



Analiza skuteczności inaktywacji drobnoustrojów za pomocą promienników UV-C

mgr inż. Andrzej Pawlak^{a,b} (ORCID: 0000-0003-2735-2199)

prof. dr hab. n. med. Rafał L. Górny^a (ORCID: 0000-0001-5703-5835)

dr n. tech. Małgorzata Gołofit-Szymczak^a (ORCID: 0000-0003-1463-404X)

dr hab. n. med. Marcin Cyprowski^a (ORCID: 0000-0001-6704-4567)

dr n. tech. Anna Ławniczek-Wałczyk^a (ORCID: 0000-0001-8234-340X)

dr hab. n. med. i n. o zdr. Agata Stobnicka-Kupiec^a (ORCID: 0000-0003-1212-0651)

Fot. YuGusyeva/Bigstockphoto



W artykule omówiono wyniki badań oceny skuteczności inaktywacji drobnoustrojów (bakterii, wirusów, grzybów) zdeponowanych na trzech różnych powierzchniach o gładkiej i szorstkiej fakturze – z metalu (ze stali nierdzewnej), plastiku (polipropylenu) i ze szkła – oraz wygenerowanych do powietrza w postaci monobioaerozoli. W każdym przypadku do inaktywacji wykorzystano dwa rodzaje promienników UV-C: rtęciowy promiennik świetlówkowy i modułowy promiennik UV-C LED. Do badań inaktywacji promieniowaniem UV-C wybrano drobnoustroje reprezentujące trzy grupy mikroorganizmów, tj. spośród bakterii – szczepy wzorcowe *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 260, spośród wirusów – szczep wzorcowy bakteriofaga PhiX174 ATCC 13706-B1, a spośród grzybów – pleśń *Aspergillus versicolor* ATCC 9577. Testom inaktywacji poddawano były wodne zawiesiny tych drobnoustrojów, nałożone na wymienione rodzaje powierzchni.

Słowa kluczowe: promieniowanie nadfioletowe, niskociśnieniowy rtęciowy promiennik UV-C, promiennik UV-C LED, inaktywacja, mikroorganizmy, metal, plastik, szkło, struktura powierzchni, przeżywalność, fotoreaktywacja

Analysis of the effectiveness of microorganism inactivation using UV-C lamp

The article discusses the results of tests assessing the effectiveness of inactivation of microorganisms (bacteria, viruses, fungi) deposited on three different surfaces made of metal (stainless steel), plastic (polypropylene), and glass, each of them with a smooth and rough texture, and generated into the air in the form of monobioaerosols. In each case, two types of UV-C lamps were used for inactivation: a low-pressure mercury lamp and a modular light-emitting diodes. For the UV-C inactivation tests, microorganisms representing three groups of microorganisms were selected, i.e. from among bacteria, the reference strains: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 260; from among viruses, the reference strain of bacteriophage PhiX174 ATCC 13706-B1; from among fungi, the mold *Aspergillus versicolor* ATCC 9577. Inactivation tests were performed on aqueous suspensions of these microorganisms applied to the above types of surfaces.

Keywords: ultraviolet radiation, low-pressure mercury UV-C lamp, UV-C LED lamp, inactivation, microorganisms, metal, plastic, glass, surface structure, survival, photoreactivation

^a Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

^b Kontakt: anpaw@ciop.pl.

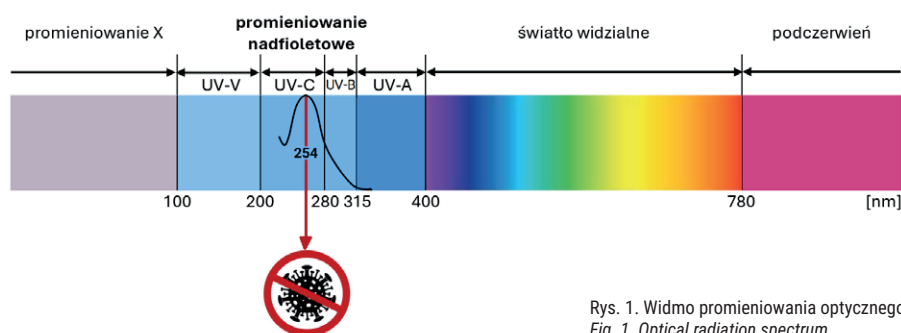
Wstęp

Promieniowanie nadfioletowe (UV) jest promieniowaniem optycznym, charakteryzującym się wyższą energią niż promieniowanie widzialne – światło, ze względu na krótszy zakres długości fali (100–400 nm). W zależności od skutków biologicznych oddziaływania promieniowania nadfioletowego na materiały biologiczne wyróżnia się trzy pasma promieniowania nadfioletowego: UV-A to promieniowanie z zakresu 315–400 nm, UV-B to promieniowanie z zakresu 280–315 nm, a UV-C to promieniowanie z zakresu 100–280 nm (rys. 1) [1]. Promieniowanie UV-C emitowane jest przez Słońce i niemal w całości pochłaniane przez atmosferę. Promieniowanie to jest zabójcze dla organizmów żywych, takich jak drobnoustroje, i dlatego sztuczne źródła UV-C są stosowane do dezynfekcji powietrza i powierzchni np. w szpitalach czy przemyśle spożywczym. Pozostałe dwa zakresy promieniowania UV docierają do powierzchni Ziemi i odpowiadają zarówno za korzystne, jak i szkodliwe skutki dla zdrowia człowieka. Promieniowanie nadfioletowe o długości fali poniżej 200 nm nazywane jest nadfioletem próżniowym. Jest ono silnie pochłaniane przez prawie wszystkie substancje (w tym przez cienkie warstwy powietrza). Choć możliwa jest inaktywacja niektórych mikroorganizmów i wirusów za pomocą promieniowania z każdego z wyżej wymienionych pasm UV, to jednak promieniowanie UV-C jest najskuteczniejsze i najczęściej stosowane do tego celu.

Celem badań przeprowadzonych w Centralnym Instytucie Ochrony Pracy – Państwowym Instytucie Badawczym była ocena skuteczności inaktywacji drobnoustrojów (bakterii, wirusów i grzybów) zdeponowanych na trzech różnych powierzchniach wykonanych z metalu (ze stali nierdzewnej), plastiku (polipropylenu) i ze szkła (o zawartości SiO₂ 72–73%), z których każda występowała w wariantach o gładkiej i szorstkiej fakturze, oraz wygenerowanych do powietrza w postaci monobioaerozoli. W każdym przypadku do inaktywacji wykorzystano dwa rodzaje promienników UV-C: rtęciowy promiennik świetłkowy i modułowy promiennik UV-C LED.

