

# Dowody na właściwości odkażające rodników OH• w dezynfekcji powietrza i powierzchni w pomieszczeniach w sposób nieszkodliwy dla ludzi

Martínez Vimbert R<sup>1,2</sup>, Arañó Loyo M<sup>1,2</sup>, Custodio Sánchez D<sup>2</sup>, Garcia Raurich J<sup>3</sup>, Monagas Asensio P<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Emovere Natura, Biomedical Research Communications

<sup>2</sup>e-SHealth, Consulting health care, Parc Científic Universitari Tecno Campus Mataró

<sup>3</sup>Centre de Recerca en Seguretat i Control Alimentari, de la UPC (CRESCA)

**Abstrakt** – Rozwój społeczeństwa ludzkiego na całym świecie spowodował bardzo poważne szkody dla środowiska, które zagrażają zdrowiu człowieka i przetrwaniu roślin i zwierząt wskutek zwiększonego występowania chorób zakaźnych.

Świadomość tego faktu doprowadziła do opracowania zaawansowanej, nieszkodliwej dla środowiska metody eliminacji chorobotwórczych drobnoustrojów i lotnych związków organicznych (LZO) w dużych przestrzeniach powietrza i na powierzchniach. Zaawansowane procesy utleniania (AOP) oparte na rodnikach hydroksylowych (OH•) w odpowiednich stężeniach działają biobójczo na drobnoustroje chorobotwórcze i rozkładają unoszące się w powietrzu związki organiczne do form mineralnych nieszkodliwych związków organicznych.

Technologia ta jest uznawana za czystą i bezpieczną, która najczęściej odbywa się przy użyciu promieniowania słonecznego będącego czynnikiem inicjującym proces z fotokatalizatorem. Problemem przedstawionym w metodach fotokatalizy jest jej niska prędkość, wytwarzanie trujących związków pośrednich rozkładu, dezaktywacja materiału i obecność promieniowania UV.

Zwiększone rozprzestrzenianie się w powietrzu drobnoustrojów chorobotwórczych wzbudziło poważne obawy dotyczące zagrożenia dla bezpieczeństwa środowiskowego. Jednakże brakuje skutecznej metody szybkiego usuwania tych szkodliwych drobnoustrojów w dużej przestrzeni powietrza. W porównaniu z konwencjonalnymi środkami odkażającymi procesy utleniania oparte na rodnikach OH• mają doskonałe zalety.

**Słowa kluczowe** – zaawansowany proces utleniania (AOP), odkażanie, rodniki hydroksylowe (OH•), choroby zakaźne, ozon, terpeny, LZO.

## I. WPROWADZENIE

Rozwój społeczeństwa ludzkiego na całym świecie spowodował bardzo poważne szkody dla środowiska, które zagrażają zdrowiu człowieka i przetrwaniu roślin i zwierząt wskutek zwiększonego występowania chorób zakaźnych.

W atmosferze nie występują rodzime drobnoustroje, ale stanowi ona szybki i globalny ośrodek ich rozprzestrzeniania się. W historii aerobiologii wykazano do końca ubiegłego wieku fundamentalną rolę, jaką zanieczyszczenie powietrza oddechowego odgrywa w rozwoju epidemii takich chorób, jak cholera, grypa czy legionelloza [1]. Takie zanieczyszczenie powietrza w połączeniu z łatwością przemieszczania się ludzi na całym świecie spowodowało powstanie w nowym stuleciu niezwykle poważnych zespołów niewydolności oddechowej.

Między listopadem 2002 r. a lipcem 2003 r. ciężki ostry zespół oddechowy (SARS) szybko rozprzestrzenił się z Chin do 37 innych krajów na całym świecie, powodując 775 zgonów wśród ludzi przy stratach ekonomicznych w wysokości 40 mld USD [2].

Na początku 2009 r. nowy szczep wirusa H1N1 pochodzącego od świń rozprzestrzenił się z Meksyku na cały świat. Rozprzestrzenienie się wirusa H1N1 spowodowało ogłoszenie przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) pandemii grypy, która na początku 2010 r. spowodowała śmierć około 17 000 ludzi [3].

W 2012 r. pojawił się nowy koronawirus, MERS-CoV (koronawirus bliskowschodniego zespołu oddechowego). Pojawienie się wirusów SARS-CoV w 2002 r. i MERS-CoV w 2012 r. zmieniło sposób postrzegania rodziny *Coronaviridae*, ponieważ powodowane przez nie choroby zapalenia płuc (SARS i MERS) mają śmiertelność w wysokości odpowiednio 10% i 30%, które są wyższe w porównaniu z resztą wirusów w tej rodzinie [4].

