

ÁGUA ATIVADA POR PLASMA DE ARGÔNIO EM SISTEMA SURFRATON: ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL ANTIMICROBIANO.

Julianna Osses Pinto¹, Eduardo Ferreira Martins², Rodrigo Sávio Pessoa²,
Anelise Cristina Osório Cesar Doria¹.

¹Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil. jujuosses003@gmail.com, ane.doria@univap.br

²Laboratório de Plasmas e Processos/Instituto Tecnológico de Aeronáutica, 12228-900 - São José dos Campos-SP, Brasil. eduardomartins@ita.br, rodrigospessoa@gmail.com

Resumo

O plasma atmosférico é um gás parcialmente ionizado, rico em espécies químicas reativas, capaz de transferir energia e compostos ativos para líquidos expostos, formando a chamada água ativada por plasma. Este estudo analisou os efeitos da ativação da água deionizada por diferentes tempos de exposição ao plasma e sua ação sobre microrganismos. Observou-se acidificação, aumento do potencial de oxirredução (ORP) e maior concentração de íons na água ativada, tornando o ambiente hostil ao crescimento bacteriano. Ensaios com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* mostraram reduções significativas da carga bacteriana, especialmente para *S. aureus* e em tempos de ativação mais longos. Apesar da variabilidade dos resultados, atribuída à sensibilidade do sistema Surfatron, a água ativada por plasma demonstrou potencial como agente antimicrobiano. O estudo ressalta a necessidade de controle experimental rigoroso e sugere a otimização dos parâmetros para ampliar as aplicações em desinfecções de água e superfícies.

Palavras-chave: Líquidos ativados por plasmas. Atividade antimicrobiana. Plasmas atmosféricos.

Área do Conhecimento: Biomedicina.

Introdução.

O plasma, definido por William Crooks no final do século XIX como quarto estado da matéria e nomeado por Langmuir em 1928 descreve um gás parcialmente ionizado, obtido pela aplicação de energia, capaz de gerar espécies reativas e íons excitados. Em termos gerais, plasmas podem ser distinguidos em frios e quentes, e algumas técnicas podem ser empregadas para energizar um gás neutro e induzir a formação de plasma (Mehmood; Kamal; Ashraf, 2018). Entre elas estão a aplicação de energia térmica ou compressão adiabática do gás, capaz de aquecê-lo o suficiente para induzir a formação de plasma (Conrads; Schmidt, 2000).

O Surfatron é um sistema amplamente empregado na geração de plasma não térmico, sendo baseado em um dispositivo de Descarga Sustentada por Onda Superficial (SWD), que opera por meio da aplicação de micro-ondas na frequência de 2,45 GHz. Esse tipo de descarga é caracterizado por apresentar alta estabilidade e reprodutibilidade a diferentes condições operacionais. No entanto, sua eficácia pode ser influenciada por variáveis experimentais, como o tipo de gás utilizado, a vazão, a distância entre o reator e o alvo, bem como o tempo de exposição, o que demanda ajustes específicos conforme a finalidade da aplicação (Boulos; Fauchais; Pfender, 1994).

Quando um líquido é exposto à ação do plasma, ocorre uma interação entre a descarga gasosa e a superfície da solução, resultando na transferência de energia e de espécies químicas reativas para o meio líquido. Esse processo leva à formação da chamada água ativada por plasma. A ativação gera alterações em suas propriedades físico-químicas, além de produzir radicais livres como peróxido de hidrogênio e íons nitrato e nitrito (Chen et al., 2017).

Diante do aumento da resistência microbiana aos antimicrobianos convencionais, torna-se essencial investigar alternativas inovadoras, como o plasma atmosférico. Microrganismos, compostos principalmente por proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e polissacarídeos, podem sofrer danos celulares significativos quando expostos a líquidos ativados por plasma, ricos em espécies reativas de oxigênio, resultando em estresse oxidativo e morte celular (Alves; Junior, 2020).

Este estudo avaliou a interação entre a água ativada por plasma de argônio e microrganismos, investigando o potencial antimicrobiano e os mecanismos de inativação bacteriana em cepas ATCC de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além de caracterizar as alterações físico-químicas da solução tratada, de modo a relacionar seus efeitos com a atividade antimicrobiana observada.