Promieniowanie UV-C jako skuteczna technika dezynfekcji oraz odkażania powierzchni i powietrza

Dezynfekcja i odkażanie za pomocą promieniowania UV-C to sprawdzona od



Rys. 1. Widmo promieniowania optycznego
Fig. 1. Optical radiation spectrum

kilkudziesięciu lat technologia usuwania patogenów wirusowych, bakteryjnych i grzybiczych z powierzchni, powietrza i wody [2, 3]. Na początku XX wieku stwierdzono, że promieniowanie UV-B i UV-C jest skuteczniejsze w inaktywacji bakterii niż promieniowanie UV-A, oraz wykazano, że maksymalna skuteczność bakteriobójcza występuje w przedziale długości fali od 226,5 nm do 328,7 nm. Typowe lampy rtęciowe emitują promieniowanie UV o dominującej długości fali wynoszącej 254 nm. Do czasu wprowadzenia materiałów polimerowych w placówkach opieki zdrowotnej oraz zapewnienia dostępności antybiotyków i szczepionek promienniki UV-C były powszechnie stosowane w wielu krajach do nocnej sterylizacji sal operacyjnych i innych pomieszczeń.

Ostatnio, zwłaszcza od wybuchu pandemii COVID-19, ponownie pojawiło się zainteresowanie wykorzystaniem promienników UV-C do dezynfekcji powietrza i dostępnych powierzchni w pomieszczeniach placówek opieki zdrowotnej. Urządzenia takie mogą być umieszczone w określonym miejscu przez zadany czas lub mogą być jednostkami samobieżnymi (robotami), docierającymi do każdego miejsca w pomieszczeniu, aby zminimalizować efekt zacieniania. Oprócz opcji umieszczenia promienników UV-C w pomieszczeniu do dezynfekcji powierzchni wykorzystuje się promienniki UV-C umieszczone w pobliżu tych powierzchni.

Powszechne stosowanie promienników UV-C dotyczy przede wszystkim [2, 4–6]:

- zakładów przetwórstwa spożywczego (pasteryzacja produktów spożywczych, np. soków, dezynfekcja powierzchni i powietrza w obrębie linii produkcyjnych, w magazynach i halach produkcyjnych, aseptyczne pakowanie produktów, pułapki świetlne na owady);
- zakładów farmaceutycznych (dezynfekcja powierzchni i powietrza w obrębie linii produkcyjnych i hal produkcyjnych, dezynfekcja płynów, aseptyczne pakowanie produktów);
- zakładów przemysłu elektronicznego (dezynfekcja powierzchni materiałów i linii produkcyjnych);

- wodociągów (uzdatnianie wody) i oczyszczalni ścieków;
- systemów wentylacyjnych i klimatyzacyjnych;
- salonów kosmetycznych;
- laboratoriów, w których występują zagrożenia mikrobiologiczne.

Dezynfekcja powietrza i powierzchni polega na inaktywacji wszelkich mikroorganizmów, takich jak bakterie, grzyby, pierwotniaki, pasożyty i wirusy (w tym koronawirusy), poprzez naświetlanie ich promieniowaniem nadfioletowym z zakresu UV-C. Mikroorganizmy zalicza się do patogenów ożywionych, gdyż powodują zachodzenie nieprawidłowości w fizjologii i morfologii organizmu (człowieka, zwierząt czy roślin), tj. powodują określoną patologię w jego funkcjonowaniu. Promieniowanie UV-C często potocznie nazywa się bakteriobójczym, choć stosuje się je do inaktywacji wszelkich mikroorganizmów, a nie tylko bakterii. Ze względu na naturę patogenów ożywionych promieniowanie UV-C nie może ich zabić, natomiast może spowodować ich inaktywację, oznaczającą utratę aktywności lub określonych właściwości danego rodzaju patogenu.

We wszystkich wymienionych środowiskach produkty wykonane z takich materiałów, jak metal, plastik czy szkło, mogą mieć bezpośredni kontakt z zanieczyszczeniami mikrobiologicznymi. Wpływ promieni UV na materiały znacznie się różni. Napromieniowanie, inaczej dawka otrzymanego promieniowania (ilożność nateżenia napromienienia w W/m² i czasu trwania ekspozycji w sekundach, wyrażana w J/m²) nie jest jedynym parametrem, za pomocą którego można określić skuteczność inaktywacji mikroorganizmów. Na tę skuteczność mają wpływ przede wszystkim: frakcja mikroorganizmów, długość fali promieniowania UV, którym są one naświetlane, oraz współczynnik odbicia, przepuszczalności i absorpcji powierzchni. Przykładowo materiały o niskim współczynniku odbicia i odpowiedniej przepuszczalności prawdopodobnie absorbują promieniowanie UV z dużą szybkością. Niektóre materiały o wysokim współczynniku odbicia promieni UV (np. metale) lub wysokiej

przepuszczalności (np. szkło kwarcowe) mogą pochłaniać bardzo mało promieniowania UV. Tworzywa sztuczne, zwłaszcza polimery o dużych cząsteczkach, są stosunkowo odporne na promieniowanie UV, jednak za ich fotodegradację odpowiedzialne są zanieczyszczenia i pozostałości rozpuszczalników. Energia promieniowania UV absorbowana przez tworzywa sztuczne może również pobudzać powstawanie wolnych rodników, które następnie powodują reakcje wtórne i sieciowanie [2]. Wyniki niektórych badań laboratoryjnych wykazały, że skuteczność dezynfekcji powietrza z wykorzystaniem promienników UV-C zależy od względnej wilgotności, temperatury i cyrkulacji powietrza [7].

W zależności od rodzaju patogenu minimalna dawka promieniowania UV-C niezbędna do jego inaktywacji jest różna. Najczęściej określana jest na podstawie badań doświadczalnych wykonywanych w ściśle kontrolowanych warunkach laboratoryjnych (z zachowaniem ścisłych procedur bezpieczeństwa, sterylności stanowiska badawczego, stałej temperatury i wilgotności otoczenia itp.), a badane płytki z naniesionym na nie patogenem o określonej koncentracji (zagaśczeniu) pozbawione są wszelkich innych zanieczyszczeń. Wyznaczoną w ten sposób dawkę promieniowania UV-C, niezbędną do uzyskania określonego stopnia inaktywacji patogenu, określa się albo w procentach inaktywacji (np. 90%, 99%, 99,9%, 99,99%, 99,999%), albo przez logarytmiczny współczynnik redukcji (\log_{10} reduction – logarytm dziesiętny z ilorazu liczby mikroorganizmów przed naświetlaniem promieniowaniem UV-C i liczby mikroorganizmów po naświetlaniu), który przyjmuje wartości od 1 do 5 (wartość 1 odpowiada inaktywacji 90%, a 5 – inaktywacji 99,999%). Jednak uzyskane w ten sposób dawki promieniowania UV-C, wystarczające do uzyskania określonego stopnia inaktywacji w warunkach laboratoryjnych, nie odnoszą się bezpośrednio do warunków rzeczywistych [8], w których dawka skuteczna do inaktywacji mikroorganizmów powinna być odpowiednio większa (w zależności od konkretnego przypadku i warunków środowiskowych). Do warunków środowiskowych, mających znaczący wpływ na skuteczność inaktywacji, można zaliczyć:

- fakturę dezynfekowanych powierzchni (np. porowatość powoduje trudniejszy dostęp dla promieniowania w celu inaktywacji mikroorganizmów występujących we wgłębieniach);
- różny stopień zanieczyszczenia dezynfekowanych powierzchni przez substancje chemiczne lub organiczne;

- przesłanianie dostępu promieniowania UV-C do naświetlanej powierzchni przez różne elementy wyposażenia wnętrza;
- różne wartości temperatury i wilgotności powietrza.

Ustalenie zalecanej dawki promieniowania UV-C, zapewniającej skuteczną dezynfekcję powierzchni, powietrza i wody, nie jest proste, ponieważ poza wymienionymi warunkami środowiskowymi należy również uwzględnić oczekiwany stopień inaktywacji mikroorganizmów w danym pomieszczeniu.

Urządzenia stosowane do dezynfekcji

Do dezynfekcji stosuje się promienniki elektryczne – najczęściej rtęciowe nisko- i średniociśnieniowe (wyładowcze) oraz elektroluminescencyjne (tzw. UV-C LED). Wyładowcze promienniki UV-C zawierają rtęć, a ta jako substancja niebezpieczna jest niepożądana w środowisku. Ponadto rozpraszanie ciepła z tego typu źródeł UV-C powoduje znaczny gradient temperatury w pobliżu emitera, co też jest niekorzystnym zjawiskiem, pogarszającym m.in. trwałość produktów lub przedmiotów. W związku z tym promienniki UV-C LED stają się coraz poważniejszą alternatywą dla „konwencjonalnych” promienników UV-C – ze względu na brak substancji toksycznych oraz łatwą możliwość regulacji właściwości optycznych, niskie zużycie energii, dobrą trwałość i dużą skuteczność, a także możliwość kształtowania widma emisyjnego w szerokim zakresie nadfioletu (od 210 nm do 400 nm) [9–11]. Promienniki UV-C LED mają wiele zalet, jednak jest z nimi związany problem technologiczny, polegający na samodegradacji pod wpływem tego promieniowania, co oczywiście odbija się na trwałości tych urządzeń.

Każde źródło promieniowania UV-C, aby mogło spełnić swoją rolę, musi być zamontowane w specjalnej oprawie zaprojektowanej do konkretnego typu promiennika i jego przeznaczenia. Bez względu na rodzaj promienników UV-C

oprawy można podzielić na następujące trzy grupy:

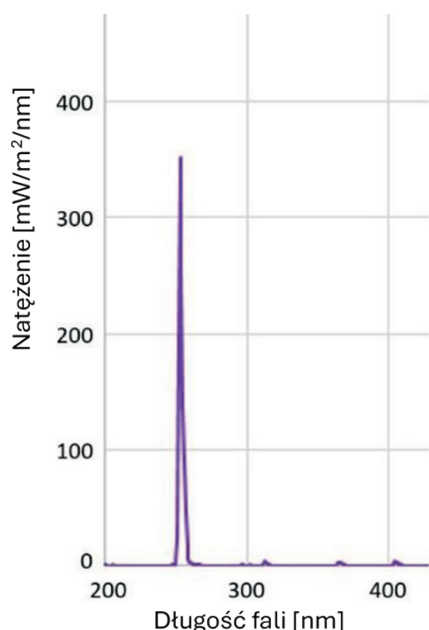
- oprawy bakteriobójcze bezpośredniego działania – służące do bezpośredniego naświetlania promieniowaniem UV-C powierzchni, powietrza czy cieczy;
- przepływowe oprawy bakteriobójcze – służące głównie do dezynfekcji powietrza w pomieszczeniach, która odbywa się wewnątrz zamkniętej komory w oprawie; skażone powietrze aspirowane jest przez wentylator do wnętrza komory dezynfekcyjnej, a następnie przepływa przez komorę z małą prędkością, bezpośrednio przy promiennikach UV-C, i wydostaje się na zewnątrz już oczyszczone mikrobiologicznie;
- oprawy bakteriobójcze dwufunkcyjne – dające możliwość zarówno bezpośredniego naświetlania, jak i naświetlania przepływowego;
- zamknięte systemy dezynfekcji UV, np. wody; źródło UV-C zamknięte jest w szczelnym systemie, przez który przepływa woda.

Metoda badania przeżywalności i fotoreaktywacji drobnoustrojów

W celu wykazania skuteczności inaktywacji drobnoustrojów – zarówno tych zdeponowanych na typowych materiałach stosowanych w pomieszczeniach, jak i tych obecnych w powietrzu – wykorzystano dwa promienniki UV-C: klasyczny (rtęciowy promiennik świetłkowy) i nowoczesny (modułowy promiennik UV-C LED). Promiennik świetłkowy G15 T8 (fot. 1) wyposażony jest w nisko-ciśnieniową lampę rtęciową o mocy 15 W. Widmo promiennika przedstawiono na rys. 2, a natężenia napromienienia promieniowaniem z zakresu UV wraz z ekspozycją obliczoną dla czasu naświetlania próbki wynoszącego 20 minut w trzech odległościach (0,5 m, 1 m i 1,5 m) źródła promieniowania UV-C od napromienianej powierzchni bądź źródła generowanego monobioaerozolu przedstawiono w tab. 1. Oba promienniki zamontowano



Fot. 1. Promiennik świetłkowy model G15 T8 (fot. CIOP-PIB)
Photo 1. Low-pressure mercury lamp model G15 T8 (photo: CIOP-PIB)



Rys. 2. Widmo promiennika świetlówkowego model G15 T8
Fig. 2. Low-pressure mercury lamp spectrum model G15 T8

w oprawach przewidzianych do bezpośredniego działania bakteriobójczego.

Z kolei w modułowym promienniku LED model UVM002A-0401U1-RM (fot. 2) źródłem promieniowania UV-C są cztery LED-y o łącznej mocy 9 W, zamontowane w jednym rzędzie na aluminiowym radiatorze. Widmo promiennika LED UV-C przedstawiono na rys. 3, a natężenia napromienienia promieniowaniem z zakresu UV wraz z ekspozycją obliczoną dla czasu naświetlania próbki wynoszącego 20 minut w trzech odległościach pomiarowych podano w tab. 2.

