

OH* Radikallerinin Kapalı Alan Havaasını Ve Yüzeyleri İnsana Zarar Vermeyen Yöntem İle Dezenfekte Etme Kanıtı

Martínez Vimbert R1,2, Arañó Loyo M1,2, Custodio Sánchez D2, Garcia Raurich J3, Monagas Asensio P3

1Emovere Natura, Biomedical Research Communications

2e-SHealth, Consulting health care, Parc Científic Universitari Tecno Campus Mataró

3Centre de Recerca en Seguretat i Control Alimentari, de la UPC (CRESCA)

Özet— Dünyadaki insan toplumlarının gelişimi, daha yüksek bulaşıcı hastalık insidansı nedeniyle insan sağlığını ve hayvanların ve bitkilerin hayatta kalmasını tehdit eden çok ciddi bir çevresel hasar yarattı.

Bu farkındalık ve geniş hava alanındaki ve yüzeydeki uçucu organik bileşenlerin (UOB) ve patojenik mikroorganizmaların elimine edilmesine yönelik çevreye zararsız ileri sanitasyon yöntemlerinin tasarlanmasını sağlamıştır. Yeterli yoğunluktaki hidroksil radikalleri temel alan (OH) İleri Oksidasyon prosesi (İOP), patojenik mikroorganizmalar üzerinde biyosidal fonksiyonlar göstermekte ve havadaki organik bileşenleri, zararsız organik bileşenlerin mineral formlarına ayıştırmaktadır [6].*

Temiz ve güvenli olarak tanınan bir teknolojidir ve genellikle fotokatalizör malzemeli bir işlem başlatıcı olarak güneş radyasyonu yoluyla gerçekleştirilir. Fotokataliz yöntemlerinde ortaya çıkan problem, düşük hızı, toksik bozunma ara maddelerinin oluşması, malzemenin deaktivasyonu ve UV ışınlama ihtiyacıdır.

Patojenik mikroorganizmaların havayolu ile yayılmasının artması, çevre güvenliğine yönelik tehdit teşkil etmesi konusunda ciddi kaygılara sebep olmuştur. Ancak, geniş bir hava alanında bu zararlı mikroorganizmaları çabucak elimine eden herhangi etkili bir yöntem bulunmamaktadır. Geleneksel dezenfektanlar ile karşılaştırıldığında, OH radikal temelli oksidasyon proseslerinin mükemmel avantajları bulunmaktadır.*

Anahtar Kelimeler— İleri Oksidasyon Prosesi, dezenfektasyon, hidroksil radikaller (OH•), bulaşıcı hastalıklar, ozon, terpenler, UOB.

I. GİRİŞ

Dünyadaki insan toplumlarının gelişimi, daha yüksek bulaşıcı hastalık insidansı nedeniyle insan sağlığını ve hayvanların ve bitkilerin hayatta kalmasını tehdit eden çok ciddi bir çevresel hasar yarattı

Atmosferin doğal bir mikrobiyotası yoktur, ancak atmosferin kendisi birçok mikroorganizma türlerinin dağılmasını sağlayan hızlı ve küresel bir araçtır.

Aerobiyolojinin tarihi, geçen yüzyıla kadar kolera, grip veya Lejyonella gibi salgın hastalıkların gelişiminde solunum hava kirliliğinin oynadığı temel rolü göstermiştir. Hava biyolojisinin tarihi, son yüzyılda, hava kirliliğinin solunmasının, kolera, enflüanza veya Lojyonella gibi bulaşıcı hastalıklarda temel bir rol oynadığını göstermiştir. [1]. Bu solunum havası kirliliği, dünyanın dört bir yanındaki insanların hareketliliğinin kolaylığıyla birlikte, bu yeni yüzyılda hayatta kalmak için son derece ciddi solunum sendromları üretmiştir.

Ekim 2002 ve Temmuz 2003 arasında, ağır akut solunum yolu yetersizliği sendromu (SARS) çok hızlı bir şekilde Çinden başlayarak dünya üzerinde 37 farklı ülkeye yayılmış ve 775 kişinin ölümü ve 40 Milyar Dolar ekonomik kayıp ile sonuçlanmıştır [2].

2009 yıllarının başında domuz orijinli H1N1'in farklı bir türü Meksika'dan tüm dünyaya yayılmıştır. 2010 yılında 17,000 insanın ölmesine sebep olan H1N1 Dünya sağlık örgütü (DSÖ) tarafından grip pandemisi olarak ilan edilmiştir [3].

2012 yılında yeni bir korona virüsün epizodu MERS-CoV (Orta Doğu Solunum Sendromu Korona virüs) ortaya çıkmıştır. 2002'de SARS-CoV ve 2012'de MERS-CoV'in ortaya çıkması ile, Koronavirida familyası perspektifini değiştirmiştir. Bunun sebebi ise, ölüm oranlarının sırası ile %10 ve %30 olmasıdır ki bu oranlar virüs familyasındaki diğer virüslere göre daha fazladır. [4].

Aralık 2019 yılında (17 yıl sonra) SARS-CoV2 (ağır akut solunum yolu yetersizliği sendromu korona virüsü 2) isimli yeni üçüncü bir korona virüs Çin'in Wuhan Hubei ilinde ortaya çıkmıştır[5]. Şubat 2020'de, COVID-19 olarak yeniden adlandırılmış ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından pandemi olarak ilan edilmiştir. Bu sebeple, geniş hava alanlarındaki mikroorganizmaları elimine etmek için hızlı ve etkili bir yöntemin geliştirilmesi oldukça önemlidir.

Bu farkındalık ve geniş hava alanındaki ve yüzeydeki uçucu organik bileşikler (UOB) ve patojenik mikroorganizmaların elimine edilmesine yönelik çevreye zararsız ileri sanitasyon yöntemlerinin tasarlanmasını sağlamıştır. Yeterli yoğunluktaki hidroksil radikalleri temel alan (OH*) İleri Oksidasyon prosesi (İOP), patojenik mikroorganizmalar üzerinde biyosidal fonksiyonlar göstermekte ve havadaki organik bileşikler, zararsız organik bileşiklerin mineral formlarına ayrıştırmaktadır [6].

Farklı çalışmaların sonuçları, OH• radikallerinin, 0.8 mg / L konsantrasyon ve 21 µL / m² sprey yoğunluğu ile farklı mikroorganizmaları 4 saniyede hızlı bir şekilde yok ettiğini göstermektedir [7]. OH* radikallerinin ölümcül dozuna maruz kaldıkları zaman, Patojenik mikroorganizmalardaki hayati ve temel hücrel morfolojik değişiklikler, mikroskop altında da gözlemlenebilir.

Temiz ve güvenli olarak tanınan bir teknolojidir ve genellikle fotokatalizör malzemeli bir işlem başlatıcı olarak güneş radyasyonu yoluyla gerçekleştirilir. Fotokataliz yöntemlerinde ortaya çıkan problem, düşük hızı, toksik bozunma ara maddelerinin oluşması, malzemenin deaktivasyonu ve UV ışınlamaya ihtiyaç duyulmasıdır.

Patojenik mikroorganizmaların havayolu ile yayılmasının artması, çevre güvenliğine tehdit teşkil etmesi ile ilgili ciddi kaygılara sebep olmuştur. Ancak, geniş bir hava alanında bu zararlı mikroorganizmaları çabucak elimine eden herhangi etkili bir yöntem bulunmamaktadır. Geleneksel dezenfektanlar ile karşılaştırıldığında, OH* radikal temelli oksidasyon proseslerinin mükemmel avantajları bulunmaktadır. Geleneksel dezenfektanlar ile karşılaştırıldığında, OH* radikal temelli oksidasyon proseslerinin mükemmel avantajları bulunmaktadır.