Po 17 latach, w grudniu 2019 r., w mieście Wuhan w prowincji Hubei w Chinach pojawił się trzeci nowy koronawirus o nazwie SARS-CoV-2 (koronawirus 2 ciężkiego ostrego zespołu oddechowego) [5]. W lutym 2020 r. WHO nazwała chorobę wywołaną przez ten wirus COVID-19 i ogłosiła jej pandemię. Stąd bardzo ważną kwestią jest opracowanie szybkiej i skutecznej metody usuwania chorobotwórczych drobnoustrojów w dużych przestrzeniach powietrza.

Świadomość tego faktu doprowadziła do opracowania zaawansowanej, nieszkodliwej dla środowiska metody eliminacji chorobotwórczych drobnoustrojów i lotnych związków organicznych (LZO) na powierzchniach przedmiotów i w dużych przestrzeniach powietrza.

Zaawansowane procesy utleniania oparte na rodnikach hydroksylowych ( $\text{OH}^\bullet$ ) w odpowiednich stężeniach działają biobójczo na drobnoustroje chorobotwórcze i rozkładają unoszące się w powietrzu związki organiczne do form mineralnych nieszkodliwych związków organicznych [6].

Wyniki różnych badań wskazują, że rodniki  $\text{OH}^\bullet$  szybko niszczą różne drobnoustroje przy stężeniu 0,8 mg/li gęstości rozpylonej  $21 \mu\text{l}/\text{m}^2$  w przeciągu 4 s [7]. Istotne zmiany morfologiczne komórek w drobnoustrojach chorobotwórczych obserwuje się również pod mikroskopem w przypadku wystawienia ich na dawkę śmiertelną rodników  $\text{OH}^\bullet$ .

Technologia ta jest uznawana za czystą i bezpieczną, która najczęściej odbywa się przy użyciu promieniowania słonecznego będącego czynnikiem inicjującym proces z fotokatalizatorem. Problemem przedstawionym w metodach fotokatalizy jest jej niska prędkość, wytwarzanie trujących związków pośrednich rozkładu, dezaktywacja materiału i obecność promieniowania UV.

Zwiększone rozprzestrzenianie się w powietrzu drobnoustrojów chorobotwórczych wzbudziło poważne obawy dotyczące zagrożenia dla bezpieczeństwa środowiskowego. Jednakże brakuje skutecznej metody szybkiego usuwania tych szkodliwych drobnoustrojów w dużej przestrzeni powietrza. W porównaniu z konwencjonalnymi środkami odkażającymi procesy utleniania oparte na rodnikach  $\text{OH}^\bullet$  mają doskonałe zalety.

Obecnie środki na bazie chloru, alkaliów i związków alkaliczno-alkoholowo-aminowych stanowią trzy główne rodzaje chemicznych środków odkażających, które znajdują szerokie zastosowanie w usuwaniu zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Mają one jednak pewne wady. Chemiczne środki odkażające wyłącznie selektywnie eliminują jeden lub podobny rodzaj drobnoustrojów chorobotwórczych; ich czas stosowania jest długi, w zakresie 0,5–1 godziny ze względu na niską szybkość reakcji chemicznej i bardzo wysoką śmiertelną wartość dawkowania, która może osiągać 9% obj.; pozostałe związki pośrednie chloru wiążą się z poważnymi wtórnymi zanieczyszczeniami. Ponadto ich działanie biobójcze ogranicza się wyłącznie do powierzchni przedmiotów, co uniemożliwia ich stosowanie w dużej przestrzeni powietrza [8, 9].

W porównaniu z poprzednimi chemicznymi środkami odkażającymi zaawansowana technologia utleniania oparta na rodnikach  $\text{OH}^\bullet$  ma kilka zalet: 1) Brak selektywności, ponieważ może ona eliminować wszelkie drobnoustroje chorobotwórcze w niskich dawkach śmiertelnych ze względu na ich silny charakter utleniający, o potencjale utleniania 2,8 V, nieco mniejszy od fluoru (3,03 V). 2) Czas eliminacji przez rodniki  $\text{OH}^\bullet$  jest bardzo krótki, wynoszący kilka sekund, ponieważ czas reakcji rodników  $\text{OH}^\bullet$  wynosi powyżej  $10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , czyli jest  $10^7$  razy większy od innych środków utleniających, np.  $\text{O}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Cl}_2$  itp. 3) Rodniki  $\text{OH}^\bullet$  są ekologicznymi środkami utleniającymi, gdyż rozkładają się do  $\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{O}_2$  i nie zostawiają resztkowych utleniaczy po przeprowadzeniu reakcji biochemicznych [10, 11].

