CZU: 535.37:579.67:615.47 **https://doi.org/10.59295/tehfizuvs25.10**

INACTIVAREA PATOGENILOR PRIN ABSORBȚIE DE RADIAȚIE UV-C PULSATĂ ÎN DECONTAMINARE AVANSATĂ

INACTIVATION OF PATHOGENS BY ABSORPTION OF PULSATED UV-C RADIATION FOR ADVANCED DECONTAMINATION

Ion MUNTEANU[1,2] e-mail: ion.munteanu@usm.md ORICID ID: 0000-0002-5685-8888

[1]Laboratorul de optică cuantică și procese cinetice, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
[2]Catedra de fiziologie și biofizică medicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițeanu"

Abstract. *This study explores the potential of pulsed UV-C radiation within the 220–280 nm spectral range for microbiological decontamination, achieved through coupling evanescent waves generated at metamaterial surfaces with incident UV-C radiation. The main objective is to assess the decontamination efficiency as a function of varying temporal intervals between UV-C pulses, while maintaining a constant pulse energy. Experiments were conducted on yeast solutions (Saccharomyces cerevisiae) used as a biological model, subjected to irradiation over different exposure durations. Optical absorption spectra revealed significant alterations in the biochemical and structural properties of the cells, correlated with the irradiation timing parameters. The findings confirm the enhanced efficiency of combining pulsed UV-C radiation with metamaterial structures for pathogen inactivation, providing a robust foundation for the development of advanced decontamination technologies in medical and industrial environments.*
Keywords: *Pulsed UV-C radiation; evanescent waves; metamaterials; photochemical interaction; pathogen inactivation; optical absorption spectra.*

