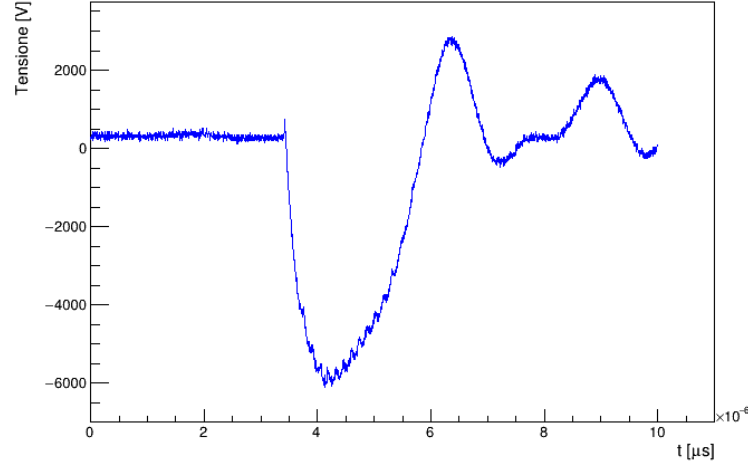


Figura 3.1: Esempio di misura di tensione, $f = 5 \text{ kHz}$ e $\Delta t = 16 \text{ } \mu\text{s}$, prototipo 1.

figura 3.1. La risoluzione della misura viene variata in modo da avere l'errore di misura minore possibile.

3.1.2 Misure con elio

Per caratterizzare il funzionamento della sorgente nelle possibili condizioni di trattamento, vengono misurate contemporaneamente, su due diversi canali dell'oscilloscopio, tensione alla quale si trova l'elettrodo e corrente che fluisce nel plasma. Per la misura di corrente viene fatto impattare il plasma su una piastra di rame di dimensioni $2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$, ad una distanza di 1 cm dall'elettrodo della sorgente, collegata alla sonda di corrente. Nuovamente vengono effettuate misure al variare di 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 $21/\text{min}$. Si ottengono curve come in figura 3.2.

3.2 Presentazione misure ed analisi

Sia per le misure di tensione che per le misure di corrente si trova un picco negativo come presentato nelle Figure 3.1 e 3.2. Il picco di tensione ha valori tipici tra i 3 e i 10 kV in assenza o in presenza di gas, mentre quello di corrente tra i 2 e i 12 mA . L'analisi dei dati prevede la ricerca del massimo della tensione e della corrente nelle diverse configurazioni.

3.2.1 Tensione di picco senza elio

L'andamento medio delle misure presenta un picco negativo pronunciato, compatibile con i tempi di apertura del circuito. Dato un set, il valore di picco viene cercato calcolando la

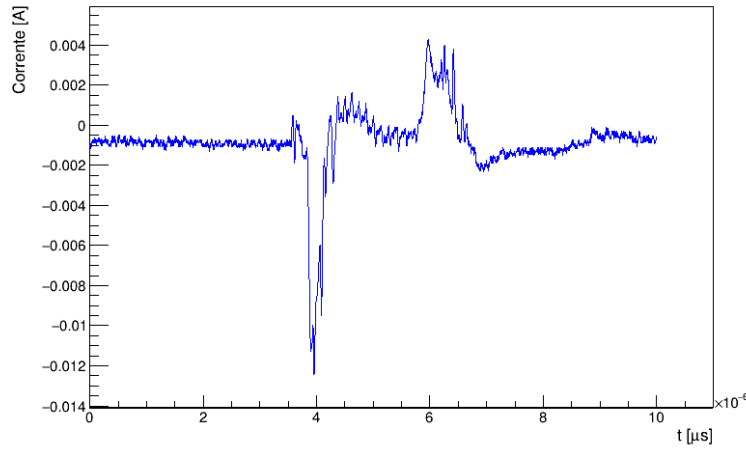


Figura 3.2: Esempio di misure di corrente per $f = 5 \text{ kHz}$ e $\Delta t = 24 \mu\text{s}$, prototipo 1.

trasformata di Fourier del segnale (tramite le routine `fftw3` delle librerie `ROOT`), tagliando le oscillazioni ad alta frequenza e ricostruendone una media. Nel segnale medio così ricostruito il valore del minimo viene trovato interpolando con una funzione di Landau attorno il minimo, in modo da riprodurre l'asimmetria del picco. 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, trascurabile rispetto l'errore dovuto alle oscillazioni veloci. 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 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.