## II. MATERIAŁY I METODY

### 2.1 Powstawanie rodników $\text{OH}^\bullet$

Tlen stanowi niezbędną cząsteczkę dla życia, ale ze względu na wysoką reaktywność staje się również trującym pierwiastkiem, co powoduje tzw. paradoks tlenowy. Tlen w zasadzie jest cząsteczką utleniającą. Następujące stężenia substancji zanieczyszczających występują na ogół w „czystym” powietrzu zewnętrznym (bez źródeł zanieczyszczeń): dwutlenek węgla 320 ppm; ozon 0,02 ppm; tlenek węgla 0,12 ppm; tlenek azotu 0,003 ppm; i dwutlenek azotu 0,001 ppm. Jednakże wartości te znacznie wzrastają w powietrzu miejskim [12].

Rodnik  $\text{OH}^\bullet$  jest najważniejszym naturalnym utleniaczem w chemii troposferycznej, często nazywanym „detergentem występującym w atmosferze”, ponieważ wchodzi w reakcje z wieloma substancjami zanieczyszczającymi, rozpoczynając w ten sposób proces ich oczyszczenia. Odgrywa również ważną rolę w usuwaniu gazów cieplarnianych, takich jak dwutlenek węgla, metan czy ozon. Stosowanie zaawansowanych procesów utleniania (AOP) stanowi atrakcyjną metodę między innymi dla tego, że substancja zanieczyszczająca zostaje zniszczona, a nie koncentruje się czy przenosi do środowiska. Osiąga się całkowitą lub niemal całkowitą mineralizację zanieczyszczeń organicznych. Dlatego można je stosować w eliminacji zdecydowanej większości związków organicznych, zwłaszcza związków niebiodegradowalnych, takich jak substancje chloroorganiczne, polichlorowane bifenyle (PCB), wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA lub PAH) itp. Jest to czysta i bezpieczna technologia, a w niektórych procesach inicjatorem reakcji może być promieniowanie słoneczne.

Głównym problemem szybkiego eliminowania drobnoustrojów chorobotwórczych w dużych przestrzeniach powietrza jest wytwarzanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  w wysokim stężeniu i w odpowiedniej ilości. Obecnie głównymi metodami są kataliza Fentona, fotokataliza i ozon, a także ich połączone działanie [13–17]. Jednakże technologie te mają poważne wady: 1) tempo wytwarzania rodników  $\text{OH}^\bullet$  jest niskie i powstają w niskim stężeniu, przez co cały czas reakcji biochemicznej jest długi, w zakresie 15–360 min; 2) wyżej wymienione technologie są stosowane tylko do eksperymentów lub zastosowań na małą skalę; 3) do wytwarzania rodników  $\text{OH}^\bullet$  wymagana jest duża liczba odczynników chemicznych, takich jak  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{TiO}_2$  lub  $\text{Fe}^{2+}$ , co zwiększa koszty i stanowi problem bezpieczeństwa; 4) w celu zwiększenia wytwarzania rodników  $\text{OH}^\bullet$  łączy się kilka rodzajów technologii, co wymaga zastosowania wielkogabarytowego wyposażenia, takiego jak kolumna barbotująca lub reaktor z obrotowym złożem nieruchomym.

W poprzednich badaniach zgłoszono produkcję dużej liczby rodników  $\text{OH}^\bullet$  poprzez jonizację i dysocjację  $\text{O}_2$  w powietrzu i  $\text{H}_2\text{O}$  w stanie gazowym przy użyciu fizycznej metody wyładowania silnego pola elektrycznego. W ten sposób z powodzeniem użyto rodników  $\text{OH}^\bullet$  do oczyszczania wody balastowej w stawkach i czerwonego zakwitu w oceanach [18, 19].

Tlenek tytanu jest obecnym materiałem odniesienia jako materiał do fotokatalizy ze względu na wysoką aktywność, względną stabilność, niski koszt i niską toksyczność. Jednakże wciąż należy rozwiązać pewne problemy, takie jak niski stopień fotokatalizy, wytwarzanie szkodliwych związków pośrednich rozkładu, dezaktywacja materiału i działanie promieniowania UV, ponieważ przerwa energetyczna nie jest powiązana ze światłem słonecznym [20].

## 2.2 Opracowanie nowego zaawansowanego procesu utleniania do odkażania powietrza i powierzchni

W przypadku opisanego scenariusza wyzwaniem dla bezpiecznego i skutecznego rozwoju technologicznego jest odkażanie powietrza i powierzchni przedmiotów. Cel technologiczny opiera się na kamieniu milowym, jakim jest opracowanie metody zdolnej wytwarzania rodników  $\text{OH}^\bullet$  w wystarczających ilościach za pomocą innowacyjnego systemu, zapewniającego ich skuteczność i bezpieczeństwo dla ludzi. System Wadu02® to urządzenie, w którym występują reaktywne formy tlenu (RFT, ang. ROS), takie jak nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) lub terpeny, np. d-limonen, oraz które odparowują i reagują z wewnętrzną emisją ozonu poniżej stężenia o wartości 0,05 ppm ( $0,1 \text{ mg/m}^3$ ). Tę wartość graniczną narażenia na działanie ozonu ustanowiono w rozporządzeniach wydanych przez WHO dotyczących dopuszczalnych wartości narażenia środowiskowego z 2000 r. dla ogółu społeczeństwa w przypadku czasu narażenia do 8 godzin [21] uznaje się za międzynarodowy punkt odniesienia bezpieczeństwa emisji ozonu w celu uzyskania stałego i nieszkodliwego wytwarzania rodników  $\text{OH}^\bullet$ .