Metodologia

O presente estudo foi conduzido utilizando um sistema de plasma atmosférico do tipo Surfraton, operando na frequência de 2,45 GHz. A geração do plasma foi realizada por meio de um gerador de estado sólido Sairem, GMS 200, com potência máxima de 200 W, ajustado para uma potência operacional constante de 70 W durante todos os experimentos.

O reator de plasma foi composto por uma cavidade SWD, onde um tubo de quartzo, com diâmetro interno de 4 mm e diâmetro externo de 6 mm, canalizava o gás argônio, 99,95% de pureza. A vazão do argônio foi controlada por um rotâmetro, mantendo-se constante em 2,5 L/min. A extremidade do reator foi posicionada a uma distância de 17 mm da superfície da água, permitindo que o jato de plasma interagisse diretamente com o líquido.

Para cada tratamento, foram utilizados 40 ml de água deionizada, acondicionados em placas de Petri com 90 mm de diâmetro. O plasma foi aplicado diretamente sobre a superfície da água por 30 e 40 minutos, sob condições operacionais constantes de potência, vazão de gás e distância do reator.

Após a ativação, a água foi submetida à análise dos principais parâmetros físico-químicos. As medições de pH, condutividade elétrica (σ), sólidos dissolvidos totais (TDS) e potencial de oxirredução (ORP) foram realizadas utilizando o equipamento 913 pH Meter (Metrohm). As concentrações de espécies químicas de nitrato, nitrito e peróxido foram determinadas utilizando fitas reativas da marca Quantofix, seguindo as recomendações do fabricante.

Para avaliação da atividade antimicrobiana, utilizaram-se cepas de referência de *Escherichia coli* (ATCC 10799) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). As suspensões bacterianas foram preparadas em solução salina estéril (NaCl 0,9%), ajustadas para aproximadamente 10^6 células/mL por meio de leituras espectrofotométricas no equipamento AJX-1600, garantindo a padronização da turbidez. O inóculo foi então dividido por volume (ml) em microtubos estéreis e centrifugado. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado, preservando-se 200 μ L da suspensão bacteriana em cada microtubo. Em seguida, adicionou-se 1 mL da água ativada aos 200 μ L restantes, homogeneizando a mistura e incubando-a por 30 minutos à temperatura ambiente. Foram estabelecidos controles positivos, nos quais a água ativada foi substituída por salina estéril, e controles negativos, nos quais a suspensão bacteriana foi exposta a solução de clorexidina.

Após o período de contato, realizaram-se diluições seriadas 1/10, 1/100 e 1/1000 em solução salina estéril. Uma alíquota de 10 μ L de cada diluição foi semeada em placas contendo ágar Mueller-Hinton, utilizando a técnica da gota. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas em condições aeróbicas. Após a incubação, realizou-se a contagem de colônias, expressando os resultados em unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). Devido à técnica utilizada, apenas contagens entre 3 e 30 colônias foram consideradas para análise.

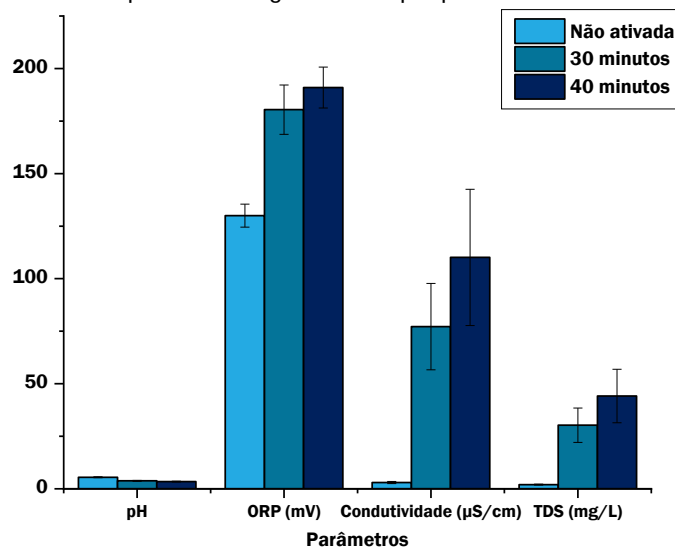
Os dados de contagem bacteriana foram transformados em escala logarítmica (base 10) para estabilizar a variância. Quando a contagem do Tratado era zero, utilizou-se a metade do Limite de Detecção ($LOD/2 = 50$ UFC/mL) apenas para possibilitar a transformação logarítmica. A diferença entre Controle e Tratado foi calculada como *Log-Reduction* (LR), definida por $LR = \log_{10}(C) - \log_{10}(T)$, e a média dos pares foi obtida para cada espécie e tempo. Para verificar a significância estatística, foi aplicado o teste t pareado ($p < 0,05$) aos valores logarítmicos. Nos casos em que o Tratado apresentou zero colônias, os resultados foram reportados como "< LOD" e a redução como "limite inferior da LR mínima", garantindo interpretação conservadora dos dados.