Le misure non sembrano presentare un andamento in funzione della frequenza, per verificarlo vengono calcolati i coefficienti dell'interpolazione lineare per le varie frequenze, presentati in figura 3.5. Viene confermata l'assenza di un andamento specifico al variare della frequenza.

3.2.2 Tensione e corrente con elio

Le misure di tensione presentano l'andamento trovato precedentemente, mentre le misure di corrente presentano un primo picco negativo seguito da un picco più basso di segno opposto, positivo. 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

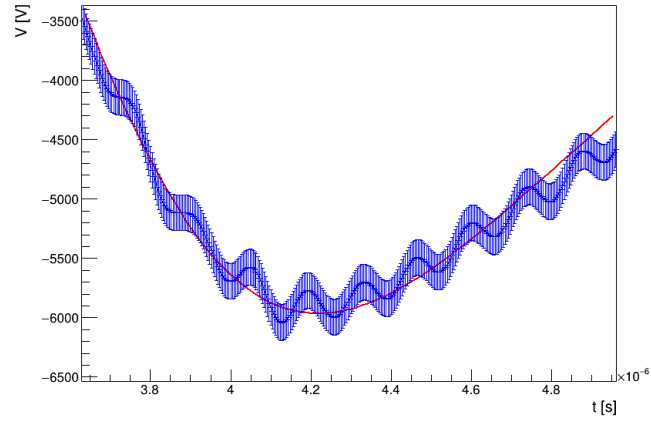


Figura 3.3: Esempio di fit del picco di tensione, $f = 5$ kHz e $\Delta t = 16$ μ s

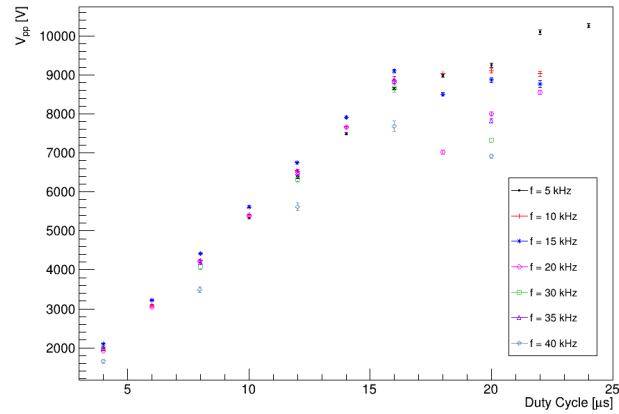


Figura 3.4: Tensioni al variare del tempo di apertura del circuito e per diverse frequenze.

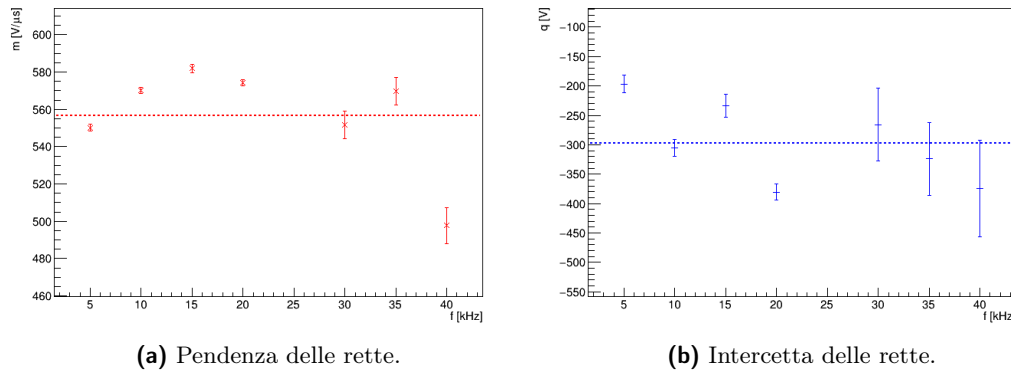


Figura 3.5: Parametri dell'interpolazione lineare dei set di misure senza immissione di gas(nel range Δt stabilito), al variare della frequenza.