Emisję ozonu przez urządzenie Wadu02® określono poprzez badanie domowych elektrostatycznych oczyszczaczy powietrza w zewnętrznym laboratorium [22] zgodnie z normą dotyczącą elektrostatycznych środków oczyszczających powietrze, SUN – UL 867 i przebadano za pomocą kalibratora i analizatora ozonu Teledyne w temperaturze i wilgotności sterowanej przetwornikiem i przepływomierzem Vaisala. Emisja ozonu przez urządzenie Wadu02® została stwierdzona w trybie aktywnym i nocnym w parametrach poniżej 0,02 ppm (odpowiednio 0,012–0,015 ppm bez filtrów i 0,015–0,016 ppm z filtrami). Wyniki były niższe niż wszystkie normy międzynarodowe dotyczące bezpieczeństwa w odniesieniu do długotrwałego czasu narażenia na działanie ozonu.

Wytwarzanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  poprzez utlenianie  $\text{H}_2\text{O}_2$  oceniano w kontrolowanych warunkach zgodnie z działaniem utleniającym urządzenia Wadu02® i porównano je z nadtlenkiem wodoru w stanie ciekłym w zakresach czystości od 0,25% do 0,75%, wspomaganym reakcją kolorymetryczną wykonaną na papierkach wskaźnikowych z jodkiem potasu. Wyniki wskazują, że średnia zdolność utleniania  $\text{H}_2\text{O}_2$  przy czystości 0,5% odpowiada zdolności utleniania oferowanej przez urządzenie Wadu02® przy maksymalnej produkcji w wysokości  $0,9 \text{ mg/m}^3$  (0,64 ppm), co stanowi około 64,2% aktualnej najwyższej dopuszczalnej wartości narażenia w miejscu pracy (WEL) skorygowanej do  $1,4 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm) [23, 24].

Stężenie graniczne dla ostrego działania drażniącego nadtlenu wodoru w postaci gazowej w drogach oddechowych wynosi  $10 \text{ mg/m}^3$  (co odpowiada 7 ppm) u ludzi, podczas gdy odpowiednia wartość dla skóry wynosi  $20 \text{ mg/m}^3$ . Jeśli chodzi o długotrwałe narażenie, nie stwierdzono, aby nadtlenek wodoru powodował działanie teratogenne lub rakotwórcze u ludzi. Nie zaobserwowano również działania mutagennego lub chromosomalnego.

Jako alternatywę dla wysokiej naturalnej reaktywności nadtlenu wodoru sprawdzono również zastąpienie za wartości wklądu eterycznymi wyciągami aromatycznymi z kwiatów i roślin ze względu na działanie biobójcze terpenów, które odzwierciedla się we właściwościach antywirusowych i przeciwbakteryjnych. Proces zaawansowanego utleniania przeanalizowano w tych samych warunkach niskiej emisji ozonu (poniżej 0,02 ppm) z modelem Wadu02®, aby porównać je z udowodnioną skutecznością nadtlenu wodoru.

Limonen jest jednym z najbardziej obficie występujących monoterpenów w przyrodzie i znajduje się w olejkach eterycznych uzyskiwanych ze skórek owoców cytrusowych, w tym w olejkach eterycznych z pomarańczy i mandarynki. Monoterpen ten jest podatny na utlenianie, który wytwarza związki o wyższej wartości dodanej [25].

Terpeny są węglowodorami obecnymi w olejkach eterycznych, które składają się z więcej niż jednej jednostki izoprenoowej z pięcioma atomami węgla. Monoterpeny, większość terpenów, wraz z seskwiterpenami i diterpenami, stanowią większość olejków eterycznych. Ze względu na niską masę cząsteczkową i wysoką lotność monoterpenów i seskwiterpenów w stosowanie olejków eterycznych w pomieszczeniach może zwiększyć poziom lotnych związków organicznych (LZO) [26].