Resultados

A ativação da água por plasma promoveu alterações físico-químicas marcantes que estão diretamente associadas à sua atividade antimicrobiana. Após 30 minutos de exposição, observou-se acidificação da solução, aumento da condutividade elétrica, elevação do potencial de oxirredução e maior concentração de sólidos dissolvidos totais, evidenciando a formação de espécies reativas e íons derivados do processo de ativação. Com 40 minutos, essas mudanças foram ainda mais pronunciadas, reforçando o efeito cumulativo do plasma sobre a composição química da água e sugerindo maior potencial antimicrobiano conforme pode ser verificado na Figura 1.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Figura 1 - Parâmetros físico-químicos da água ativada por plasma nos diferentes tempos de ativação.



Fonte: O autor.

Também foram realizadas análises das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio utilizando tiras reagentes semiquantitativas, com detecção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) em todos os tempos de exposição. Os resultados confirmaram a presença dessas espécies na água ativada por plasma, evidenciando a geração de compostos capazes de contribuir para sua ação antimicrobiana. Os valores médios obtidos para cada espécie estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Concentrações médias das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio na água ativada.

Espécie Reativa	Não ativada (mg/L)	30 minutos (mg/L)	40 minutos (mg/L)
H_2O_2	Não detectável	~30mg/L	~30mg/L
NO_3^-	Não detectável	~25mg/L	~25mg/L
NO_2^-	Não detectável	~1mg/L	~5mg/L

Fonte: O autor

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados utilizando cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com tempos de ativação de 30 e 40 minutos. O volume semeado foi de 10 µL, utilizando a técnica da gota, e apenas diluições com 3 a 30 colônias foram consideradas para o cálculo da concentração microbiana e do log de redução (LR), conforme as fórmulas:

$$UFC \text{ por ml} = n^{\circ} \text{ de colônias contadas} * \text{fator de correção do volume semeado} * \text{Fator de diluição}$$

$$LR = \log_{10}(C) - \log_{10}(T)$$

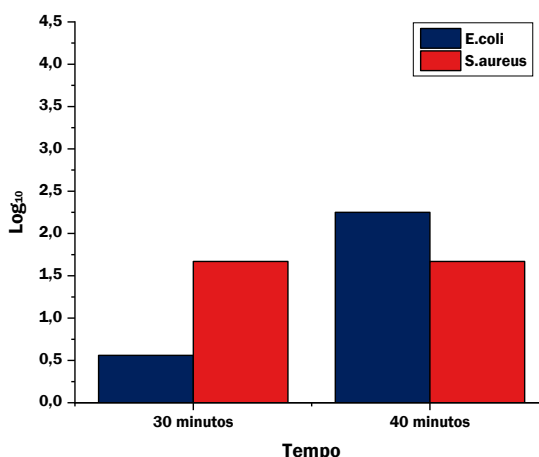
Nos ensaios com *Escherichia coli*, observou-se que a água ativada por plasma promoveu redução considerável da viabilidade bacteriana. Após 30 minutos de ativação, a redução foi discreta, indicando apenas uma diminuição parcial da carga microbiana, embora já com diferença estatisticamente significativa conforme teste t pareado ($t = 14,20$; $p = 0,0447$). Entretanto, com 40 minutos de ativação, ocorreu um salto expressivo, resultando em reduções próximas a 2 logs, também com significância estatística ($t = 46,48$; $p = 0,013$).