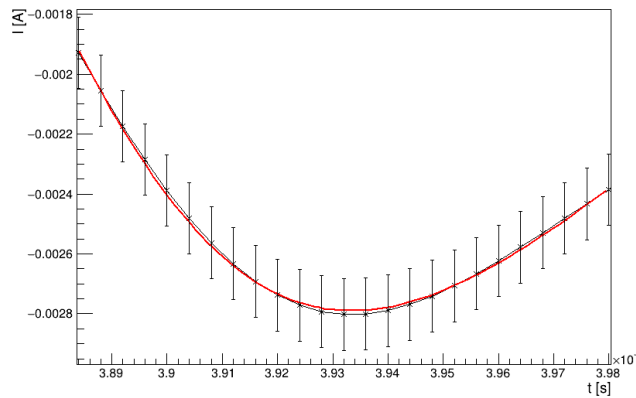
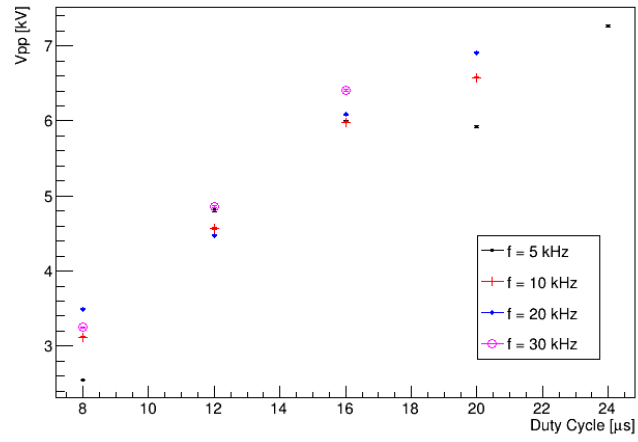


Figura 3.6: Esempio di fit del picco di corrente, $f = 5$ kHz e $\Delta t = 24$ μ s

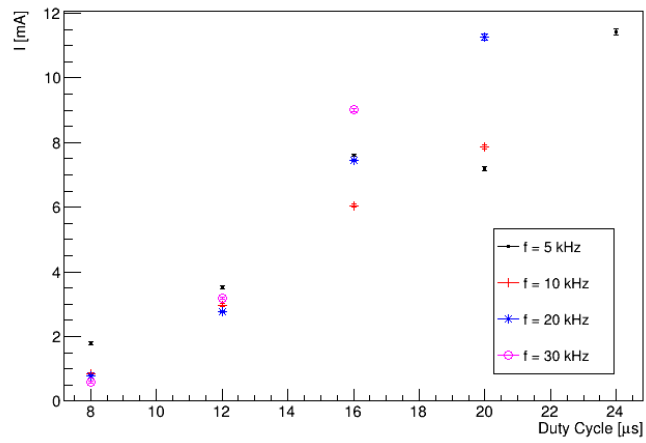
vengono calcolati valori e posizione del picco di tensione, del picco negativo di corrente e del picco positivo di corrente. In figura 3.6 un esempio del fit.

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 tra i 4 e i 16 μ s. Anche il picco negativo di corrente presenta questo andamento lineare, mentre per il picco positivo non è possibile identificare un comportamento simile, i valori si disperdono.