Testowane drobnoustroje reprezentowały trzy grupy mikroorganizmów: bakterie,

Tabela 1. Natężenie napromienienia promieniowaniem z zakresu UV i ekspozycja (20 min), obliczone dla promiennika świetlówkowego G15 T8

Table 1. UV irradiance and fluence (20 min) calculated for low-pressure mercury lamp model G15 T8

Odległość pomiarowa [m]	Natężenie napromienienia promieniowaniem z zakresu UV [W/m ²]	Ekspozycja dla 20 min (1200 s) [J/m ²]
0,5	0,635	762
1,0	0,182	218
1,5	0,098	118

wirusy i grzyby. Spośród bakterii badano szczepy wzorcowe:

- ziarniaka Gram-dodatniego *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, który jest patogenem ludzkim zaklasyfikowanym do grupy 2. zagrożenia zarówno przez dyrektywę Komisji (UE) 2019/1833 [12], jak i rozporządzenie w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy [8];
- laseczki Gram-dodatniej *Bacillus subtilis* ATCC 6633 mającej zdolność tworzenia endospor i powszechnie występującej w produktach roślinnych oraz zwierzęcych, która u osób narażonych na działanie pyłu zawierającego te bakterie może wywoływać niekorzystne skutki zdrowotne w postaci alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych, objawów astmatycznych czy zapalenia skóry;
- pałeczki Gram-ujemnej *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 260, szeroko rozpowszechnionej m.in. w glebie, wodzie, materii roślinnej, ale i w środowisku szpitalnym, gdzie jest traktowana jako patogen oportunistyczny odporny na wiele antybiotyków i środków dezynfekcyjnych.

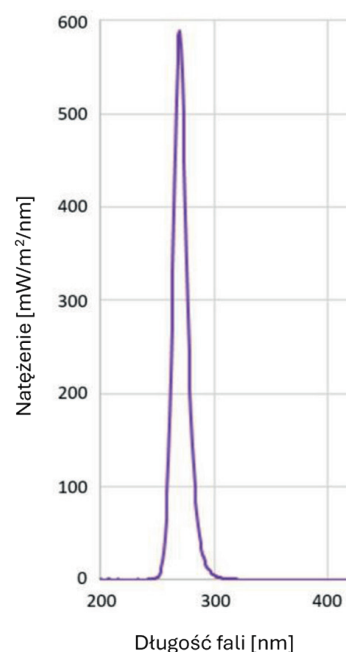
Spośród wirusów wybrano szczep wzorcowy bakteriofaga PhiX174 ATCC

13706-B1, który jest wirusem modelowym w badaniach laboratoryjnych wymagających żywych nanocząstek biologicznych (m.in. jako substytut patogenów wirusowych, np. wirusa SARS-CoV-2, w badaniach związanych z infekcjami dróg oddechowych), a spośród grzybów – pleśń *Aspergillus versicolor* ATCC 9577, która jest źródłem mykotoksyn, a wdychanie jej konidiów może u narażonych osób skutkować wystąpieniem reakcji alergicznych.

Badaniom skuteczności inaktywacji poddano drobnoustroje zdeponowane na trzech rodzajach powierzchni wykonanych z metalu (ze stali nierdzewnej), plastiku (polipropylenu) i szkła (o zawartości SiO₂ 72–73%), z których każda występowała w wariacie o gładkiej i szorstkiej fakturze, oraz drobnoustroje wygenerowane do powietrza w postaci monobioaerozoli. Badanie polegało na napromienieniu skażonych powierzchni bądź chmury bioaerozolu w czasie 20 minut, po którym następowało pobranie próbki (przez wymywanie drobnoustrojów z powierzchni bądź ich separację z powietrza na filtr) wraz z określeniem stężenia drobnoustrojów. Dodatkowo takie same próbki



Fot. 2. Modułowy promiennik LED model UVM002A-0401U1-RM o łącznej mocy 9 W (u góry) z radiatorem (na dole), (fot. CIOP-PIB)
Photo 2. Modular light-emitting diodes model UVM002A-0401U1-RM with a total power of 9 W (above) with a radiator (underneath), (photo: CIOP-PIB)



Rys. 3. Widmo modułowego promiennika UV-C LED model UVM002A-0401U1-RM o łącznej mocy 9 W
Fig. 3. Modular light-emitting diodes spectrum model UVM002A-0401U1-RM with a total power of 9 W

(drobnoustrojów na skażonych nimi powierzchniach i na filtrach z próbkami powietrza) po ich ekspozycji na promieniowanie UV-C eksponowano przez kolejne 24 godziny na działanie światła widzialnego o szerokim spektrum (380–780 nm) w celu sprawdzenia występowania zjawiska fotoreaktywacji. W środowisku naturalnym wiele mikroorganizmów żyje w ciągłej równowadze między uszkodzeniami powodowanymi promieniowaniem UV a naprawą tych uszkodzeń. Najprostszy proces naprawy rozpoczyna się natychmiast po ekspozycji komórek drobnoustrojów na światło słoneczne. W tym przypadku uszkodzenia kwasów nukleinowych wywołane promieniowaniem UV mogą zostać odwrócone w procesie fotoreaktywacji, który zachodzi dzięki fotoliazom, czyli enzymom wykorzystującym jako źródło energii światło widzialne (lub bliskie UV). Proces ten jest inicjowany przez absorpcję fotonów przez chromofory fotoliaz, co skutkuje redukcją liczby mutacji wywołanych promieniowaniem UV [13, 14].

Przeżywalność drobnoustrojów na różnych powierzchniach po ekspozycji na promieniowanie UV-C

Wyniki badań wykazały, że oba testowane rodzaje promienników UV-C są skuteczne w inaktywowaniu drobnoustrojów, choć wydajność tego procesu określona przeżywalnością drobnoustrojów w przypadku urządzeń, w których źródłem promieniowania UV-C są LED-y UV-C, jest wyższa od tych, w których emitorem promieniowania UV-C są rtęciowe promienniki świetłokowe (rys. 4). Skuteczność inaktywacji drobnoustrojów mierzona procentem ich przeżywalności po ekspozycji na promieniowanie UV-C zależy przede wszystkim od odległości badanej próbki od promiennika UV-C (tj. im mniejsza odległość, tym skuteczniejsze działanie), a w mniejszym stopniu od rodzaju materiału, z którego wykonana jest dana powierzchnia (tj. z metalu, ze szkła czy z plastiku), i jej faktury, choć tu obserwowano pewne różnice między badanymi drobnoustrojami.