Para *Staphylococcus aureus*, os resultados demonstraram um comportamento distinto. Já nos 30 minutos de ativação, os valores de log de redução foram elevados, em torno de 1,67, mantendo-se estáveis aos 40 minutos, com diferença estatisticamente significativa em ambos os tempos ($t = 60,20$; $p = 0,010$). Esses achados sugerem que *S. aureus* apresenta maior sensibilidade à água ativada desde os primeiros tempos, enquanto a *E. coli* requer um período maior para atingir reduções significativas.

O log de redução foi calculado a partir da média dos ensaios válidos, utilizando-se a diluição 1:10 como referência. Os resultados do log de redução estão representados na Figura 2, permitindo visualizar a diferença entre os microrganismos e os diferentes tempos de ativação. Em todos os ensaios, os valores de p foram inferiores a 0,05, confirmando a significância estatística dos achados e reforçando a confiabilidade dos resultados.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Figura 2 - Média dos valores de log de redução para *E. coli* e *S. aureus* após o tratamento



Fonte: O autor (2025).

Discussão

A análise dos parâmetros físico-químicos da água ativada por plasma de argônio revelou alterações importantes, que estão diretamente relacionadas à sua eficácia antimicrobiana. O pH, que indica a acidez ou alcalinidade da solução, é um dos fatores mais fundamentais para a sobrevivência bacteriana. Valores de pH abaixo de 4, como os observados neste estudo, criam um ambiente hostil para a maioria das bactérias, promovendo a desnaturação de proteínas e a desestabilização das membranas celulares (Ma et al., 2015).

O potencial de oxirredução (ORP) reflete a capacidade da solução de atuar como agente oxidante ou redutor. Valores elevados de ORP, como os registrados após a ativação por plasma, estão associados à presença de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que são capazes de causar danos oxidativos a componentes essenciais das células bacterianas, levando à sua inativação (Liao et al., 2017; Lukes et al., 2014).

A condutividade elétrica mede a quantidade de íons dissolvidos na água, sendo um indicativo indireto da formação de espécies químicas reativas durante o tratamento com plasma. O aumento da condutividade após a ativação sugere a geração de íons como nitrato, nitrito e peróxidos, que contribuem para o efeito antimicrobiano (Thirumdas et al., 2018). Os sólidos dissolvidos totais (TDS) representam a soma de todas as substâncias dissolvidas na água, incluindo sais, minerais e compostos orgânicos e inorgânicos. O aumento dos TDS após o tratamento reforça a ideia de que o plasma promove a formação de novas espécies químicas na solução, potencializando sua ação antimicrobiana.

A confirmação da presença de espécies reativas foi possível por meio das análises com fitas reagentes semiquantitativas, que detectaram concentrações próximas de 30 mg/L de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), cerca de 25 mg/L de nitrato (NO₃⁻) e 5 mg/L de nitrito (NO₂⁻) em todas as amostras ativadas. Esses resultados confirmam que o processo de ativação por plasma é eficiente na geração dessas espécies, reconhecidas por seu papel no estresse oxidativo e morte celular (Guo et al., 2015).

É importante destacar que os resultados apresentaram variação entre as repetições, o que pode ser atribuída, em grande parte, à natureza do sistema Surfatron utilizado para a geração do plasma. Sistemas de plasma atmosférico são altamente sensíveis a fatores operacionais, como temperatura ambiente, altura de exposição do jato de plasma em relação à superfície da água, vazão do gás, umidade relativa e até pequenas variações na potência aplicada (Lukes et al., 2014; Thirumdas et al., 2018). Essas flutuações podem impactar diretamente a quantidade e o tipo de espécies reativas formadas, resultando em diferenças significativas nos parâmetros medidos e, consequentemente, na eficácia antimicrobiana da água ativada.