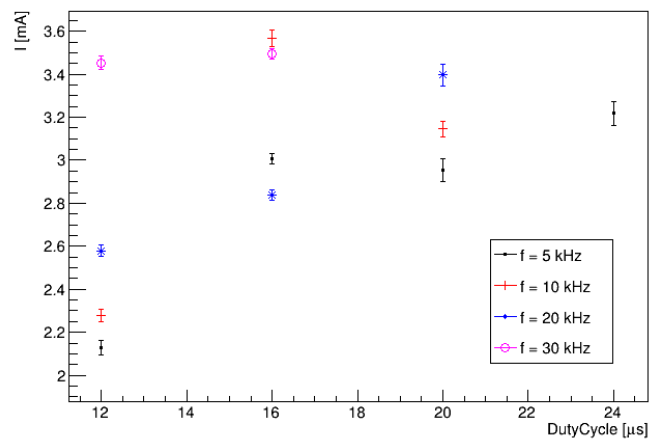
Nuovamente, per visualizzare in maniera esplicita l'effetto della variazione della frequenza, vengono calcolati i coefficienti dell'interpolazione lineare per le tensioni di picco e per le correnti di picco negativo, presentati in figura 3.8. Per le tensioni risulta un comportamento identico al precedente, dove i valori si assestano attorno una media lievemente inferiore rispetto le misure in assenza di elio. Per il valore massimo di corrente viene trovato un aumento in funzione della frequenza di funzionamento della sorgente.



(a) Modulo del picco di tensione.

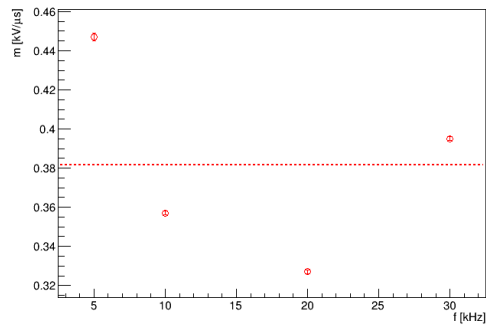


(b) Modulo del picco primario di corrente.

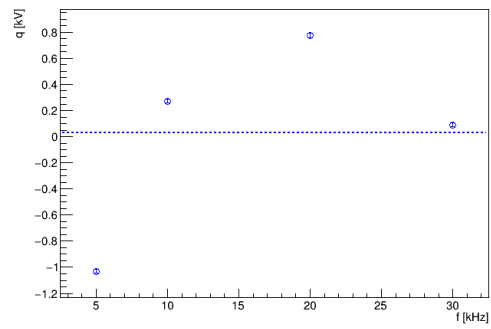


(c) Picco secondario di corrente.

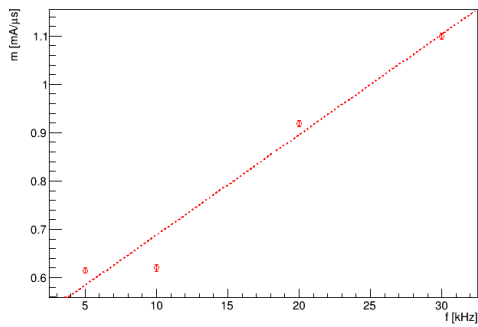
Figura 3.7: Valori dei picchi misurati al variare del tempo di apertura del circuito e per diverse frequenze.



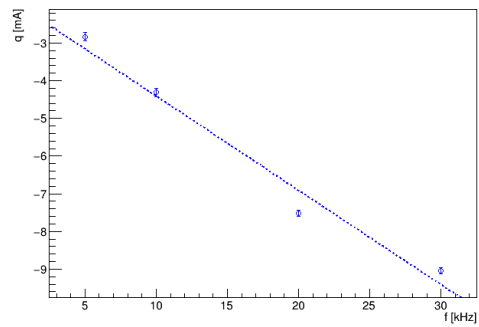
(a) Pendenze dei picchi di tensione.



(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.