Terpeny zawierają jedno lub więcej podwójnych wiązań  $\text{C}=\text{C}$ , które łatwo oddziałują z silnymi utleniaczami, takimi jak ozon, rodniki hydroksylowe [27–29] i rodniki azotanowe. Ozon jest powszechnym związkiem zanieczyszczającym obecnym w pomieszczeniach, którego ogólne poziomy utrzymują się w przybliżeniu między 20 a 40 ppb [30, 31]. Eksploatacja maszyn biurowych, takich jak kserokopiarki, drukarki i faksy, również podnosi stężenie ozonu w przestrzeniach zamkniętych [32]. LZO emitowane przez odparowanie produktów na bazie terpeny w pomieszczeniach mogą wchodzić w reakcje z ozonem i wytwarzać wtórne zanieczyszczenia powietrza, głównie formaldehyd i zawieszane cząstki stałe [33–37]. Wtórne aerozole organiczne wytwarzane w wyniku oddziaływania wzajemnego terpenów i ozonu składają się z drobnych i skrajnie drobnych cząstek [38–40].

W rezultacie wcześniejsze oceny całkowitego zużycia limonenu przeprowadzono na urządzeniu Wadu02® w celu uzyskania kontrolowanego i bezpiecznego odparowania.

Całkowite zużycie d-limonenu w produktach Wadu02® ustalono na wartość rzędu 0,4 g/24 h. W przypadku normalnego działania tego urządzenia i średniego czasu odparowania wedle pomiarów zarejestrowanych w laboratorium wyroby Wadu02® emitują chmurę zawierającą d-limonen o stężeniu około 1,84 ppm, co w przypadku pomieszczenia o powierzchni 60 m<sup>2</sup> (objętości 180 m<sup>3</sup>) może prowadzić do maksymalnego stężenia o wartości poniżej 2 ppb. Stężenie to jest znacznie niższe niż dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego (OEL) obowiązujące w Szwecji czy Niemczech [41], które wynoszą odpowiednio 27 ppm i 10 ppb.

### 2.3 Toksykologia

Do oceny i analizy ilości formaldehydu, który może powstać bezpośrednio wskutek reakcji ozonu z jednostkami strukturalnymi wiązań C=C, wzięto pod uwagę sprawozdania wskazujące, że proporcje formaldehydu powstałego przez ten mechanizm podczas reakcji wywołanych ozonem z terpenami stanowią jedynie niewielki procent reakcji z ozonem [33, 34].

Główny mechanizm powstawania formaldehydu rozpoczyna się reakcją ozonu z grupą funkcyjną C=C, co powoduje powstanie ozonku. Następnie ozonok rozpada się na karbonyli bogaty w energię półprodukt Criegee (dwurodnik). Oba produkty uczestniczą w różnych dodatkowych reakcjach utleniania, przez co powstają wysoce reaktywne formy, takie jak rodniki hydroksylowe i stabilne produkty. Tymi stabilnymi produktami mogą być ketony i kwasy karboksylowe, gdy proces miał miejsce w środowisku utleniającym, lub aldehydy i ketony, gdy proces miał miejsce w środowisku odtleniającym.

Podczas reakcji fazy gazowej ozonu z terpenami zaobserwowano powstawanie stabilnych karbonyłów o niskiej masie cząsteczkowej, w tym formaldehydu, acetaldehydu, acetonu i aldehydu propionowego [31, 33, 36]. Reaktywne rodniki i hydroksylowe powstałe w wyniku reakcji ozonu z terpenami odegrały kluczową rolę w powstaniu formaldehydu w pomieszczeniach.

W kilku badaniach wskazano, że stężenia rodników OH• wewnątrz pomieszczeń, które powstały w wyniku reakcji ozonu ze związkami nienasyconymi, były wyższe niż na zewnątrz w południe lub w nocy [42–44]. Rodniki OH• odpowiadały za 56–70% formaldehydu obecnego w pomieszczeniach w reakcjach między ozonem a 23 LZO oraz ozonem a terpenami [45]. Dlatego nowym celem osignięcia bezpieczeństwa jest zbadanie reakcji rodników OH• za pomocą terpenów oraz możliwy wpływ na osignięcie wysokich poziomów formaldehydu w pomieszczeniach i na jakość powietrza w pomieszczeniach [46].

### 2.4 Próba bezpieczeństwa

Po sprawdzeniu, czy całkowite zużycie limonenu i nadtlenu wodoru nie przekracza wartości uznawanych za teratogenne i rakotwórcze dla ludzi oraz czy emisja ozonu jest niższa od wartości określonych w rozporządzeniach międzynarodowych, sprawdzono skuteczność redukcji formaldehydu. Zaawansowane utlenianie limonenu za pomocą urządzenia Wadu02® zbadano za pomocą metody opisanej w SPS-KACA002-132:2016 w warunkach kontrolowanej temperatury i wilgotności (21 ± 1°C) (45 ± 5% RH) z d-limonenem we wkładzie i z d-limonenem w żelu [47]. Wyniki wskazują, że redukcja formaldehydu w reakcjach ozonolizy przy emisjach poniżej 0,020 ppm oraz przy niskich stężeniach d-limonenu z szybkością odparowania 0,4 g/24 h równoważnym 1,84 ppm jest znacząca i osiąga wartości 19% dla żelu i 41% dla wkładu z limonemem w postaci płynnej.