Mevcut durumda, mikrobik bulaşmayı elimine etmek için en çok kullanılan üç ana kimyasal dezenfektan türleri; klor, alkali, alkali-alkolemidir, ancak bazı eksiklikleri vardır. Kimyasal bir dezenfektan yalnızca bir veya benzer türde patojenik mikroorganizmaları seçici olarak öldürebilir; düşük kimyasal reaksiyon hızı % 9'a (v / v) ulaşabilen çok yüksek öldürücü dozaj değeri nedeniyle 0.5 - 1 saat aralığında işlem süresi uzundur; arda kalan klor ara ürünleri ağır sekonder kontaminasyonu beraberinde getirmektedir. Son olarak, öldürücü işlemin nesnelere yüzeyi ile sınırlı olması geniş hava alanlarında kullanılmasını olanaksız kılmaktadır [8,9].

Daha önceki kimyasal dezenfektanlar ile karşılaştırıldığında, ileri OH* radikal temelli oksidasyon teknolojisinin birçok avantajları vardır: 1) Seçicilik olmaması, florinden (3.03 V) biraz düşük olacak şekilde 2.8 V oksidasyon potansiyeli ile, güçlü oksidatif karakteri sayesinde düşük öldürücü dozda tüm patojenik mikroorganizmaları öldürebilirler. 2) OH* radikallerinin proses süresinin çok kısa, birkaç saniye olması, çünkü OH* radikallerinin kimyasal reaksiyon oranının 109 L mol⁻¹saniye⁻¹'dir; bu da O₃, H₂O₂, Cl₂ gibi diğer oksidanlardan 107 daha fazladır. 3) Yeşil bir oksidan olarak, OH radikalleri, biyomedikal reaksiyonlarından sonra herhangi bir kalıntı bırakmadan H₂O ve O₂ olarak bileşenlerine ayrılır [10,11].

II. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

2.1 OH* Radikallerinin Oluşması

Oksijen, yaşam için gerekli bir moleküldür, ancak yüksek reaktivitesi nedeniyle, aynı zamanda sözde oksijen paradoksuna yol açan toksik bir element haline gelir. Aşağıdaki kirletici konsantrasyonları genellikle 'temiz' açık havalarda bulunur (kirlenmenin kaynağı olmaksızın): karbondioksit, 320 ppm; ozon, 0.02 ppm, karbon monoksit, 0.12 ppm, nitrik oksit, 0.003 ppm, ve nitrojen dioksit, 0.001 ppm. Ancak, bu değerler şehir içi havada belirgin bir şekilde artmaktadır [12].

OH* radikali troposferik kimyadaki en önemli doğal oksidandır ve birçok kirletici ile reaksiyona girerek onları temizleme sürecini başlattığı için atmosferde sıklıkla "deterjan" olarak adlandırılır. Ayrıca, karbondioksit, metan veya ozon gibi sera gazlarını elimine etmede önemli bir rol oynar. İleri Oksidasyon Prosesini (İOP) kullanmak caziptir, diğer nedenlerin yanı sıra, kirletici madde yok edildiğinden, konsantre edilmediğinden veya çevreye aktarılmadığından, organik kirleticilerin toplam veya neredeyse tamamen mineralizasyonu elde edilir. Bu nedenle, özellikle organoklor, PCBs, PAHs ve benzerleri gibi biyobozulmayan bileşenler gibi bir çok organik bileşenlerin yok edilmesinde kullanılabilirler. Temiz ve güvenli bir teknoloji olması sayesinde ve bazı proseslerde solar radyasyon başlatıcı olarak kullanılabilir.

Geniş hava alanlarında patojenik mikroorganizmaları hızla ortadan kaldırmanın ana sorunu, yüksek konsantrasyonlu ve büyük üretime sahip OH* radikallerinin nasıl üretileceğidir. Halihazırda, temel yöntemler Fenton katalizi, fotokataliz, ve ozonun yanı sıra bunların ortak etkileridir [13-17]. Ancak, bu teknolojilerin de ciddi dezavantajları vardır: 1) OH* radikalleri üretim hızı yavaştır ve düşük konsantrasyonda elde edilir böylece tüm biyomedikal reaksiyon süresi uzun, 15-360 dakika arasındadır. 2) yukarıda bahsi geçen teknolojiler ancak küçük ölçekli deneylere ve uygulamalarda kullanılır. 3) OH* üretim prosesinde H₂O₂, TiO₂ or Fe²⁺ gibi çok sayıda kimyasal ayıraçlara gereksinim vardır bu da yüksek maliyet ve güvenlik sorununa sebep olmaktadır. 4) OH* radikal üretimini arttırmak için, köpük kulesi veya döner dolgulu yatak reaktörü gibi birçok teknoloji türü bir arada kullanılmıştır.

Önceki çalışmalarda, güçlü elektrik alan boşaltımının fiziksel bir yöntemi kullanılarak havadaki O₂'nin ve gaz halinde H₂O'nun iyonlaşması ve ayrıştırılmasıyla çok sayıda OH* radikalının üretildiği bildirilmiştir. Bu şekilde, OH* radikalleri, geminin safra suyunun ve okyanustaki kızıl gelgitin artırılmasında başarıyla kullanılmıştır [18,19].

Titanyum oksit, yüksek aktivitesi, bağlı kararlılığı, düşük maliyeti ve düşük toksisitesi nedeniyle bir fotokatalizör materyali olarak güncel referanstır. Ancak, düşük fotokataliz hızı, toksik ara ürünlerin meydana çıkması, maddenin deaktive olması ve UV ışımaya ihtiyaç duyulması gibi problemlerin çözülmesi gerekmektedir [20].

2.2 Havanın ve yüzeylerin temizlenmesi için yeni ileri bir oksidasyon prosesinin geliştirilmesi

Açıklanan senaryo göz önünde bulundurulduğunda, hava ve yüzeylerin temizlenmesinde güvenli ve etkili bir teknolojik gelişme için zorluk meydana gelmiştir. Teknolojik amaç, OH* radikallerinin yenilikçi bir sistem ile hem etkili hem de insan sağlığı için güvenli olacak şekilde yeterli miktarda üretilmesini sağlamaktır. Wadu02® cihazı, d- limonin gibi terpen veya hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi aktif oksijen türleri (ROS) ile aktive olan 0.050 ppm (0.1 mg / m³) konsantrasyonun altında iç ozon emisyonu ile reakte olan ve buharlaşan bir sistemdir. Bu ozona maruz kalma limiti, DSÖ tarafından 2000 yılında 8 saate kadar maruz kalma için çevresel limit değerleri (VLA) düzenlemelerinde belirlenmiştir [21] ve sürekli ve zararsız OH* radikalleri üretimi elde etmek için güvenli ozon emisyonu için uluslararası sınır olarak ele alınır.

Wadu02® ozon emisyonu harici bir laboratuvarında [22] Elektrostatik hava temizleyicileri standartları altında, SUN - UL 867 elektrostatik hava temizleyicileri test edilerek değerlendirilmiştir. Ayrıca Teledyne ozon kalibratör ve monitör ile Vaisala dönüştürücü ve akış ölçer ile kontrol edilen sıcaklık ve nemde test edilmiştir. Wadu02® cihazının ozon emisyonu aktif modda ve gece modunda 0.020 ppm'den daha az parametrelerde onaylanmıştır (0.012 - 0.015 ppm (0.012 - 0.015 ppm filtresiz ve 0.015 -0.016 ppm filtreyle). Sonuçlar, tüm uluslararası uzun süreli ozona maruz kalma güvenlik standartlarından daha düşüktür.