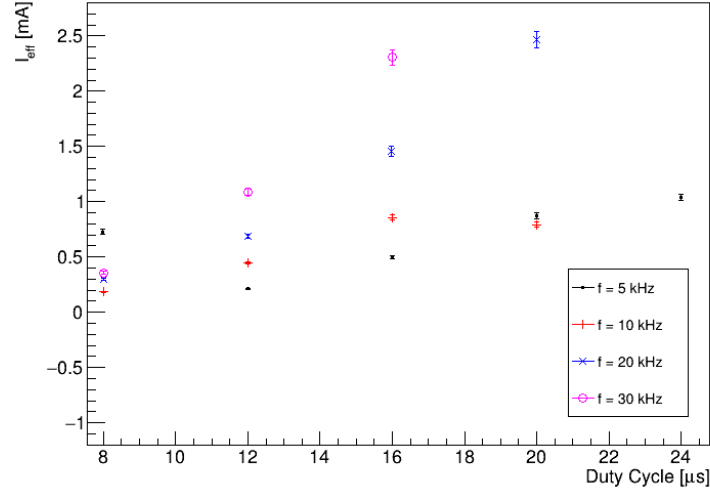


Figura 3.9: Corrente efficace calcolata al variare del tempo di apertura del circuito e per diverse frequenze.

3.2.3 Corrente efficace

Durante l'applicazione del plasma su tessuti vivi bisogna considerare il tempo di reazione effettivo del bersaglio, l'impulso di corrente alle frequenze di lavoro della sorgente presenta un periodo inferiore rispetto questi tempi. Per valutare gli effetti del trattamento viene calcolato il valore della corrente efficace che fluisce sulla piastra bersaglio in un tempo di 1 ms, dell'ordine di grandezza dei tempi di risposta da considerare (vedi articolo?), utilizzando la formula in 3.1.

$$I_{\text{eff}} = \frac{1}{(t_2 - t_1)} \sqrt{\int_{t_1}^{t_2} I^2 dt} \quad (3.1)$$

In Figura 3.9 vengono presentati i valori della corrente efficace in maniera simile a quanto fatto per le misure di corrente precedentemente. A parità di tempo di apertura del circuito, una maggiore frequenza implica che nel tempo scelto di 1 ms vi sarà un numero di periodi maggiore, aumentando la corrente efficace nel circuito. In figura si vede come mediamente la corrente efficace sia più grande a frequenze maggiori, ma assume sempre valori inferiori ai 3 mA.

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.

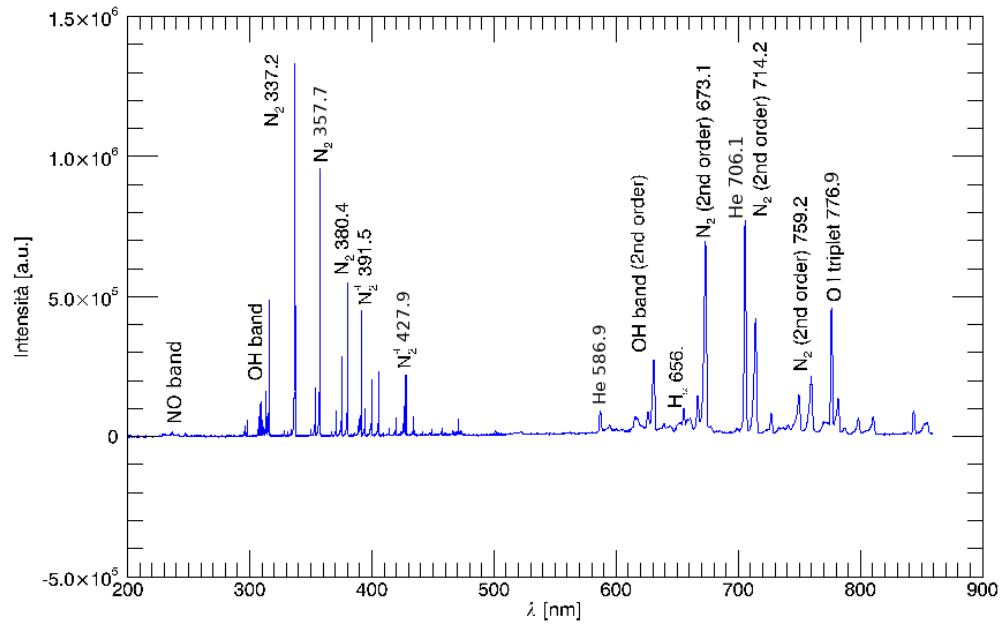


Figura 5.2: Spettro acquisito con condizioni di misura standard ($f = 5$ kHz e $\Delta t = 16$ μ s), obiettivo puntato vicino l'uscita del gas dalla sorgente.