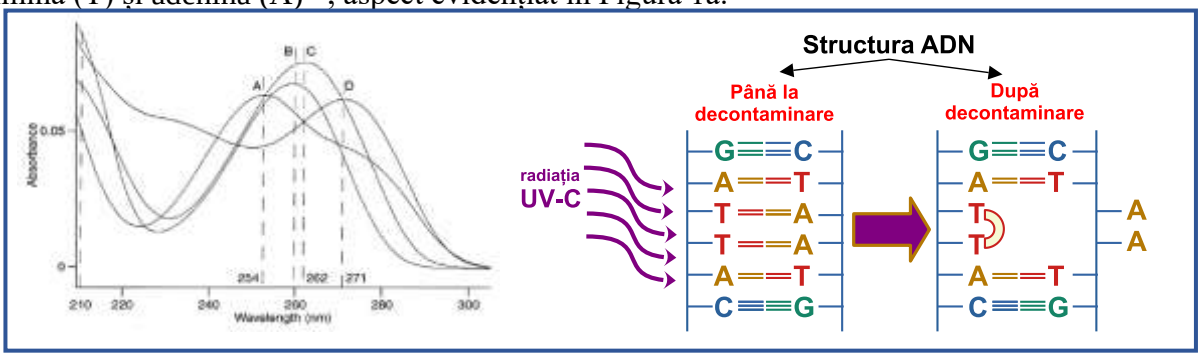
INTRODUCERE

Pandemia provocată de virusul SARS-CoV-2, cu efecte majore asupra întregii lumi, a stimulat intens cercetările pentru crearea unor soluții noi și performante de neutralizare a virusurilor și bacteriilor. Tehnica de dezinfecție prin radiații ultraviolete (UV), cunoscută încă din 1877, a fost demonstrată inițial de Downes și Blunt, care au observat că expunerea îndelungată a soluției Pasteur la razele solare a blocat dezvoltarea bacteriană pe parcursul mai multor luni [1]. Validată prin studii extinse, această metodă este astăzi utilizată pe scară largă pentru eliminarea patogenilor virali, confirmându-și utilitatea în diverse domenii [2-4]. Numeroase investigații au arătat că radiațiile UV-C (220–280 nm) inactivează virușii și bacteriile mai ales prin alterarea directă a ADN-ului sau ARN-ului, prin leziuni fotonice la nivelul bazelor nucleice. Studii recente au testat combinații inovatoare, integrând UV-C cu metamateriale compozite de geometrii diverse, pentru a amplifica efectul antimicrobian [5-6]. Deși performanța antimicrobiană a UV-C continuu este clar stabilită, nu este încă elucidat dacă impulsurile UV-C de durată foarte scurtă, folosite izolat, pot atinge niveluri similare de inactivare. Prezentul studiu examinează neutralizarea rapidă și integrală a patogenilor prin expunere la radiație UV-C pulsată la 254 nm. Laserele cu impulsuri oferă putere maximă ridicată la o putere medie redusă, permițând ajustarea precisă a intervalelor dintre pulsuri fără a modifica energia individuală. Astfel, putem determina influența ritmului de impulsuri asupra randamentului de inactivare. Așa cum au evidențiat studiile, radiațiile ultraviolete induc un efect distructiv asupra microorganismelor, intensitatea acestuia fiind influențată de durata expunerii și atingând valoarea optimă la 254 nm.

Aceste radiații generează alterări majore în structura ADN-ului, ducând la decesul celular. Totodată, pentru a lega integritatea structurii acizilor nucleici de doza minimă necesară, revizuim datele de fluență din literatura de specialitate – de la ordinul milijoulilor până la sute de mJ/cm² – și le folosim ca bază solidă pentru proiectarea experimentală și interpretarea rezultatelor. În același timp, studiul a vizat examinarea variațiilor spectrelor de absorbție în intervalul 220–280 nm, regiune în care acizii nucleici din ADN-ul patogenilor captează puternic radiația ultravioletă, blocându-le astfel capacitatea de replicare și de a genera infecții potrivit Kowalski [7].

MATERIALE ȘI METODE

Radiațiile ultraviolete (UV) se împart în trei categorii principale: UV-A (315–400 nm), UV-B (280–315 nm) și UV-C (100–280 nm). Dintre acestea, UV-C se remarcă prin eficiența superioară în scopuri germicide, fiind capabil să elimine virusuri și bacterii nocive de pe suprafețe, din aer sau din medii lichide, prin acțiune dezinfectantă fără contact fizic. În spectrul UV-C, benzile cuprinse între 220 și 280 nm sunt deosebit de eficiente în neutralizarea agenților patogeni, deoarece provoacă daune fotochimice directe la nivelul ADN-ului și ARN-ului, prin absorbția energiei de către bazele nucleice, blocând astfel procesul de replicare [7]. Conform lui von Sonntag (1986), ADN-ul prezintă două maxime de absorbție ultravioletă: unul în jurul valorii de ~200 nm, legat în principal de lanțul de riboză și grupele fosfat, și altul la ~265 nm, unde absorbția este dominată de bazele nucleotidice – citozina (C), guanina (G), timina (T) și adenina (A) –, aspect evidențiat în Figura 1a.



a) b)

Figura 1. a) Spectre de absorbție ultravioletă pentru nucleotidele standard de adenină, citozină, guanină și uridină, evidențiind lungimile de undă corespunzătoare absorbției maxime (conform J.H. Fischer, HPLC pentru nucleotide, p. 9). b) Mecanismul de formare a dimerilor de timină prin absorbția radiației UV-C între nucleotidele de timină învecinate (dublete TT).

În structura ADN-ului, citozina este legată de guanină prin trei punți de hidrogen, pe când timina se asociază cu adenina doar prin două astfel de legături, ceea ce face perechea timină-adenină cea mai vulnerabilă din dublul helix (conform Figura 1b). Iradierea cu UV-C în domeniul 220–280 nm generează daune fotochimice în ADN-ul virusurilor și bacteriilor, în special prin crearea de dimeri de pirimidină, dintre care cei de tip timină-timină (T=T) sunt cei mai frecvenți. La decontaminarea patogenilor se pot folosi, în principiu, două regimuri de radiație UV-C: pulsat și continuu. Regimul UV-C pulsat este însă mai eficient, deoarece impulsurile sale de intensitate ridicată produc o doză energetică instantanee mai mare, care distruge rapid structurile ADN și ARN ale microorganismelor, reducând semnificativ timpul necesar pentru sterilizare. În optică, un puls ultra-scurt reprezintă un impuls electromagnetic cu o durată de ordinul picsecundei (10^{-12} secunde) sau mai mică.