H₂O₂ oksidasyonu yoluyla OH* radikal üretimi, Wadu02® cihazının oksidatif işlevselliğine göre kontrollü koşullar altında değerlendirilmiş, ve potasyum iyodür test çubuğu üzerinde oluşan kolorimetrik reaksiyon yardımıyla % 0.25 ve %0.75 arası saflık aralıklarında sıvı hidrojen peroksitler ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar, 1.4 mg / m³ (1ppm)'e ayarlanmış işyeri maruz kalma limiti (İML)'nin yaklaşık %64.2'i kadar olan 0.9 mg/m³ (0.64 ppm) maksimum üretim ile H₂O₂'nin ortalama oksidatif kapasitesinin %0.5 saflıkta olduğunu ve Wadu02® model aygıtları tarafından öne sürülen oksidatif kapasiteye eşit olduğunu göstermiştir [23,24].

Hidrojen peroksit gazının solunum yolundaki akut irritasyon sınırı, insanlarda 10 mg/m³ (7 ppm'e eşit) iken, cilt için ilgili değerler 20mg/m³'tür. Uzun süreli maruz kalma ile ilgili olarak, hidrojen peroksitin insan üzerinde teratojenik veya kansorejen etkilerinin olduğu bulunmamıştır. Mutajenik veya kromozal etkileriniN olduğu da gözlenmemiştir. Ayrıca, hidrojen peroksidin yüksek doğal reaktivitesine, kartuş yükünün çiçeklerden ve bitkilerden elde edilen aromatik esanslarla ikame edilmesine, terpenlerin antiviral ve antibakteriyel özellikleri için sahip olduğu biyosidal role bir alternatif olarak da doğrulanmıştır. Hidrojen peroksitin kanıtlanmış etkililiği ile karşılaştırmak için, ileri oksidasyon prosesi düşük ozon emisyonu (0.02ppm'den az) aynı şartları altında Wadu02® modeli ile analiz edilmiştir.

Limonin, portakal ve mandalınanın uçucu yağları dahil, turunçgillerin kabuğundan elde edilen uçucu yağlarda bulunan, doğada en bol bulunan monoterpenlerden biridir. Bu monoterpen, daha yüksek katma değere sahip bileşikler oluşturmak için oksidasyona duyarlıdır [25].

Terpenler, beş karbonlu birden fazla birim izoprenden oluşan uçucu yağlarda bulunan hidrokarbonlardır. Monoterpenler, çoğu terpenler, seskiterpenler ve diterpenlerin yanı sıra, esansiyel yağlardan oluşur. Monoterpenler ve seskiterpenlerin düşük moleküler ağırlıkları ve yüksek uçuculukları olması dolayısıyla kapalı ortamlarda esansiyel yağların kullanımı, uçucu organik bileşenlerin (UOB) seviyesini arttırabilir [26].

Terpeneler, ozon, hidroksil radikaller [27-29] ve nitrit radikaller gibi güçlü oksidanlar ile kolay bir şekilde tepkimeye girebilen bir veya daha fazla C=C çift bağından oluşurlar. Ozon yaygın bir kapalı ortam kirleticisidir, genel değerleri yaklaşık 20 ile 40 ppb arasında dağılmıştır [30,31]. Fotokopi makinesi, yazıcılar ve faks makineleri gibi ofis makinelerinin kullanımı da kapalı alan ozon konsantrasyonunu arttırmaktadır [32]. Kapalı alan terpen temelli ürünlerin buharlaşması yoluyla salınan UOB'lar ozon ile tepkimeye girebilir ve sekonder hava kirleticileri, genellikle formaldehid ve asılı partikülleri ortaya çıkarabilir [33-37]. Sterpenler ve ozonun tepkimeye girmesi ile ortaya çıkan sekonder organik aerosoller küçük ve ultra küçük partikülleri ortaya çıkarır [38-40]. Sonuç olarak, Kontrollü ve güvenli buharlaşma elde etmek için Wadu02® cihazında toplam limonin tüketiminin önceki değerlendirmeleri yapılmıştır.

Wadu02® ürünlerindeki dlimonenin toplam tüketimi, 0.4 g/24 h düzeninde olduğu belirlenmiştir. Bu cihazın işlevselliğine ve laboratuvarında kaydedilen ortalama buharlaşması ölçümlerine göre, Wadu02® ürünleri yaklaşık 1.84 ppm yoğunluklu dlimonenin içeren bir bulut salmaktadır, bu da 60m² (180m³)'lik bir odada 2ppb den daha az bir değerde maksimum yoğunluğun oluşmasını sağlayabilir. Bu yoğunluk, sırasıyla 27ppm ve 10ppm olan İsveçli ve Alman OEL seviyelerinden belirgin bir şekilde daha azdır.

2.3 Toksikoloji

Ozonun C=C bağ yapısal birimleri ile olan reaksiyonundan direkt olarak ortaya çıkan formaldehid miktarlarını değerlendirmek ve analiz etmek için, terpenlerin ozon başlangıçlı reaksiyonları sırasında meydana gelen mekanizma tarafından oluşturulan formaldehid oranlarını gösteren raporlar, ozon reaksiyonlarının yalnızca küçük bir yüzdeliğini temsil etmektedir [33,34].

Formaldehidi ortaya çıkaran ana mekanizma, ozonit elde etmek için, ozonun işlevsel grup C = C ile reaksiyonu tarafından başlatılmıştır. Bunun ardında, ozonit karbonil enerji açısından zengin (bi-radikal) Criegee ara ürününe ayrılmaktadır. İki ürün de, hidroksil radikaller ve kararlı ürünler gibi yüksek reaktif türleri elde etmek için birçok ek oksidasyon reaksiyonuna katılmaktadır. Bu kararlı ürünler, süreç okside eden bir ortamda meydana gelmiş ise ketonlar ve karboksilik asitler olabilir, ancak eğer süreç azalan bir ortamda meydana geldiyse aldehitler ve ketonlar olabilirler.

Ozonların terpenler ile olan reaksiyonunda gaz safhasında formdehid, asetaldehid, aseton ve propiyonaldehid de dahil olmak üzere düşük molekül ağırlıklı kararlı karbonların oluştuğu gözlemlenmiştir. [31,33,36]. Ozonların terpenler ile olan reaksiyonundan ortaya çıkan reaktif hidroksik radikaller, kapalı ortamda formaldehid oluşturmakta önemli bir rol oynamaktadır.

Birçok araştırma, ozonun doymamış bileşikler ile olan reaksiyonu tarafından ortaya çıkarılan kapalı alandaki OH radikallerin açık havada gün ortası veya gecede doymamış bileşiklerden daha yüksek olduğunu göstermiştir [42-44]. OH* radikalleri, ozon ve 23 UOB ve ozon ve terpenler arasındaki reaksiyondaki iç mekan formaldehidin % 56~70'inden sorumludur [45]. Bu nedenle, yeni bir güvenlik hedefi, OH radikallerinin reaksiyonlarının terpenler aracılığıyla değerlendirilmesi ve iç mekanlarda yüksek seviyelerde formaldehit elde edilmesine olası katkı ve iç mekan hava kalitesi üzerindeki potansiyel etkilerinin değerlendirilmesidir [46].