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 N₂.

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, H₂ e N₂, 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.

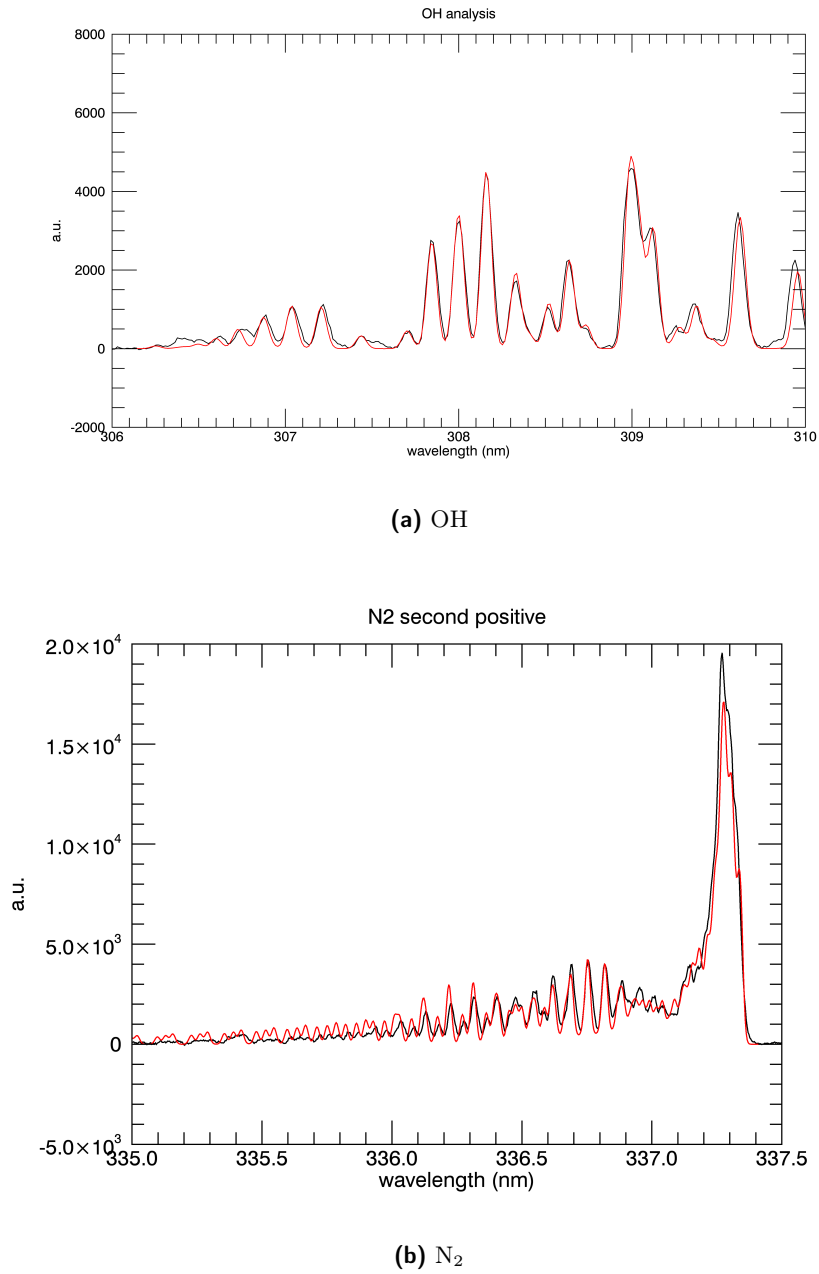


Figura 5.3: Fit delle emissioni con spettri simulati, misure prese con il prototipo 1, in condizioni standard, posizione 1.

Capitolo 6

Test su tessuti biologici

6.1 Setup misure

6.2 Analisi risultati

Capitolo 7

Conclusioni e sviluppi