Stwierdzono, że w odniesieniu do rodzaju materiału, z którego wykonana jest dana powierzchnia, promieniowanie UV-C, emitowane przez LED-y UV-C, z wysoką skutecznością inaktywowało drobnoustroje bakteryjne i grzybowe zdeponowane na metalu, plastiku czy szkłe. Natomiast w przypadku bakteriofaga PhiX174 jego przeżywalność zarówno na gładkiej, jak i szorstkiej plastikowej

powierzchni przy najmniejszej testowanej ekspozycji wynoszącej 20 minut (125 J/m^2) sięgała odpowiednio 46% i 64%. W przypadku promieniowania UV-C emitowanego przez promiennik świetłokowy różnice w przeżywalności *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *A. versicolor* zdeponowanych na powierzchniach z metalu, plastiku i szkła nie odbiegały znacząco od siebie i nie przekraczały 0,85%. Istotne różnice odnotowano natomiast dla pałeczki *B. subtilis* i bakteriofaga PhiX174. Inaktywacja pod wpływem promieniowania UV-C, emitowanego przez promiennik świetłokowy, kolonii *B. subtilis* zdeponowanych na gładkich i szorstkich powierzchniach szklanych była znacząco mniejsza niż w przypadku kolonii tej bakterii znajdujących się na gładkich i szorstkich powierzchniach plastikowych. Z kolei inaktywacja cząstek bakteriofaga PhiX174 świetłokowym promieniowaniem UV-C była procesem wysokowydajnym tylko w odniesieniu do tego drobnoustroju zdeponowanego na powierzchniach z metalu i ze szkła, bowiem na plastikowej powierzchni odsetek żywych cząstek wirusa – mimo ekspozycji na promieniowanie UV-C – sięgał 92,5% (plastik gładki), a nawet 100% (plastik matowy) wartości wyjściowej.

Z kolei w odniesieniu do faktury badanych powierzchni z metalu, plastiku i ze szkła stwierdzono, że skuteczność inaktywacji drobnoustrojów zdeponowanych na powierzchniach gładkich i szorstkich, które były naświetlone promieniowaniem UV-C emitowanym przez promiennik świetłokowy, nie różniła się istotnie. Taką samą zależność obserwowano w przypadku powierzchni gładkich i szorstkich testowanych materiałów pod wpływem promieniowania UV-C emitowanego przez LED-y UV-C, choć te w porównaniu z promiennikiem świetłokowym okazały się skuteczniejsze. Biorąc pod uwagę rodzaj badanego drobnoustroju, na gładkich powierzchniach, po ich ekspozycji na promieniowanie UV-C emitowane przez promiennik świetłokowy, najniższą przeżywalność odnotowano w przypadku bakterii *S. aureus* i *P. aeruginosa*, a najwyższą – w przypadku grzyba pleśniowego *A. versicolor*. Z kolei na powierzchniach szorstkich, po ich ekspozycji na promieniowanie UV-C emitowane przez promiennik świetłokowy, bakterie *S. aureus* wykazywały najniższą przeżywalność, a bakteriofag PhiX174 – najwyższą. W przypadku gładkich i szorstkich powierzchni, po ich ekspozycji na promieniowanie UV-C emitowane przez diody LED, inaktywacja badanych drobnoustrojów nie różniła się istotnie.

Przeżywalność drobnoustrojów zawieszonych w powietrzu po ekspozycji na promieniowanie UV-C

Dawki promieniowania UV-C generowane przez oba promienniki wykazały wysoką skuteczność inaktywacji mikroorganizmów zawieszonych w powietrzu (rys. 5). Podobnie jak w przypadku drobnoustrojów zdeponowanych na różnych powierzchniach najskuteczniejszą inaktywację badanych drobnoustrojów obserwowano po umieszczeniu danego promiennika w odległości 0,5 m od źródła emisji bioaerozolu, tj. przy emitowanych przez promiennik świetłokowy i LED UV-C dawkach wynoszących odpowiednio 762 J/m^2 i 823 J/m^2 . W odniesieniu do poszczególnych badanych mikroorganizmów, których próbki poddano napromieniowaniu, wykazano, że:

- najwyższa dawka promieniowania UV-C spowodowała: całkowitą (100%, tj. większą niż 6-log) redukcję liczby ziarniaków *S. aureus* zawieszonych w powietrzu – w przypadku promiennika świetłokowego, istotne zmniejszenie (średnio o 98,6%, tj. 1,8-log) liczby tych bakterii – w przypadku promiennika LED UV-C;
- ekspozycja aerozolu pałeczek *B. subtilis* na najwyższą dawkę promieniowania UV-C spowodowała: całkowitą eliminację żywych drobnoustrojów z powietrza (100%, tj. redukcja większa niż 6-log) – w przypadku promiennika świetłokowego, zmniejszenie ich liczby o 94% (1,2-log) – w przypadku promiennika LED UV-C;
- identyczny poziom redukcji liczebności pałeczek *P. aeruginosa* (100%, tj. redukcja większa niż 6-log) wystąpił w sytuacji, w której bioaerozol tej bakterii był narażony na promieniowanie UV-C emitowane zarówno przez promiennik świetłokowy, jak i promiennik LED UV-C;
- w przypadku grzyba pleśniowego *A. versicolor* ekspozycja aerozolu jego konidiów na promieniowanie UV-C emitowane przez promiennik świetłokowy inaktywowała 98,6% (1,8-log) komórek tego grzyba zawieszonych w powietrzu, a promieniowanie emitowane przez promiennik LED UV-C całkowicie eliminowało (100%, tj. redukcja większa niż 6-log) zanieczyszczenie powietrza tym typem bezpłciowych zarodników;
- w przypadku bakteriofaga PhiX174 promieniowanie UV-C emitowane przez promienniki świetłokowy i LED UV-C wykazało niższą – w porównaniu z testowanymi bakteriami i grzybami – skuteczność w inaktywacji aerozolu