Wyniki te pokazują, że pomimo wysokiej reaktywności d-limonenu z ozonem, który to proces wytwarza formaldehyd, kontrolowana emisja ozonu poniżej 0,02 ppm i odparowanie limonenu poniżej 2 ppb w przestrzeni 60 m<sup>2</sup> jest bezpieczną i nieszkodliwą reakcją.

Aby potwierdzić tę hipotezę, przeprowadzono szereg badań eksperymentalnych w celu określenia redukcji cząstek i związków zanieczyszczających powietrze emitowanych w trakcie spalania kadzidełka podczas 2 godzin ekspozycji na oczyszczacz powietrza Wadu02® przy użyciu wkładów wypełnionych d-limonemem i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w komorze z regulacją o objętości 225,72 m<sup>3</sup> (6,6 × 6 × 5,7 m) [48].

Przeprowadzono pięć pomiarów jakości powietrza w różnych warunkach. Pierwszy odczyt przeprowadzono przy początkowej jakości powietrza w pomieszczeniu, bez ekspozycji na działanie kadzidełka lub oczyszczaczy powietrza. Drugi odczyt przeprowadzono po 2 godzinach, gdy wypaliła się połowa kadzidełka. Trzeci odczyt przeprowadzono po osignięciu wstępnej jakości powietrza i wypaleniu połowy kadzidełka w obecności oczyszczacza powietrza z wkładem z nadtlakiem wodoru przez dwie godziny. Czwarty odczyt przeprowadzono w takich samych warunkach co trzeci, ale w tym przypadku z oczyszczaczem powietrza z wkładem z d-limonemem. Piąty odczyt przeprowadzono w takich samych warunkach co trzeci i czwarty pomiar, ale tym razem w obecności obu oczyszczaczy powietrza (wkłady z d-limonemem i nadtlakiem wodoru).



ANG.	POL
Indoor Clean Air	Czyste powietrze w pomieszczeniu
TVOC	LZO
Polluted Indoor Air	Zanieczyszczone powietrze w pomieszczeniu
Control	Kontrolne
d-limonene	d-limonen
Hydrogen peroxide	Nadtlenek wodoru
Recommended value	Zalecana wartość

**RYSUNEK 1. Wartości jakości powietrza przed zanieczyszczeniem pomieszczenia spalaniem kadzidelka i po nim. Porównanie bezpieczeństwa i skuteczności urządzenia Wellis w eliminacji LZO i formaldehydu przy użyciu nadtlenku wodoru i limonenu.**

Z badania wynika, że w tych warunkach spalanie kadzidelka skutkuje uzyskaniem złej jakości powietrza średnio w przeciągu 30 minut po rozpoczęciu spalania z tendencją do uregulowania jej po godzinie. Powrót do warunków początkowych nastąpił po dwóch godzinach, ponieważ emitowane cząstki rozproszyły się w przestrzeni powietrza w pomieszczeniu. Jednakże odczyty dla formaldehydu i LZO są wyższe niż odczyt kontrolny, co odzwierciedla ryzyko długotrwałego narażenia.

Wyniki uzyskane w obecności oczyszczacza Wadu02® niezależnie od wartości wkładu (d-limonene lub H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) za chowują początkową jakość powietrza od pierwszych 30 minut ekspozycji, co oznacza znaczne zmniejszenie wartości obecnych cząstek, formaldehydu i LZO. Skuteczność w zakresie redukcji formaldehydu i LZO w zależności od zastosowania d-limonenu lub H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do przeprowadzenia emisji rodników OH• nie jest istotna, choć H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> przedstawia bardziej efektywne wartości.

Pozwala to wyprowadzić wniosek, że działanie oczyszczacza powietrza Wadu02® na podstawie emisji ozonu w niskich stężeniach (< 20 ppb) oraz odparowanie znormalizowanych ilości d-limonenu lub H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> z wkładu (w wyniku zaawansowanego procesu utleniania) jest bezpieczne, nieszkodliwe i skuteczne w redukcji cząstek zawieszonych, LZO i formaldehydu.

## 2.5 Zastosowanie rodników OH• jako środka biobójczego o szerokim zakresie stosowania

Wolne rodniki i jony powodują nieodwracalne zmiany w makrocząsteczkach (białkach, błonach i DNA) w wyniku ruchu elektronów, co powoduje szkodliwe działanie. Reaktywne formy tlenu i azotu (RONS) są najbardziej niestabilne i reaktywne, co oznacza, że jako pierwsze reagują z innymi substancjami. W ramach tej grupy rodniki OH• są formą o krótszym okresie półtrwania ze względu na wysoką reaktywność, a zatem są najbardziej niebezpieczne [49].