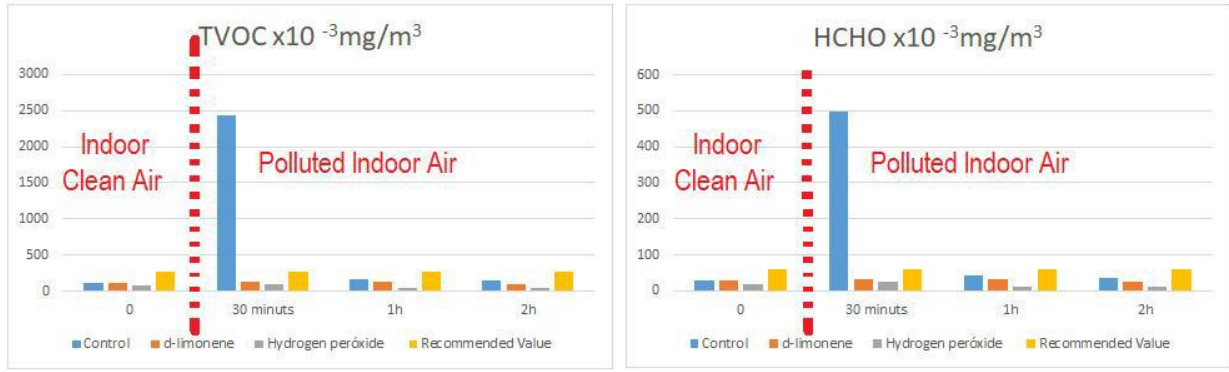
2.4 Güvenlik testi

Limonin ve hidrojen peroksit toplam tüketiminin, insanlarda teratojenik ve kanserojenik limitleri geçmediği ve ozon salınımının uluslararası düzenlemelerde belirlenenden daha az olduğu doğrulanınca, formaldehidlerin azaltılmasındaki etkililik değerlendirilmiştir. Limonin'in Wadu02® ile ileri oksidasyonu, kontrollü nem ve sıcaklık koşulları altında (21 ± 1) °C (45 ± 5)% RH , kartuşta dlimonin ve jel dlimonin ile SPS-KACA002-132: 2016 test yöntemi ile değerlendirilmiştir[47]. Sonuçlar, 0.020 ppm'den daha az salınımlı ve 1.84 ppm'ye eşdeğer olan 0.4 g/24 h buharlaşmalı düşük dlimonin emisyon konsantrasyonlu ozonoliz reaksiyonundaki formaldehidin redüksiyonunun anlamlı olduğunu ve jel limonin ile %19, sıvı limonin ile ise %41'e ulaştığını göstermektedir.

Bu sonuçlar, formaldehit oluşumu için ozonla d-limonenin yüksek reaktivitesine rağmen, kontrollü ozon emisyonunun 0,02 ppm'nin altında ve limonenin 2ppb'nin altında buharlaşmasının 60 m²'lik bir alanda güvenli ve zararsız bir reaksiyon olduğunu göstermektedir.

Bu hipotezi doğrulamak için, 225.72 m³'lük hacimli kontrol altına alınmış bir çember içinde, dlimonin ve H2O2 ile doldurulmuş bir kartuş kullanarak ve Wadu02® hava temizleyicisine 2 saat boyunca maruz kalma sırasında yanan bir tütsü çubuğu tarafından salınan partiküllerin ve kirleticilerin redüksiyonunu belirlemek için bir seri deneysel testler gerçekleştirilmiştir [48].

Farklı koşullar altında beş hava kalitesi ölçümleri yapılmıştır. İlk ölçüm, herhangi bir tütsü veya hava temizleyiciye maruz kalmaksızın odadaki birincil hava kalitesi ile belirlenmiştir. İkinci ölçüm ise, tütsü çubuğunun yarısı yanmış olduğu için 2 saat sonra alınmıştır. Üçüncü ölçüm ise, birincil hava kalitesine ulaşıldıktan ve tütsü çubuğunun yarısı yandıktan sonra, 2 saat boyunca hidrojen peroksit kartuşlu hava temizleyicisinin çalışmasıyla alınmıştır. Dördüncü ölçüm, üçüncü ölçüm ile aynı şartlar altında ancak bu sefer dlimonin kartuş hava temizleyici ile ölçülmüştür. Son olarak, beşinci ölçüm ise üçüncü ve dördüncü ölçümler ile aynı koşullar altında ancak bu sefer, her iki hava temizleyicisi (dlimonin ve hidrojen peroksit kartuşlar) ile birlikte ölçülmüştür.



ŞEKİL 1. Tütsü çubuğunun yanması ile odanın kirletilmesinde önce ve sonra hava kalitesi. UOB'ların ve formaldehidin hidrojen peroksit ve limonin ile elimine edilmesinde Wellis'in güvenlik ve verimliliğinin karşılaştırılması.

Çalışma, bu koşullar altında, bir tütsü çubuğunun yakılmasının, yanmanın başlamasından ortalama 30 dakika sonra kötü hava kalitesi oluşturduğunu ve bir saat sonra normalleşme ve iki saat sonra da yayılan parçacıkların odanın hava boşluğuna dağıldıkça başlangıç koşullarına dönme eğiliminde olduğunu göstermektedir. Ancak, formaldehid ve UOB okumaları kontrol okumalarından daha yüksektir, bu da uzun süre maruz kalmanın riskini yansıtmaktadır.

Kartuş içeriğine (dlimonin veya H2O2) bakılmaksızın, Wadu02® temizleyicilerinin bulunması durumundaki sonuçlar, maruziyetin ilk yarım saatinden itibaren, partikül maddelerinin, yani formaldehidler ve UOB'ların değerlerini belirgin bir şekilde düşürerek, birincil hava kalitesini devam ettirmektedir. UOB'ların ve formaldehidlerin reduksiyon yeterliliği, dlimonin veya H2O2'nin OH* radikalleri salınımını gerçekleştirmek için kullanılmasına göre, H2O2 daha etkin değerler göstermesine rağmen, anlamlı değildir.

Bu bize, düşük yoğunlukta ozon salınımı (<20 ppb) ve standardize edilmiş dlimonin veya H2O2'nin buharlaştırılması temel olarak Wadu02® hava temizleyicisinin UOB ve formaldehid gibi havada asılı partikülleri azaltmakta güvenli, zararsız ve etkili olduğunu belirlememizi sağlamıştır.

2.5 Geniş spektrumlu biyosid olarak OH* radikallerinin uygulanması

Serbest radikaller ve iyonlar, elektronların hareketinin bir sonucu olarak makromoleküllerde (proteinler, zarlar ve DNA) geri dönüşü olmayan değişikliklere neden olarak morbid bir etkiye neden olur. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri (RONS) en istikrarsız ve reaktif olanlardır, yani bunlar diğerleri ile ilk tepkimeye girecek olanlardır. Bu grup içinden, yüksek reaktivite ve bu nedenle de en çok tehlikeli olan OH* radikalleri daha geçici yarı-ömürlü türlerdir [49].