Laserele constituie principalele dispozitive utilizate pentru generarea acestor pulsuri ultra-scurte, fiind indispensabile în tehnologiile optice avansate [8]. Laserele funcționează în două regimuri distincte: undă continuă (CW), care emite un fascicul constant și neîntrerupt, sau pulsat, care produce explozii discrete de lumină (vezi Figura 2). Laserele pulsate, esențiale pentru cercetarea noastră, furnizează explozii de energie ridicată, separate prin intervale de timp, ceea ce duce la o putere medie mai scăzută în comparație cu laserele CW. Totuși, energia fotonică instantanee mare din pulsurile scurte permite interacțiuni fotochimice precise, cum ar fi ruperea legăturilor chimice în molecule biologice, fără deteriorări termice semnificative – o caracteristică vitală pentru experimentele noastre de inactivare a patogenilor. Pulsurile mai scurte generează putere de vârf superioară, reducând efectele termice datorită duratei lor extrem de reduse. În opoziție, laserele CW distribuie energia uniform în timp, putând genera acumulare termică. Pentru a elucida noțiunile de emisie laser și pulsație relevante studiului nostru, termenii și principiile cheie sunt prezentate mai jos.

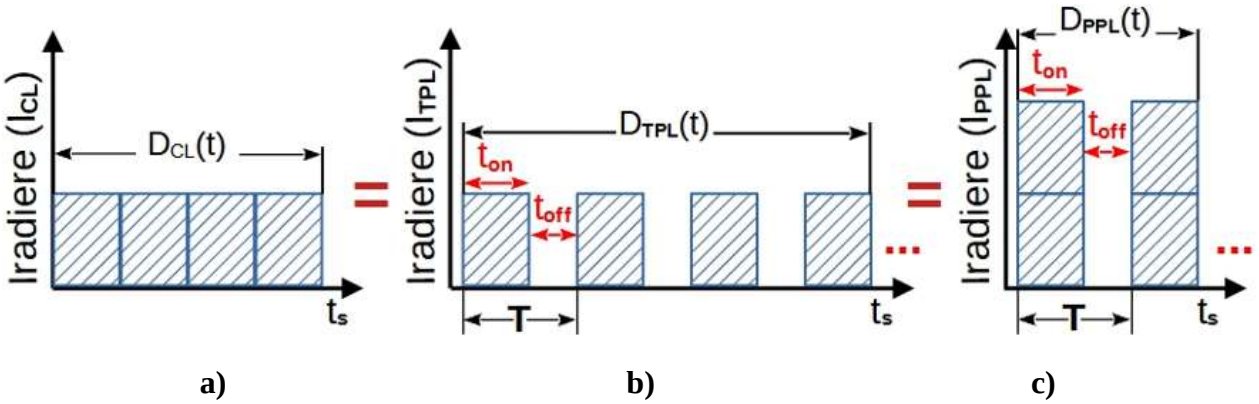


Figura 2. Tehnici de emisie și dependența iradierii de timp pentru LED-urile UV-C. Lumină continuă (CL) (a), lumină pulsată în timp (TPL) (b) și lumină pulsată de putere (PPL) (c)

Energia pulsului reprezintă cantitatea de emisie energetică într-o singură perioadă, unde fiecare perioadă include un singur puls, iar toată energia emisă pe parcursul unei perioade complete este furnizată de pulsul evidențiat prin zonele umbrite în (Fig. 2). Atât laserul pulsat, cât și varianta sa în regim continuu (CW) furnizează aceeași cantitate de energie într-o perioadă de puls. Prin urmare, pentru laserul pulsat se aplică relația:

Energia pulsului (Jouli) = Puterea medie (Wați) × Durata pulsului (secunde) (1)

unde **puterea medie** exprimă emisia medie de putere în timp, în wați. **Energia pulsului** reprezintă energia totală a unui puls sau, echivalent, puterea medie, **nu** puterea de vârf. **Puterea de vârf** este cea mai mare valoare a puterii emise de laser (puterea atinsă în timpul pulsului) și se obține prin împărțirea energiei pe puls la lățimea temporală a pulsului. Virușii nu pot genera sau stoca energie sub formă de adenozin trifosfat (ATP), ci își obțin întreaga energie și toate funcțiile metabolice de la celula gazdă. În absența radiației UV, sistemul viral este activ, adică emite la o frecvență maximă ω și nu oscilează (Figura 3a). În schimb, un puls scurt de radiație modifică radical dinamica virusului. Odată cu creșterea amplitudinii modului de oscilație 85 al virusului, frecvența emisă de oscilatorul local (virusul) scade. Figura 3b ilustrează acțiunea primului puls UV asupra sistemului viral.

Se observă o vibrație ușoară a virusului în jurul poziției de echilibru (săgeata din Fig. 3b). După iradierea cu primul puls UV, virusul emite la frecvența ω'.

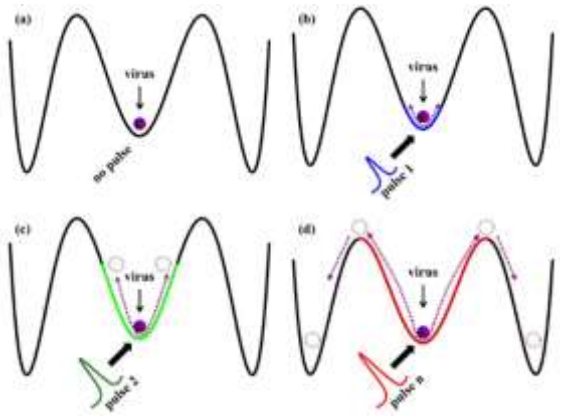


Figura 3. Reprezentare schematică a inactivării virusului prin radiații UV cu impulsuri de lumină pentru (a) nicio iradiere a virusului, (b) virusul este iradiat cu primul impuls, (c) virusul este iradiat cu al doilea impuls și (d) radiații cu n impulsuri

Pentru a evalua modificările formei pulsului după trecerea prin soluția iradiată, spectrele de absorbție au fost înregistrate simultan la doze variabile de radiație. Conform literaturii de specialitate, radiația UV-C declanșează reacții chimice la nivelul ADN-ului, ducând la inactivarea patogenilor [9]. În consecință, presupunem că, pe măsură ce soluția care conține patogeni este expusă la doze crescânde de radiație, aceasta devine mai transparentă, ceea ce ar trebui să se reflecte prin modificări observabile în spectrele de absorbție la durate diferite de iradiere. Pentru a evalua modificările formei pulsului după trecerea prin soluția iradiată, spectrele de absorbție au fost înregistrate simultan la doze variabile de radiație. Conform literaturii de specialitate, radiația UV-C declanșează reacții chimice la nivelul ADN-ului, conducând la inactivarea patogenilor [10]. În consecință, ipoteza noastră este că, pe măsură ce soluția contaminată cu patogeni este expusă la doze crescânde de radiație, aceasta devine progresiv mai transparentă, ceea ce se traduce prin modificări observabile în spectrele de absorbție corespunzătoare diferitelor durate de iradiere.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În această secțiune, analizăm potențialul de inactivare a bacteriilor dintr-o soluție de drojdie de panificație utilizând radiație UV-C emisă de un laser pulsat. Eficiența decontaminării este evaluată prin examinarea formei și lățimii pulsului transmis după iradiere. Figura 4 prezintă radiația detectată pentru un număr variabil de pulsuri transmise prin soluția de drojdie de panificație preparată. Curba roșie corespunde unui singur puls transmis, cu o intensitate detectată de 0,6 unități. După iradierea soluției cu 60 de pulsuri UV-C, intensitatea detectată crește la 0,8 (curba verde), indicând o inactivare parțială a bacteriilor. Prin continuarea iradierii cu 180 de pulsuri (curba albastră) și, ulterior, cu 300 de pulsuri (curba violet), intensitatea detectată atinge valoarea de 0,95. Aceste rezultate evidențiază o creștere progresivă a ratei de inactivare, apropiindu-se de un nivel maxim.