Zbadano skuteczność stężenia rodników OH• w eliminacji drobnoustrojów chorobotwórczych. W warunkach gęstości rozpylenia 21 µl/cm<sup>2</sup> i w czasie działania 4 s odnotowano drastyczny spadek liczby ocalałych komórek dla bakterii *S. Marcescens* w stężeniach nieco powyżej 0,15 mg/l i prawie w całości w stężeniach 0,41 mg/l. W przypadku bakterii *B. Subtilis* poziomy te były praktycznie niewykrywalne w stężeniach 0,5 mg/l, podczas gdy dla zarodników *bacillus* znaczącą redukcję odnotowano przy poziomie 0,3 mg/l i była praktycznie całkowita przy maksymalnych stężeniach 0,8 mg/l [50].

Działanie biobójcze rodników OH• jest oparte na zaawansowanym procesie utleniania, mechanizmie stresu komórkowego zainicjowanym przez „wybuch tlenowy” (podobny do mitochondriального) i zwiększonym przez kaskadę reakcji poprzez uwalnianie reaktywnych form tlenu [51, 52], takich jak nadtlenek wodoru, który może przechodzić przez błony biologiczne, oraz jon podchlorynu, który modyfikuje i rozkłada wszystkie cząsteczki biologiczne.

Główne skutki tych form reaktywnych występują na błonach, lipidach i wiązaniach sulfhydrylowych białek i nukleotydów DNA [53], co powoduje:

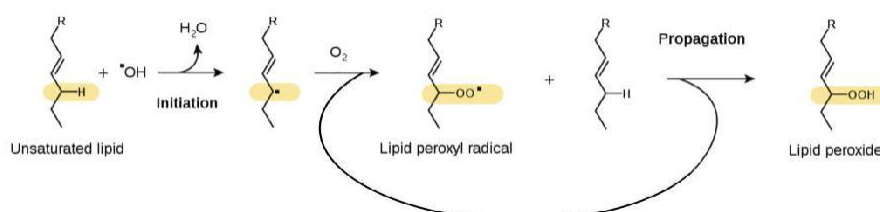
- peroksydację lipidów, której wynikiem nadtlenki rozpoczynają katalityczną reakcję łańcuchową prowadzącą do dalszej utraty nienasyconych kwasów tłuszczowych i rozległego uszkodzenia błony;
- wytwarzanie powiązań krzyżowych między białkami poprzez tworzenie wiązań dwusiarczkowych;
- mutacje w materiale genetycznym drobnoustrojów chorobotwórczych.

Podczas procesu utleniania komórkowego nienasycone łańcuchy są łatwo atakowane przez rodniki OH•. Peroksydacja kwasów tłuszczowych w błonach wytwarza rodniki peroksydacyjne (ROO•), co zmniejsza ich funkcjonalność. Rodniki te mają niższą reaktywność niż rodniki OH•, a zatem ich okres półtrwania jest nieco dłuższy.

Obecność uszkodzeń komórek spowodowanych stresem oksydacyjnym wywołuje reakcję antyoksydacyjną w komórce: starają się przekazywać elektrony z jednego związku do drugiego do momentu, aż rodniki staną się nieaktywne i zostanie przywrócona równowaga. Z drugiej strony reakcje te mogą powodować kaskady rozprzestrzeniania się uszkodzenia [54].

### 2.5.1 Utlenianie lipidów

Membrany biologiczne składają się z nienasyconych łańcuchów kwasów tłuszczowych i łatwo utleniają się. Rodniki  $\text{OH}^\bullet$  atakują podwójne wiązania tych struktur i pozostawiają niesparowany elektron w łańcuchu, który wiąże się z cząsteczką tlenu w celu ponownej stabilizacji, co prowadzi do powstania rodnika nadtlenkowego (inaczej zwany rodnikiem peroksydowym). Obecność rodników nadtlenkowych zmienia nieodwracalnie funkcjonalność błony, ponieważ zmienia się jej rozkład przestrzenny, co powoduje niestabilność [55].