OH* radikalleri konsantrasyonun, patojenik mikroorganizmaları elimine etmedeki yararlılığı araştırılmıştır. 21µL/cm² Püskürtme yoğunluğu ve 4 saniyelik işlem süresi ile, *S. Marcescens* için hayatta kalan hücrelerde 0.15mg/L üzeri yoğunlukta büyük oranda azalma, 0.41mg/L yoğunlukta ise neredeyse tamamen azalma rapor edilmiştir. *B. subtilis*'te seviyeler 0.5 mg/L yoğunlukta neredeyse tespit edilemezdi, ancak basil sporlarında reduksiyon(indirgenme) 0.3mg/L seviyesinde anlamlı ve 0.8mg/L maksimum yoğunluğunda neredeyse tamamen indirgenebilir [50].

OH* radikallerinin biyosidal işlevi, 'solunum patlaması' (mitokondriyale benzer) başlatılan ve biyolojik zarlardan geçebilen hidrojen peroksit ve tüm biyolojik molekülleri modifiye eden ve ayrıştıran hipoklorit iyon gibi reaktif oksijen türlerinin [51-52], serbest bırakılması ile kaskad reaksiyon yoluyla yükseltelen hücresel bir stres mekanizması olan ileri oksidasyon prosesini temel almaktadır. Bu reaktif formların DNA proteinleri ve nükleotidlerin sülfidril bağları, yağlar ve zarlar üzerinde etkileri aşağıdakileri üretmekle meydana gelmektedir [53]:

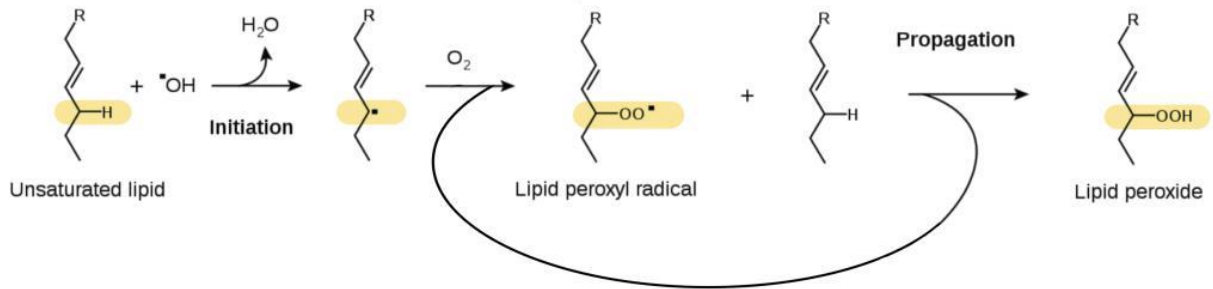
- Ortaya çıkan peroksitler, doymamış yağ asitlerinin daha fazla kaybına ve büyük zar hasarına yol açan katalitik bir zincir reaksiyonunu başlatan lipid peroksidasyonu.
- Disülfürün oluşması yoluyla, proteinler arasındaki çapraz bağların üretilmesi
- Patojenik mikroorganizmaların genetik maddelerinde meydana gelen mutasyonlar

Hüresel oksidasyon süreci sırasında, doymamış zincirler, OH radikalleri tarafından kolayca saldırıya uğrayabilir. Zarlardaki yağlı asitlerin peroksidasyonu, işlevselliklerini düşürerek peroksil radikallerini (ROO*) meydana getirir. Bu radikaller OH* radikallerinden daha düşük bir reaktiviteye sahiptirler ve yarı ömürleri bir şekilde daha uzundur.

Oksidatif stresten kaynaklı hücre hasarının varlığı, hücrede bir antioksidan tepkiye yol açar: radikaller eylemsiz olana ve kararlılık sağlanana kadar, elektronları bir türden diğerine geçirmeye çalışırlar. Diğer yandan, bu etkileşimler hasarı daha da yayan kaskadlara sebep olabilirler [54].

2.5.1 Lipit oksidasyon.

Biyolojik zarlar, doymamış yağlı asit zincirlerinden oluşmaktadır ve kolayca okside olurlar. OH* radikalleri, bu yapıların ikili bağlarına saldırır, zincirde eşleşmemiş ve yeniden dengeye getirmek için oksijen molekülüne bağlanacak bir elektron bırakır, bu da peroksil radikalın oluşmasına sebep olur. Peroksil radikallerinin varlığı, mekânsal dağılımını değiştirerek istikrarsızlığa neden olduğu için zarın işlevselliğini geri döndürülemez şekilde değiştirir [55].

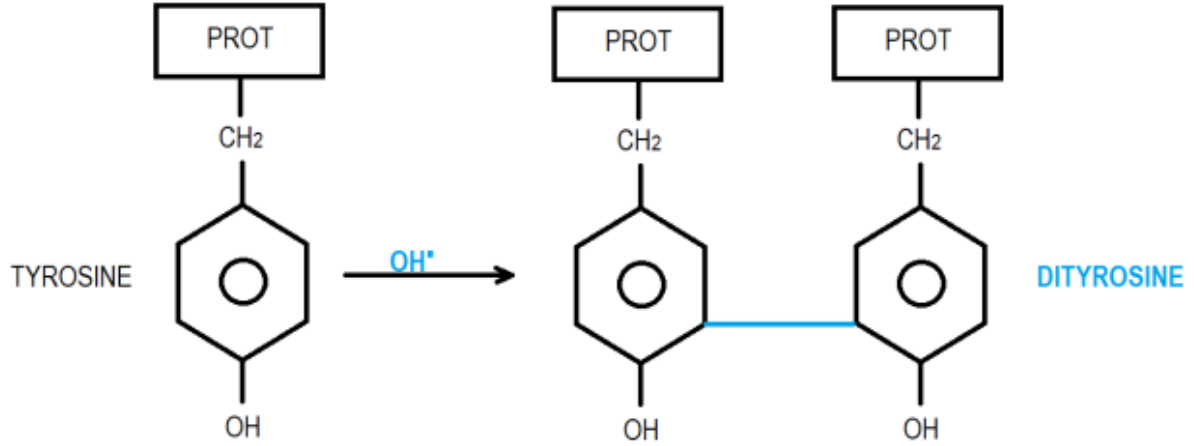


ŞEKİL 2: OH* radikalleri, bu yapıların ikili bağlarına saldırır, zincirde eşleşmemiş ve yeniden dengeye getirmek için oksijen (O2) molekülü ile tepkimeye girecek bir elektron bırakır. Bir ürün olarak peroksil radikalleri zarlarda görünür, bu da hasarı arttıracak pozitif geri dönüttür.

2.5.2 Protein oksidasyonu: direkt (RONS'lar tarafından üretilen) veya indirekt (lipid peroksidasyon ile üretilen)

Serbest radikaller, yüklerini modifiye ederek, amino asitlerin moleküler yapısının değişimine sebep olmaktadır. Bu da proteini parçalara ayırarak, polipeptit zincirinin kırılmasına sebep olur.

Peroksil radikalleri, protein içi ve proteinler arası çapraz bağlar üreten amino asitler arasında kovalent köprüler oluşturan yüksek reaktif türler olan aldehit gruplu maddelerin oluşmasını sağlar. Son olarak, proteinler yapılarını kaybeder ve agregalar oluşturur bu da proteinin doğru işlevinin azalmasına veya engellenmesine yol açar.



Şekil 3. The OH* radikalleri iki tirozin arasında geri dönüşümsüz kovalent köprü oluşturur. Ürün (dityrosin), sinyal yolağı kinazları tarafından fark edilmemiştir, yani tirozinin geçirmesi gereken bilgi kaybolmuştur. Ayrıca, bu yapı ayrıştırılamaz ve bu sebeple moleküller arası ve moleküler içi köprüler birikir.