A literatura aponta que a reprodutibilidade de sistemas de plasma atmosférico pode ser um desafio, especialmente em condições laboratoriais, onde o controle rigoroso de todas as variáveis nem sempre é possível (Liao et al., 2017). Por isso, a padronização dos procedimentos experimentais, o monitoramento constante das condições operacionais e a realização de múltiplas repetições são essenciais para garantir a confiabilidade dos resultados.

A Ciência do **NANO** e seu impacto transformador no **MACRO**

No contexto dos ensaios microbiológicos realizados, a água ativada por plasma de argônio demonstrou efeito antimicrobiano relevante frente às cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A análise dos resultados revela que, para ambos os microrganismos, houve redução no número de unidades formadoras de colônia (UFC) após o tratamento. Essas reduções foram confirmadas pela análise estatística, que apresentou $p < 0,05$ em todos os ensaios, reforçando a confiabilidade dos efeitos antimicrobianos observados.

Os valores de log de redução variaram entre os microrganismos testados, com destaque para a diferença observada com a *E. coli*. Nos ensaios com 30 minutos de ativação da água, a média de redução foi modesta, em torno de 0,56 log (72,6%), enquanto após 40 minutos houve um salto expressivo, alcançando uma média de 2,25 logs (99,4%) de redução. Para *S. aureus*, o comportamento foi mais consistente, apresentando uma média de 1,67 log (97,9%) tanto em 30 quanto em 40 minutos de ativação, indicando elevada sensibilidade do microrganismo ao tratamento desde os primeiros tempos de exposição.

É importante ressaltar que, para aplicações práticas em ambientes clínicos, alimentícios ou de saneamento, recomenda-se que os métodos antimicrobianos promovam reduções superiores a 3 logs (99,9%) para serem considerados plenamente eficazes (Andrews, 2001; Guo et al., 2015). Além disso, a diferença de sensibilidade entre as cepas bacterianas testadas também pode ser influenciada por essas variações do sistema.

A menor redução observada para *E. coli* nos 30 minutos de ativação pode estar relacionada à própria estrutura do microrganismo, uma vez que bactérias Gram-negativas possuem membrana externa rica em lipopolissacarídeos, que atua como barreira protetora contra agentes antimicrobianos, dificultando a penetração das espécies reativas geradas pelo plasma. Essas limitações e características biológicas reforçam a importância de múltiplas repetições, controles rigorosos e padronização dos procedimentos para garantir a confiabilidade dos dados (Andrews, 2001).

Conclusão

O presente estudo demonstrou que a aplicação de plasma de argônio em sistema Surfatron promoveu alterações físico-químicas significativas na água deionizada, resultando em acidificação acentuada, aumento do potencial de oxirredução (ORP), da condutividade elétrica e dos sólidos dissolvidos totais (TDS), além da formação de espécies reativas como peróxido de hidrogênio, nitrato e nitrito. Essas modificações criaram um ambiente desfavorável ao crescimento bacteriano, evidenciado pelos ensaios microbiológicos com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, nos quais a água ativada apresentou reduções superiores a 1 log em todas as análises. Os ensaios também apresentaram valores de $p < 0,05$, o que confirma a significância estatística do estudo e reforça a confiabilidade dos efeitos antimicrobianos observados.

Apesar do potencial antimicrobiano promissor, observou-se alta variabilidade no desempenho do sistema Surfatron, possivelmente influenciada por fatores operacionais e ambientais, que impactaram a reprodutibilidade dos resultados. Assim, recomenda-se a otimização dos parâmetros do sistema, a ampliação do número de repetições e a avaliação da água ativada em diferentes microrganismos e matrizes, a fim de consolidar sua aplicação em contextos de desinfecção laboratorial, alimentar e industrial.

Referências

ALVES JUNIOR, C. **Plasma frio atmosférico – novas oportunidades de pesquisa numa plataforma versátil e portadora de futuro**. Revista Materia, v. 25, p. 1–7, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2020.

ANDREWS, J. M. **Determination of minimum inhibitory concentrations**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 48, supl. 1, p. 5-16, 2001.