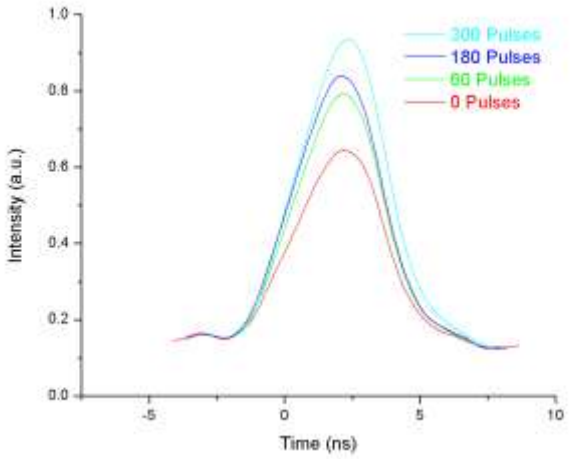


Figura 4. Dependența de timp a intensității laserului detectate pentru diferite numere de iradiere a impulsurilor UVC. Lățimea impulsului corespunde cu 5 nm.

Spectrele analizate evidențiază două vârfuri distincte la aproximativ 230 nm și 267 nm, prezente în toate etapele experimentului. Conform lui Kowalski [7], dependența absorbției de lungimea de undă pentru cele patru nucleotide principale arată că timina prezintă un maxim în jurul valorii de 267 nm, corespunzând unuia dintre vârfurile observate în experimentul nostru. Acest fapt indică o absorbție eficientă a radiației UV-C pulsate de către timina din ADN-ul drojdiei de panificație.

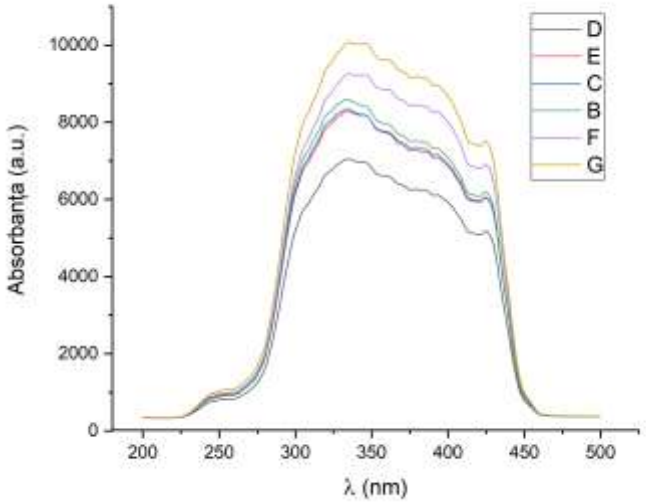


Figura 5. Dependența ratei de decontaminare a soluțiilor de drojdie de panificație sub acțiunea unor impulsuri scurte de radiații UVC în funcție de timp.

Mai mult, Figura 5 ilustrează o scădere progresivă a valorilor de absorbție odată cu creșterea numărului de pulsuri, semnalând reducerea densității patogenilor. Această diminuare este cauzată de distrugerea lanțurilor de ADN, ceea ce conduce la dezinfectarea soluției.

CONCLUZII

Pentru a studia variația formei pulsului după trecerea prin soluția de drojdie de panificație, am efectuat analize spectrale pe parcursul etapelor de iradiere (0–300 pulsuri). Spectrele de absorbție au fost înregistrate simultan cu livrarea energiei de către pulsuri UV-C în soluție, rezultatele fiind prezentate în Figura 5. Spectrele relevă constant două vârfuri proeminente la aproximativ 230 nm și 267 nm. Conform lui Kowalski [7], profilul de absorbție al celor patru nucleotide principale indică un maxim pentru timină în jurul valorii de 267 nm, corespunzând unuia dintre vârfurile observate în experimentul nostru. Acest aspect demonstrează că timina din ADN-ul drojdiei de panificație absoarbe intens radiația UV-C pulsată.