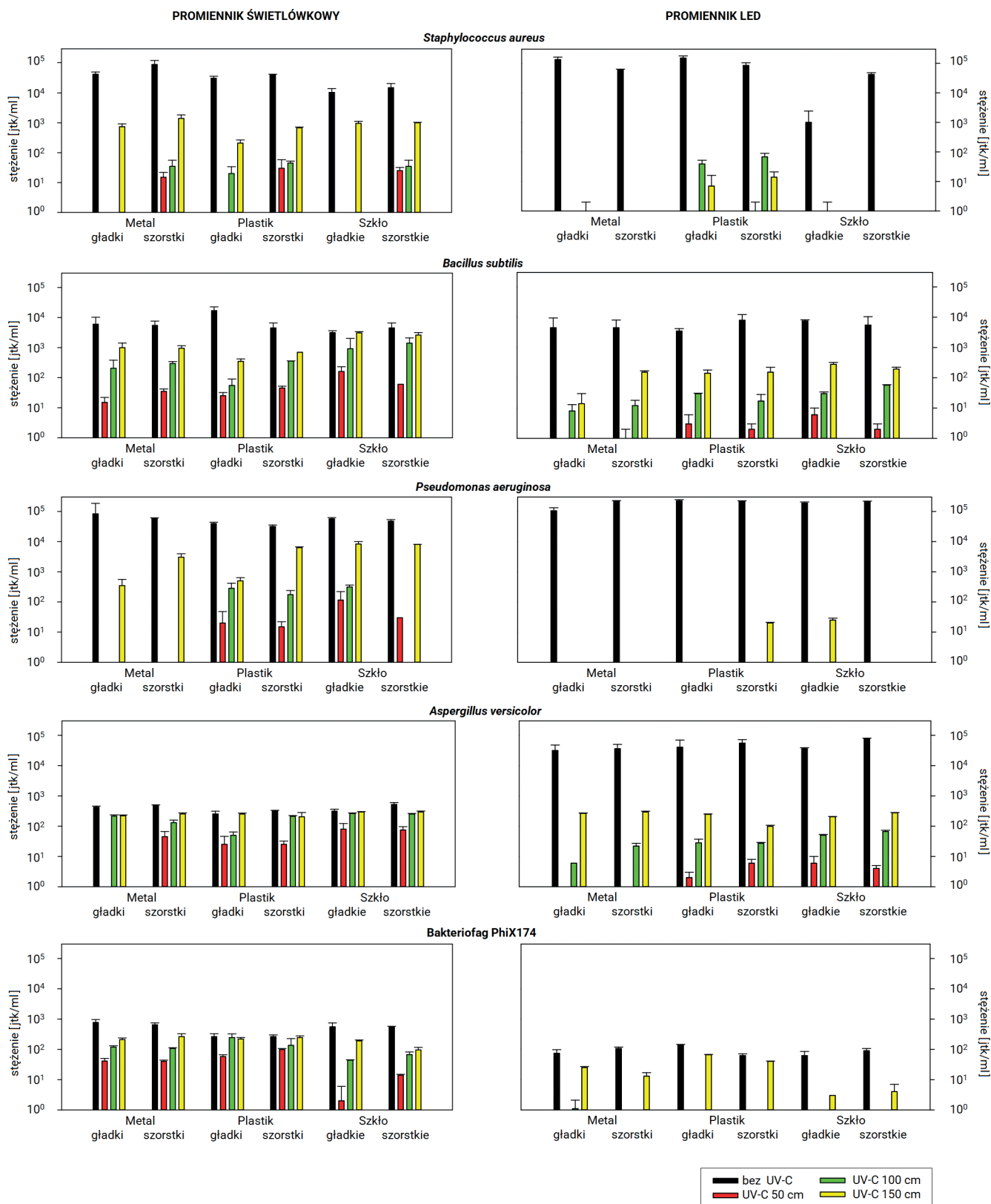
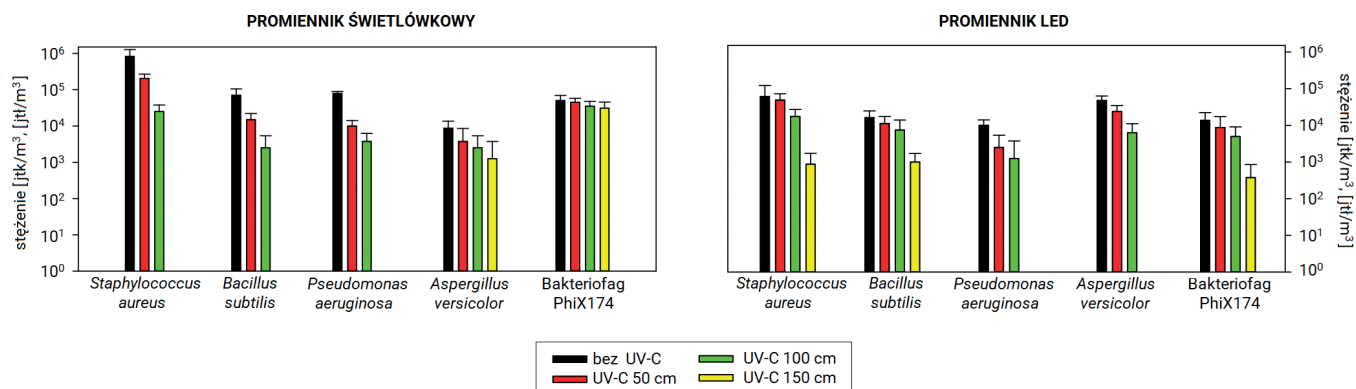