2.5.3 Mikroorganizmaların morfolojik değişimleri.

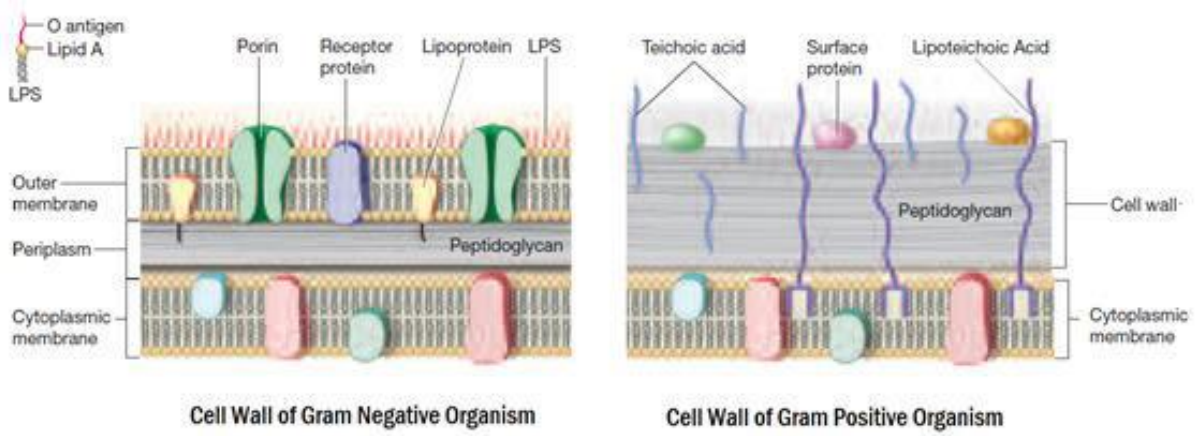
Bai ve arkadaşları tarafında yapılan çalışma. 2012 [50], mikroskopik gözlem altında OH* radikallerinin uygulanması ile *Basil* ve *B. subtilis* sporlarında morfolojik değişimlerin olduğunu doğrulamıştır.

OH* radikallerinin uygulanmasından sonra, bozulmamış çubuk ve eşit şekilde dağıtılmış sitoplazma formundaki *B. subtilis*, zarın bütünlüğünü büyük oranda kaybettiği gözlenmiştir. Diğer yandan, *Basil* spor hücrelerinin sert ve çok katmanlı dış kaplaması *basil* sporlarının, klor, alkali ve alkali-alkolamin gibi geleneksel kimyasal dezenfektanlar ile çok çabuk öldürülmesini imkansız hala getirmektedir. Ancak, OH* radikallerinin uygulanmasından sonra, *basil* sporları da parçalanmış ve yuvarlak biçimli hücreler gözden kaybolmuştur. Sonuç olarak, *basil* sporları daha yüksek yoğunlukta OH* radikallere, daha yüksek püskürtme yoğunluğuna, ve daha çok zamana ihtiyaç duymaktadır. Konsantrasyon, püskürtme yoğunluğu ve proses zamanı, OH* radikallerinin mikroorganizmalar üzerindeki yok edici etkisini sağlamak için üç önemli parametrelerdir.

OH* radikallerinin mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin , daha yüzeysel yapısına göre daha yüksek biyosidal yararlılıkta oluşunun gösterilmesi, patojenik mikroorganizmaların morfolojik karakterlerinin hücrenin dış yüzeyinden iç katmanına kadar tanınması gerektiğini göstermektedir [56,57].

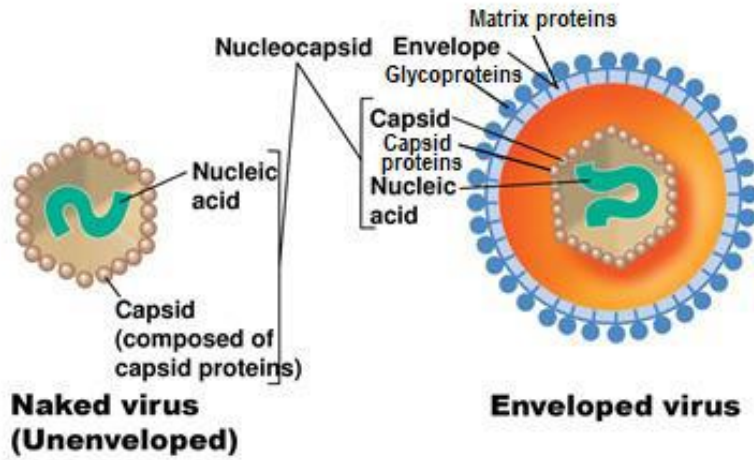
Bazı mikroorganizmalar; oksidanlar ile tepkimeye girme kapasitesi yüksek, onları nötralize eden ve oksidatif hasarlarını azaltan üç metaloenzim ailesi (FeSOD, MnSOD ve CuZnSOD) ve superoksit dismutaz (SOD) yoluyla, bu oksidatif prosesi geriye alabilmişlerdir.

MnSOD , oksijene maruz kaldıktan sonra *Escherichia coli* [58] tarafından sentezlenir ve superoksit radikallerinin varlığı ile tetiklenir. Mikrobiyal hücrelerin sitozollerinde ve periplazmik alanda (plazma zarı ve hücre duvarı arasında yer alır) SOD ve katalaz eyleme rastlanmıştır. Benzer şekilde, *Staphylococcus aureus* 'ta [59-61] katalaz solunum patlamasında ortaya çıkan ROS'a karşı koruyucu bir rol oynadığı gösterilmiştir.



Cell Wall of Gram Negative Organism

Cell Wall of Gram Positive Organism



Naked virus (Unenveloped)

Enveloped virus

ŞEKİL 4: Virüs ve bakterilerin türlerine ve morfolojilerine göre hücre zarfları. Pearson education, Inc ©2015 & laboratoryinfo.com'dan uyarlanmıştır.

Son yıllarda, farklı laboratuvarlar, harici onaylayıcılar ve üniversite araştırma merkezleri, farklı alanlarda patojen mikroorganizmaların varlığında Wadu02®'nin biyosidal etkinliğini kontrol etmek için çeşitli çalışmalar geliştirdiler.