În plus, Figura 5 evidențiază o scădere treptată a absorbției pe măsură ce numărul de pulsuri crește, reflectând reducerea densității patogenilor prin ruperea lanțurilor de ADN și, implicit, dezinfectarea eficientă a soluției.

Referinţe:

1. DOWNES, A., BLUNT, T. The Influence of Light upon the Development of Bacteria. În: *Nature*. 1877, vol. 16, pp. 218. doi.org/10.1038/016218a0.
2. CAILLET-FAUQUET, P., DI GIAMBATTISTA, M., DRAPS, M.-L., SANDRAS F., BRANCKAERT, T., DE LAUNOIT, Y., et al. Continuous-flow UVC irradiation: a new, effective, protein activity-preserving system for inactivating bacteria and viruses, including erythrovirus B19. În: *J. Virology Methods.* 2004, vol. 118, pp. 131–139. doi: 10.1016/j.jviromet.2004.02.002.
3. NARITA, K., ASANO, K., NAITO, K., OHASHI, H., SASAKI, M., MORIMOTO, Y., et al. 222-nm UVC inactivates a wide spectrum of microbial pathogens. În: *J. Hosp. Infect*. 2020, vol. 105(3), pp. 459–467. doi: 10.1016/j.jhin.2020.03.030.
4. ANDRONIC, Ion, FRUNZA, Maria, DUȘCIAC, Viorel. Unele aspecte fizice ale fotosintezei. În: *Fizica și tehnologiile moderne.* 2007, vol. 5, nr. 1-2.
5. MUNTEANU, I., STARODUB, E., BAZGAN, S., TURCAN, M., PASLARI, T., PODOLEANU, D., ENAKI, N.A. Ultraviolet C intensity dependence of decontamination efficiency for pathogens as function of repacked metamaterials with screw channels. În: *Eur Biophys J*. 2024, vol. 53(3), pp. 133—145. doi. 10.1007/s00249-024-01702-2
6. ENAKI, N.A., MUNTEANU, I., PASLARI, T., TURCAN, M., STARODUB, E., BAZGAN, S., PODOLEANU, D., RISTOSCU, C., ANGHEL, S., BADICEANU, M., Anghel, S., Badiceanu, M., Mihailescu, I.N. Topological Avenue for Efficient Decontamination of Large Volumes of Fluids via UVC Irradiation of Packed Metamaterials. În: *Materials.* 2023, vol. 16, pp. 45-59.
7. KOWALSKI, W. UVGI disinfection Theory, Ultraviolet germicidal irradiation handbook, Springer, 2009, pp.17-50.
8. MUNTEANU, I., STARODUB, E., BAZGAN, S., TURCAN, M., PASLARI, T., PODOLEANU, D., ENAKI, N.A. Ultraviolet C intensity dependence of decontamination efficiency for pathogens as function of repacked metamaterials with screw channels. Eur Biophys J. 2024, 53(3), pp.133—145. Doi: 10.1007/s00249-024-01702-2.
9. MUNTEANU, I., ENACHI, N., CIOBANU, N. Aspects of pathogen inactivation via absorption of short-pulse UV-C irradiation for advanced decontamination strategies. Photoch Photobio Sci. 2025, 24, pp.1825—1836. Doi: 10.1007/s43630-025-00794-9.
10. BIASIN, M., BIANCO, A., PARESCHI, G. et al. UV-C irradiation is highly effective in inactivating SARS-CoV-2 replication. Sci Rep 11, 6260 (2021). https://doi.org/10.1038/s41598-021-85425-w.

Mulţumiri. Această lucrare a fost susținută de proiectele: Subprogram cod 011206 și cifrul 24.80012.5007.26SE.