BENOVA, E.; MARINOVA, P.; TAFRADJIISKA-HADJIOLOVA, R.; SABIT, Z.; BAKALOV, D.; VALCHEV, N.; et al. **Characteristics of 2.45 GHz Surface-Wave-Sustained Argon Discharge for Bio-Medical Applications**. Applied Sciences (Switzerland), v. 12, n. 3, 2022.

BOULOS, M. I.; FAUCHAIS, P.; PFENDER, E. **Thermal Plasmas: Fundamentals and applications**. v. 1. 1994.

CONRAD, H.; SCHMIDT, M. **Plasma generation and plasma sources**. Plasma Sources Science and Technology, v. 9, 2000.

FERREIRA, Jordânia Fernandes. **Desinfecção de água por plasma não-térmico**. 2023. 40 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) - Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufop.br/handle/123456789/XXXX>. Acesso em: 26 jun. 2025.

FRIDMAN, A. **Plasma Chemistry**. Cambridge: Cambridge University Press, 2008.

GUO, L.; XU, R.; GOU, L.; LIU, Z.; ZHAO, Y.; LIU, D.; ZHANG, L.; CHEN, H.; KONG, M. G. **Mechanism of virus inactivation by cold atmospheric-pressure plasma and plasma-activated water**. Applied and Environmental Microbiology, v. 81, n. 6, p. 2046-2056, 2015.

JOSHI, S. G.; PAFF, M.; FRIEDMAN, G.; FRIDMAN, G.; FRIDMAN, A.; BROOKS, A. D. **Control of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in planktonic form and biofilms: A biocidal efficacy study of nonthermal dielectric-barrier discharge plasma**. American Journal of Infection Control, v. 38, n. 4, p. 293–301, 2010. doi: 10.1016/j.ajic.2009.11.002.

LIAO, X.; LIU, D.; XIANG, Q.; AHN, J.; CHEN, S.; YE, X.; DING, T. **Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review**. Food Control, v. 75, p. 83-91, 2017.

LUKES, P.; LOCKE, B. R.; BRISSET, J. L. **Aqueous-phase chemistry of electrical discharge plasma in water and in gas-liquid environments**. Plasma Chemistry and Plasma Processing, v. 34, n. 1, p. 1-64, 2014.

MA, R.; WANG, G.; TIAN, Y.; WANG, K.; ZHANG, J.; FANG, J. **Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce**. Journal of Hazardous Materials, v. 300, p. 643-651, 2015.

MATĚJKA, F.; GALÁŘ, P.; KHUN, J.; SCHOLTZ, V.; KŮSOVÁ, K. **Mechanisms leading to plasma activated water high in nitrogen oxides**. Physica Scripta, v. 98, n. 4, 2023. doi: 10.1088/1402-4896/acc48e.

MEHMOOD, F.; KAMAL, T.; ASHRAF, U. **Generation and Applications of Plasma (An Academic Review)**. 2018. Disponível em: <http://www.preprints.org/>. Acesso em: 26 jun. 2025.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M. de; FROTA, C. C. **Visualização bacteriana e colorações**. Fortaleza, 2015.

NOGUEIRA, S. M. R. **Efeitos dos líquidos ativados com plasma atmosférico sobre Candida albicans**. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/d0a1faa6-745b-4cb8-9aaf-8086e920eee3/content>. Acesso em: 26 jun. 2025.

SAMPAIO, A. da G.; CHIAPPIM, W.; MILHAN, N. V. M.; BOTAN NETO, B.; PESSOA, R.; KOGA-ITO, C. Y. **Effect of the pH on the Antibacterial Potential and Cytotoxicity of Different Plasma-Activated Liquids**. International Journal of Molecular Sciences, v. 23, n. 22, 2022.

SCHOLTZ, V.; KHUN, J.; ŠVECOVÁ, B.; MATĚJKA, P.; JULÁK, J. **Nonthermal plasma - A tool for decontamination and disinfection**. Biotechnology Advances, v. 33, n. 6, p. 1108–1119, 2015.

THIRUMDAS, R.; KOTHAKOTA, A.; ANNAPURE, U.; SILIVERU, K.; BLUNDELL, R.; GATT, R.; et al. **Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture**. Trends in Food Science and Technology, v. 77, p. 21–31, 2018.