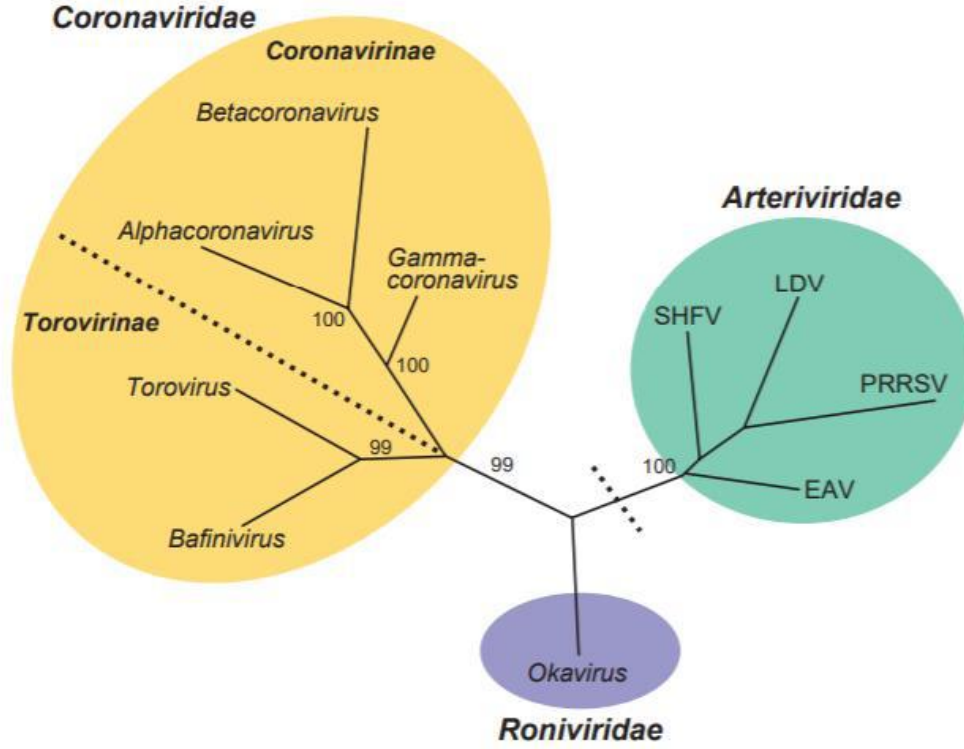
Gram + ve gram – bakteri durumunda redüksiyonun, hava ve yüzeylerde ileri oksidasyon prosesine maruz kalmada ilk bir saatte ortalama %99.9'a ulaştığını gösterebildiğimiz Tablo 1'de sonuçlar gösterilmiştir.

Sonuçlar, virüs durumunda, bağıl nem ve virüsün morfolojisi koşullarına dayanarak gözlemlenmiştir. Wadu02®'nin zarfsız virüslerdeki verimlilik sonuçları, nemli koşullardaki verimliliğin kuru ortamlara göre daha az olduğunu göstermiştir; %99 ortalamaya ulaşılmıştır. Zarflı virüslerde ise nem ileri oksidasyon prosesini daha çok kolaylaştırmış ve virüs eliminasyonu kuru ortamlara göre kolaylaşmıştır.

2.5.4 2019-nCoV kararlılığı ve dezenfektasyonu Raporu

2019-nCoV, ilk olarak Aralık 2019'da Çin'in Wuhan şehrinde tespit edilen bir korona virüs türüdür. Son haftalarda enfekte olan hasta sayısı hızlı bir şekilde artmış ve ciddi bir kamu sağlığı sorunu haline gelmiştir. Virüs, genel olarak enfekte bir hasta tarafından üretilen, solunum damlacıklarından yayılmakta ve yakınlardaki insanların ağız veya burunlarına yerleşip, ciğerlere solunmaktadır. Korona virüsler, deve, büyükbaş, kedi ve yarasalar gibi bir çok farklı hayvan türlerinde yaygın olan bir geniş bir virüs ailesidir. Hayvan korona virüsleri, insanları nadiren enfekte edip, insanlar arasında yayılırlar, MERS, SARS ve şimdi de 2019-nCoV'de olduğu gibi [62].

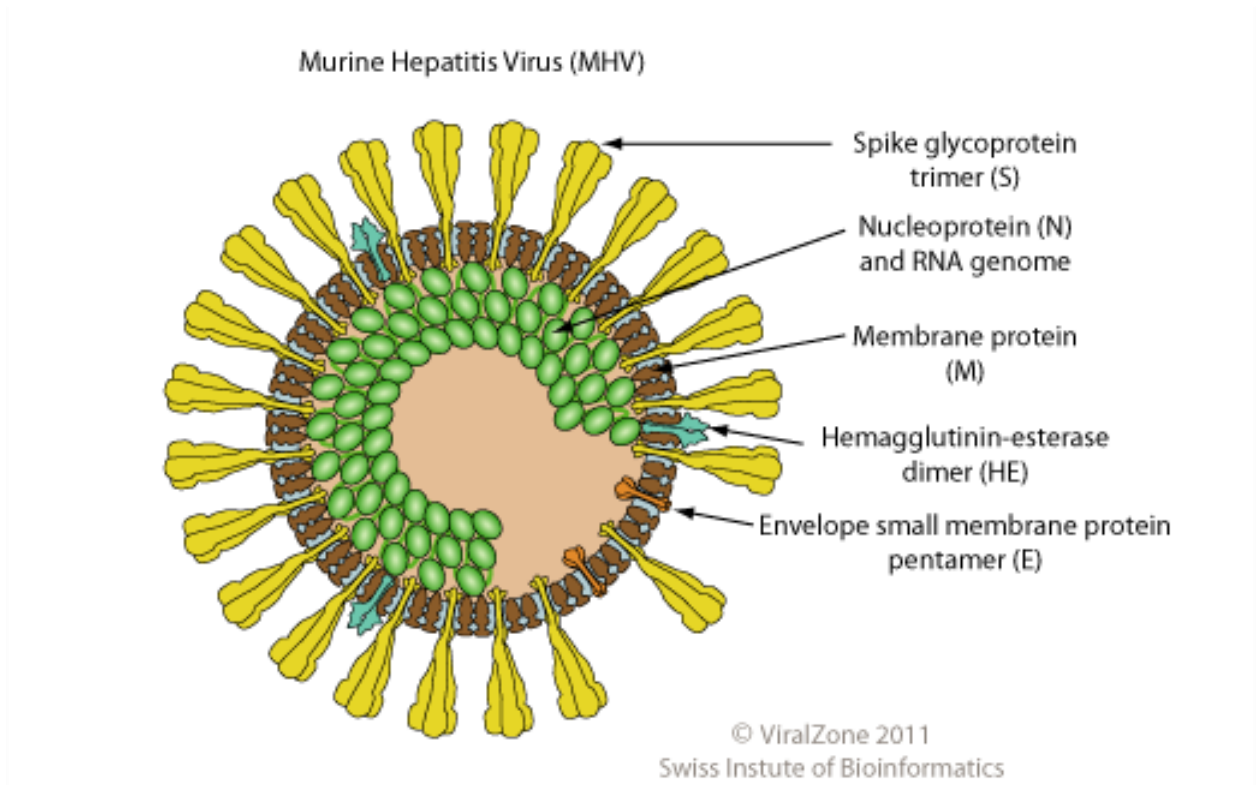
Bu yeni korona virüs, her ikisinin de kaynağı yarası olan MERS ve SARS gibi, *Betacoronavirus*, olarak sınıflandırılmıştır. Korona virüsler, *Nidovirales* düzenindeki *Coronaviridae* familyasının alt familyası olan *Coronavirinae* familyasındandır. 4 alt cins ayrılırlar; *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* ve *Gammacoronavirus* [63].



ŞEKİL 5: Nidovirus filojeni. The Nidoviral düzeni üç familyadan oluşur: Coronavirinae, Roniviridae ve Arteriviridae, Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi, 2012 ©.

Genetik materyale dayalı olarak, viral partikül yalnızca tek zincirli pozitif iplikli RNA'dan oluştuğundan, bu virüsler Baltimore sınıflandırmasında grup IV'te yer almaktadır. Bu nedenle, genetik madde kendi başına mesajcı RNA gibi hareket etmektedir, çünkü her ikisi de pozitifdir. Çevrildiğinde, RNA polimeraz ve kapsidi oluşturan farklı yapısal proteinler sentezlenir [64].