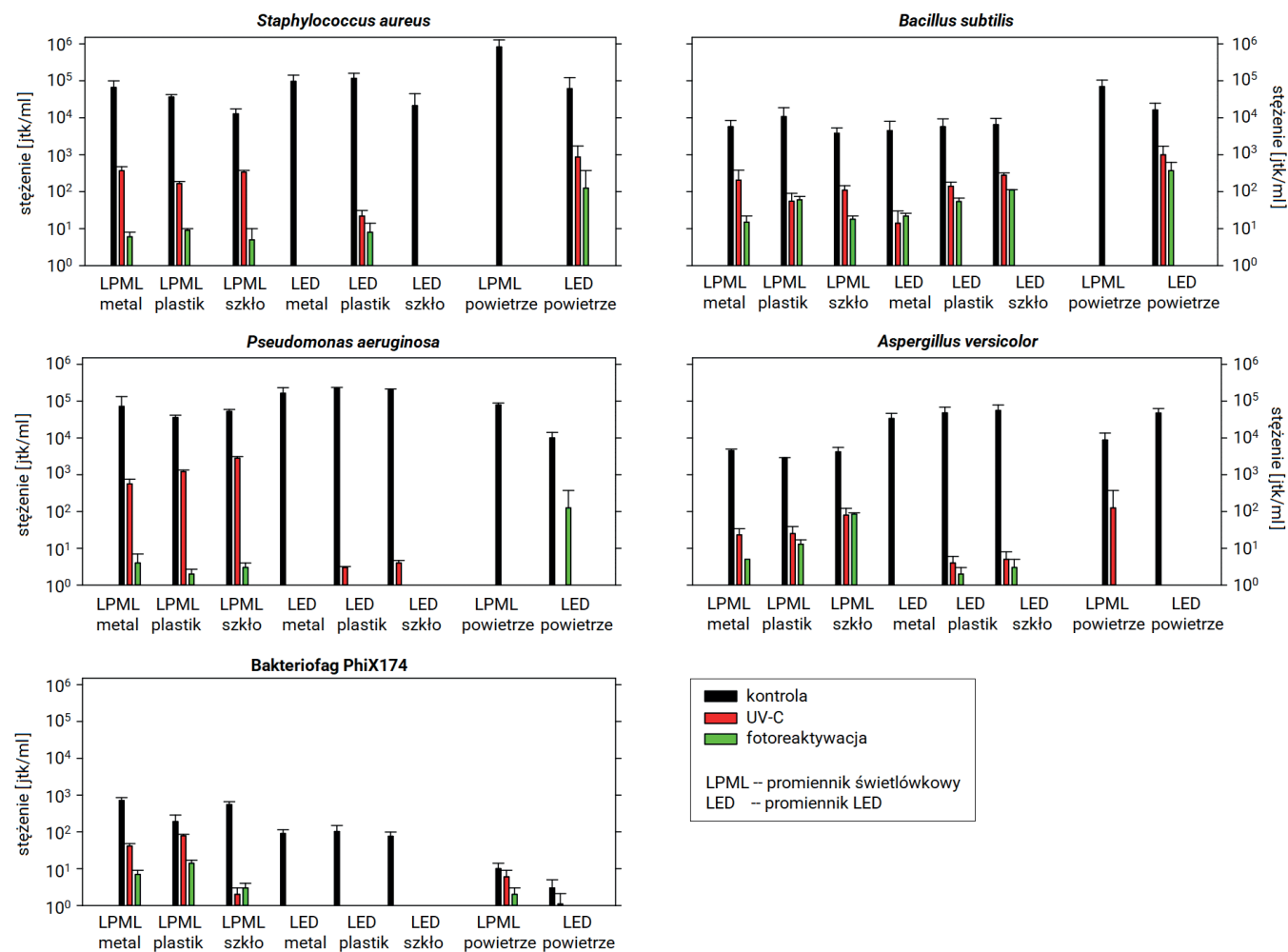
Fig. 4. Przeżywalność drobnoustrojów zdeponowanych w postaci wodnej zawiesiny na gładkich i szorstkich powierzchniach metalowych, plastikowych i szklanych przed ekspozycją i po ekspozycji na promieniowanie UV-C, emitowane przez rtęciowy promiennik świetłówkowy oraz promiennik LED UV-C, umieszczone w odległościach 0,5 m, 1 m i 1,5 m od badanych powierzchni, dla których wartości ekspozycji wynoszą odpowiednio 762 J/m², 218 J/m² i 118 J/m² oraz 823 J/m², 269 J/m² i 125 J/m²

Fig. 4. Survivability of microorganisms deposited as water suspensions on smooth and rough surfaces of metal, plastic, and glass before and after exposure to UV-C radiation at the distances of 0.5 m, 1 m and 1.5 m from tested surfaces, which translate into UV-C doses (fluences) of 762 J/m², 218 J/m², and 118 J/m² as well as 823 J/m², 269 J/m², and 125 J/m², for mercury lamp as well as light-emitting diodes (LEDs), respectively



Rys. 5. Przeżywalność drobnoustrojów zawieszonych w powietrzu przed ekspozycją i po ekspozycji na promieniowanie UV-C, emitowane przez rtęciowy promiennik świetlówkowy oraz promiennik LED UV-C, umieszczone w odległościach 0,5 m, 1 m i 1,5 m od źródła emisji bioaerozolu, dla których wartości ekspozycji wynoszą odpowiednio 762 J/m² oraz 823 J/m², 269 J/m² i 125 J/m²

Fig. 5. Survivability of microorganisms suspended in the air before and after exposure to UV-C radiation at the distances of 0.5 m, 1 m and 1.5 m from tested surfaces, which translate into UV-C doses (fluences) of 762 J/m², 218 J/m² and 118 J/m² as well as 823 J/m², 269 J/m² and 125 J/m², for mercury lamp as well as light-emitting diodes (LEDs), respectively



Rys. 6. Przeżywalność drobnoustrojów – zdeponowanych w postaci wodnej zawiesiny na powierzchniach metalowej, plastikowej i szklanej oraz zawieszonych w powietrzu – bez wpływu i pod wpływem promieniowania UV-C, emitowanego przez rtęciowy promiennik świetlówkowy oraz promiennik LED UV-C (dla których wartości ekspozycji wynoszą odpowiednio 762 J/m² oraz 823 J/m²) i następującej po tym 24-godzinnej ekspozycji na światło widzialne przeprowadzonej w celu oceny zjawiska fotoreaktywacji

Fig. 6. Survivability of micro-organisms deposited as water suspensions on metal, plastic and glass surfaces, as well as suspended in the air before and after exposure to UV-C radiation, generated by low-pressure mercury lamp (LPML) and light-emitting diodes (LEDs) (for which fluences were 762 J/m² and 823 J/m², respectively) and subsequent 24 h exposure to visible light to assess the photoreactivation phenomenon

tego wirusa, powodując spadek liczby żywych jego cząstek odpowiednio o 60% (0,2-log) i 33,3% (0,5-log).

Fotoreaktywacja

Całodobowe naświetlanie próbek światłem widzialnym po ich ekspozycji na promieniowanie UV-C emitowane w dawkach 762 J/m² (przez promiennik świetłówkowy) i 823 J/m² (przez promiennik UV-C LED) w pięciu przypadkach skutkowało regeneracją naświetlanych mikroorganizmów (rys. 6). Po ekspozycji powierzchni na promieniowanie UV-C, którego źródłem był promiennik świetłówkowy, wystąpił wzrost liczby następujących drobnoustrojów hodowanych:

- pałeczek *B. subtilis* osadzonych na powierzchni tworzywa sztucznego (wzrost o 9,1% w stosunku do liczby drobnoustrojów po ich narażeniu na badaną dawkę promieniowania UV-C),
- zarodników pleśni *A. versicolor* (wzrost o 6,3%),
- bakteriofagów PhiX174 osadzonych na powierzchni szkła (wzrost o 50%).

W przypadku ekspozycji na promieniowanie UV-C emitowane przez promiennik UV-C LED regenerację mikroorganizmów naświetlanych światłem widzialnym odnotowano jedynie w przypadku pałeczek *B. subtilis* zdeponowanych na powierzchni metalu (wzrost o 57,1% w stosunku do liczby mikroorganizmów hodowanych po ich ekspozycji na badaną dawkę promieniowania UV-C) oraz pałeczek *P. aeruginosa* rozproszonych w powietrzu (w tym przypadku wzrost był najwyższy spośród wszystkich badanych mikroorganizmów i wyniósł aż 125%).

Wnioski i podsumowanie

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można stwierdzić, że najwyższy współczynnik przeżywalności badanych mikroorganizmów po naświetlaniu promieniami UV-C (tj. powyżej 60% początkowej liczby naświetlonych drobnoustrojów) najczęściej uzyskiwano w przypadku powierzchni szklanych i plastikowych. To jednoznacznie wskazuje, że materiał powierzchniowy stosowany do wykończenia często dotykanych powierzchni ma istotny wpływ na skuteczność dezynfekcji promieniowaniem UV-C, co z kolei świadczy o potrzebie wypracowania specyficznej strategii dezynfekcji w danym środowisku. Obserwację tę należy uwzględnić wszędzie tam, gdzie rodzaj materiału, z którego wykonane są elementy wyposażenia technicznego mogące

podlegać niekontrolowanym lub celowym zanieczyszczeniom wymuszonym określonymi czynnościami, ma znaczenie dla utrzymania właściwego poziomu higieny oraz uniknięcia niepożądanego i niekontrolowanego rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń mikrobiologicznych.

Badania potwierdziły również, że promieniowanie UV-C wytwarzane przez oba testowane promienniki (tj. świetłówkowy i UV-C LED) jest skuteczne w inaktywacji wszystkich badanych drobnoustrojów zawieszonych w powietrzu w postaci bioaerozoli, przy czym najwyższą skuteczność inaktywacyjną promienników zaobserwowano w odległości 0,5 m od źródła generowanych do powietrza cząstek, tj. dla najwyższych dawek promieniowania UV-C (762 J/m² – w przypadku promiennika świetłówkowego, 823 J/m² – w przypadku promiennika UV-C LED). Mimo tak dużej efektywności inaktywacyjnej tego promieniowania zjawisko fotoreaktywacji może w pewnym stopniu niweczyć jego skuteczność.

Promieniowanie UV-C emitowane przez rtęciowy promiennik świetłówkowy i promiennik UV-C LED, zwłaszcza o dawkach 762 J/m² i 832 J/m², skutecznie inaktywowało badane mikroorganizmy osadzone na powierzchniach metalowych, plastikowych i szklanych, a także mikroorganizmy rozproszone w powietrzu. Jednak tego typu inaktywacja nie jest procesem nieodwracalnym i późniejsze naświetlanie mikrobiologicznie zanieczyszczonych elementów środowiska światłem widzialnym o pełnym zakresie widmowym (380–780 nm) może częściowo odbudować populację mikroorganizmów chorobotwórczych w procesie fotoreaktywacji. Ponieważ jest to proces enzymatyczny, zależny od temperatury, intensywności światła, wilgotności względnej, pH i siły jonowej medium, wszystkie te parametry mogą skutecznie wpływać na przeżywalność drobnoustrojów i efektywnie zabezpieczać je przed inaktywacją wywołaną promieniowaniem UV-C [15, 16]. Z tego powodu skuteczne oczyszczanie powierzchni czy powietrza nie może się ograniczać do ich naświetlania promieniowaniem UV-C, lecz powinno być uzupełnione o inne techniki neutralizacji mikroorganizmów, stosowane po naświetlaniu światłem nadfioletowym.

Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr IPN.13 pt. „Metody badania i kryteria oceny urządzeń wykorzystywanych do dezynfekcji promieniowaniem UV-C w środowisku pracy i nieprzemysłowym

środowisku wewnątrz pod względem bezpieczeństwa ich stosowania i skuteczności inaktywacji drobnoustrojów”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

BIBLIOGRAFIA

- [1] PN-E 01005: 1990. Technika świetlna. Terminologia.
- [2] Kowalski W., *Ultraviolet germicidal irradiation handbook: UVGI for air and surface disinfection*, Berlin: Springer, 2009.
- [3] Pereira A.R. i in., *Ultraviolet C irradiation: A promising approach for the disinfection of public spaces*, „Science of the Total Environment”, 2023, 879: 163007; doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.163007.
- [4] Shin J.-Y. i in., *Fundamental characteristics of deep-UV light-emitting diodes and their application to control foodborne pathogens*, „Applied and Environmental Microbiology”, 2016, 82(1): 2–10; doi: 10.1128/AEM.01186-15.
- [5] Wolska A., *Bakteriobójcze promieniowanie UV-C – korzyści i zagrożenia*, 2020, <https://akademialed.pl/bakteriobojcze-promieniowanie-UV-C-korzysci-i-zagrozenia>.
- [6] Soro A.B. i in., *Current challenges in the application of the UV-LED technology for food decontamination*, „Trends in Food Science and Technology”, 2023, 131: 264–276; doi: 10.1016/j.tifs.2022.12.003.
- [7] Oświadczenie dotyczące stanowiska CIE (Międzynarodowej Komisji Oświetleniowej) w sprawie promieniowania nadfioletowego (UV) jako środka ograniczającego ryzyko rozprzestrzeniania się COVID-19, Warszawa, 12 maja 2020 r., tłumaczenie: Narodowy Polski Komitet Oświetleniowy SEP.
- [8] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r. w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki (Dz.U. nr 81, poz. 716 z późn. zm.).
- [9] Lee H. i in., *Understanding possible underlying mechanism in declining germicidal efficiency of UV-LED reactor*, „Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology”, 2018, 185: 136–142; doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.06.001.
- [10] Randall T.E. i in., *Bacterial repair and recovery after UV LED disinfection: implications for water reuse*, „Environmental Science: Water Research and Technology”, 2022, 8: 1700–1708; doi: 10.1039/d1ew00836f.
- [11] Martín-Sómer M. i in., *A review on LED technology in water photodisinfection*, „Science of the Total Environment”, 2023, 885: 163963; doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.163963.
- [12] Dyrektywa Komisji (UE) 2019/1833 z dnia 24 października 2019 r. zmieniająca załączniki I, III, V i VI do dyrektywy 2000/54/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do dostosowań wyłącznie technicznych (Dz.Urz. UE L 279 z 31 października 2019 r., s. 54–79).
- [13] Ghosh S. i in., *Application of UV LEDs to inactivate antibiotic resistant bacteria: Kinetics, efficiencies, and reactivations*, „Science of the Total Environment”, 2024, 934: 173075; doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.173075.
- [14] Sinha R.P., Häder D.P., *UV-induced DNA damage and repair: a review*, „Photochemical and Photobiological Sciences”, 2002, 1(4): 225–236; doi: 10.1039/b201230h.
- [15] Peccia J. i in., *Effects of relative humidity on the ultraviolet induced inactivation of airborne bacteria*, „Aerosol Science and Technology”, 2001, 35: 728–740; doi: 10.1080/02786820152546770.
- [16] Martin N., Gehr R., *Reduction of photoreactivation with the combined UV/peracetic acid process or by delayed exposure to visible light*, „Water Environment Research”, 2007, 79(9): 991–999; doi: 10.2175/106143007x214010.