Koronavirüs'ün çapı yaklaşık 60-200 nm. Daha önce enfekte olmuş konak hücrenin zarından gelen ve glikoprotein ve yüzey antijenlerinden oluşan sarmal simetrik ve lipid kılıflı nükleokapsit içerisinde yer alır. Bu türün karakteristik çıkıntıları lipid kılıftan çıkarak solar bir korona oluşturmaktadır. Bu çıkıntılar mikroskop altında görülebilir ve familya ismini de buradan alır. Beklenilenin aksine, bir zarflarının olması, virüsün farklı faktörlere, sıcaklık, lipid solvenler, iyonik olmayan deterjanlar, formaldehidler, oksidasyon ajanları ve UV ışınımı gibi harici ajanlara duyarlı olduğunu göstermektedir.



ŞEKİL 6: Korona virüsün yapısal proteinleri (ViralZone©’dan)

Şekil 6’da görüldüğü gibi, korona virüs kapsidi aşağıdaki proteinlerden oluşur:

Spike glikoprotein(S) mikroskop altında görünen ‘corona’ (taç)’sını oluşturarak virüsün dış zarfını delerek çıkar. Fonksiyonu, hücrenin yüzeyinde bulunan proteinlere yapışmak ve onları enfekte etmektir. Bazı durumlarda, S protein, enfekte olmuş hücrenin çevre hücrelere kaynamasına sebep olabilir, bu da virüsün yayılmasını kolaylaştırır. Zarf protein (E), yeni viral partiküllerin oluşmasından ve enfekte hücrelerden ayrılmalarından sorumludur bu da virüsün difüzyonu için gereklidir. Zar protein (M) virus zarının iç kısmına bağlıdır ve zarın eğilmesini sağlar, bu da viryonların küre şeklini belirmesini sağlar. M ayrıca, virüsün RNA’sı ve N proteini tarafından oluşturulan nükleokapsid ile tepkimeye girer. Son olarak, Nükleokapsid protein (N) fosforlanmıştır ve birleşme sırasında viral genoma bağlanır.

Genetik çeşitlilikleri, kısa kuluçka süreleri ve yüksek mutasyon hızlarından dolayı tüm dünyaya yayılmış virüslerdir. Bu faktörlerin kombinasyonları, patojenin sadece insanları değil hayvanları da enfekte etmesine neden olmaktadır.

Ozonun,100ppm’nin üzerinde yoğunlukta ve yüksek nem oranında, özellikle zarflı veya zarfsız RNA virüsleri için etkili bir dezenfektasyon uygulaması olduğu bilinir [65-67]. Ancak yüksek ozon yoğunluğu, yaşanabilir çevrede birlikte yaşamak için zararlı olabilir. OH* radikalleri, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve ozon (O₃) dahil reaktif oksijen türleri (ROS)’nin bir çok mikroorganizmaların dezenfekte verimliliğini arttırdığı rapor edilmiştir [68,69].

III. SONUÇLAR

Covid-19 (RSV)’ye benzer virüslerde Wadu02® ile elde edilen sonuçlara göre, cihazın verimliliği, bağlı neme bağlı olarak ortama %99 ile % 92’ye kadar eliminasyon olmasını bekleyebiliriz.

IV. ÇIKARIMLAR

Sonuçlar, Wadu02® temizleyici tarafından üretilen ileri oksidasyon prosesinde OH* radikallerinin kullanımının geniş hava alanlarında ve yüzeylerdeki patojenik mikroorganizmaları elimine etmek için yeni, güvenli ve etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Farklı çalışmalar, ileri oksidasyon prosesinde OH* radikallerinin kullanımının, Wadu02® tarafından bir güvenlik önlemi olarak standardize edilmesinin; UOB ve formaldehid gibi asılı partiküllerin eliminasyonunda ve patojenik mikroorganizmaların kontrolünde güvenli, zararsız ve etkili olduğunu göstermektedir.

Biyosid olarak OH* radikallerinin verimliliği ile ilgili bulgular, güçlü bir oksidan olduklarının ve mikroorganizmaları geleneksel kimyasal dezenfektanların 10 bin dozuna eşit (0.8 mg/L) düşük yoğunluk ortamında elimine etme yeteneklerinin olduğunu doğruladığını göstermektedir. Püskürtme yoğunluğu- dağılımı diğer dezenfektanların binde birini temsil eden 22ml/cm²'dir. OH radikallerini işlemede yüksek reaksiyon hızı 109L/mol 4 saniyeden daha az olarak kimyasal dezenfektanların binde biridir. Son olarak, mikroskop altında gözlemlenen patojenlere verilen hasar geri çevrilemezdir.

Homeostatik durumumuzu dahili antioksidan sistemimizin doğru çalışmasına ve hava ve yüzeylerin etkili bir şekilde dezenfekte edilmesi için OH* radikallerinin kullanımının deneysel demonstrasyonuna temellendirerek, Wadu02® teknolojisinin hava ve yüzeylerde temizleme ve arındırma işlemini; insanlara güvenli, etkili ve zararsız ileri oksidasyon işlemini gerçekleştirmede başarılı olduğunu söyleyebiliriz.

TABLO 1

WADU02® LİMONİNLİ BİYOSİD VERİMLİLİK TESTİ SONUÇLARI

PATOJEN	YAYILMA ORTAMI	MARUZ KALMA	ETKİLİLİK %	BELGELENEN TEST
Bacillus subtilis (Gram +)	Yüzey	1 saat	99,4	Bacillus, Esch, Staph - KNU
	Hava	20 dakika	99,6	Bacillus, Esch, Staph - KNU
Staphylococcus aureus (Gram +)	Yüzey	1 saat	52,3	Bacillus, Esch, Staph - KNU
	Yüzey	4 saat	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
	Hava	1 saat	99,9	Bacillus, Esch, Staph - KNU
Dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) (Dirençli Gram +)	Yüzey	4 saat	99,9	Salm, Kleb, MRSA - KCL
	Hava	4 saat	99,9	MRSA - KCL
Pseudomonas aeruginosa (Gram -)	Yüzey	4 saat	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
Enterobakter türleri : Salmonella (Gram -)	Yüzey	4 saat	99,9	Salm, Kleb, MRSA - KCL
Enterobakter türleri: Klebsiella (Gram -)	Yüzey	4 saat	99,9	Salm, Kleb, MRSA - KCL
	Hava	4 saat	99,9	Klebsiella - KCL

Enterobakter türleri: Escherichia coli (Gram -)	<i>Yüzey</i>	<i>1 saat</i>	<i>99,9</i>	<i>Bacillus, Esch, Staph - KNU</i>
	<i>Yüzey</i>	<i>4 saat</i>	<i>99,9</i>	<i>Esch, Pseudo, Staphy- KCL</i>
	<i>Hava</i>	<i>20 dakika</i>	<i>99,9</i>	<i>Bacillus, Esch, Staph - KNU</i>
Influenza virüsü (Zarflı)	<i>Nemli</i>	<i>30 dakika</i>	<i>86</i>	<i>Influenza A - UB</i>
	<i>Kuru</i>	<i>30 dakika</i>	<i>38</i>	<i>Influenza A - UB</i>
VRS - respiratuar sınırsız virüs (Zarflı)	<i>Nemli</i>	<i>2 saat</i>	<i>99</i>	<i>VRS - UB</i>
	<i>Kuru</i>	<i>2 saat</i>	<i>92</i>	<i>VRS - UB</i>
<i>Rotavirus (çiplak)</i>	<i>Nemli</i>	<i>2 saat</i>	<i>37</i>	<i>RoV - UB</i>
	<i>Kuru</i>	<i>2 saat</i>	<i>99</i>	<i>RoV - UB</i>