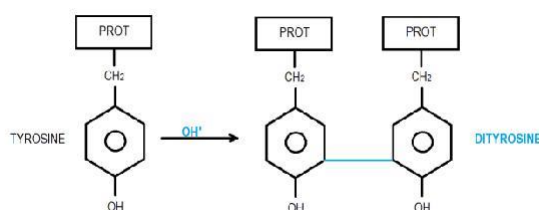
ANG.	POL.
Unsaturated lipid	Lipid nienasycony
Initiation	Inicjacja
Lipid peroxy radical	Rodnik nadtlenkowy lipidu
Propagation	Propagacja
Lipid peroxide	Nadtlenek lipidu

**RYSUNEK 2: Rodniki  $\text{OH}^\bullet$  atakują wiązania tych struktur i tworzą łańcuch z niesparowanym elektronem, który wchodzi w reakcję z cząsteczką tlenu ( $\text{O}_2$ ) w celu ponownej stabilizacji. Rodniki nadtlenkowe występują w błonie jako produkt i powodują sprzężenie zwrotne dodatnie, zwiększając szkody.**

### 2.5.2 Utlenianie białek: bezpośrednie (wytwarzane przez RONS) lub pośrednie (wytwarzane przez peroksydację lipidów)

Wolne rodniki powodują zmiany w strukturze cząsteczkowej aminokwasów, modyfikując ich ładunek, co może spowodować rozbięcie łańcucha polipeptydowego i rozdrobnienie białka.

Rodniki nadtlenkowe powodują powstanie substancji z grupami aldehydowymi, czyli wysoce reaktywnych form, które tworzą wiązania kowalencyjne między aminokwasami, wytwarzając wiązania poprzeczne wewnątrz białek i pomiędzy nimi. Na koniec białka tracą konformację i tworzą skupiska, co prowadzi do zmniejszenia lub zahamowania prawidłowego funkcjonowania białka.



ANG.	POL.
PROT	BIAŁKO
TYROSINE	TYROZYNA
DITYROSINE	DYTYROZYNA

**RYSUNEK 3. Rodniki  $\text{OH}^\bullet$  tworzą nieodwracalne wiązania kowalencyjne między dwoma cząsteczkami tyrozyny.**

**Produkt (dityrozyna) nie jest rozpoznawana przez kinazy szlaków sygnałowych, co oznacza, że informacja przekazywana przez tyrozinę zostaje utracona. Ponadto struktura ta nie ulega rozkładowi i dlatego gromadzą się niefunkcjonalne białka z wiązaniami wewnątrz- i międzycząsteczkowymi.**

### 2.5.3 Zmiany morfologiczne w drobnoustrojach

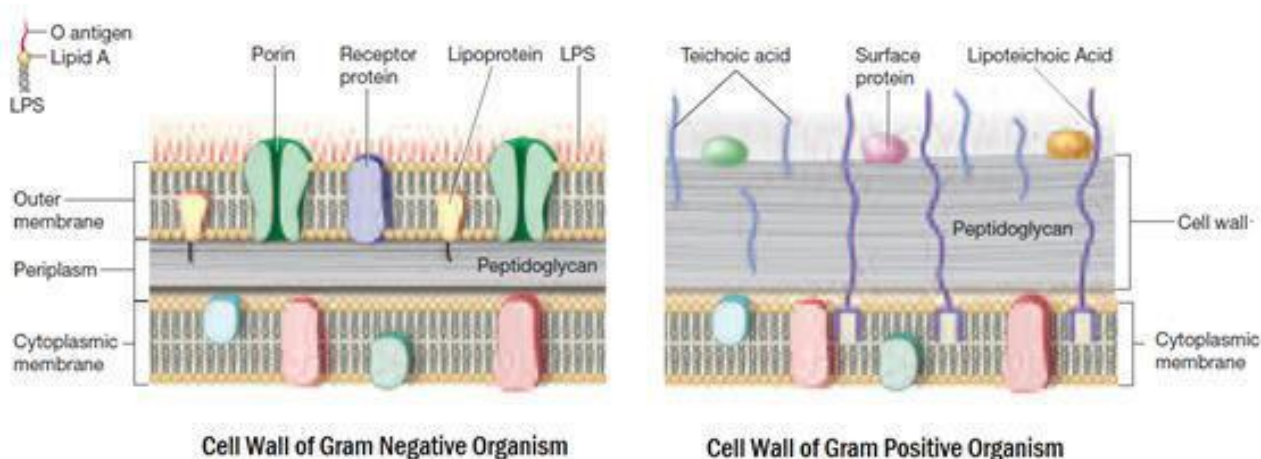
W badaniu przeprowadzonym przez Bai i in. 2012 [50] sprawdzono zmiany morfologiczne w bakteriiach *B. subtilis* i za rodnikach *Bacillus* w przypadku wystawienia na działanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  pod obserwacją mikroskopową w bakteriiach *B. Subtilis*, *S. Marcescens* i *Bacillus*.

Wyraźnie zauważono znaczną utratę integralności błony w *B. subtilis* w postaci nienaruszonych łańcuchek i równomiernie rozłożonej cytoplazmy po wystawieniu na działanie rodników  $\text{OH}^\bullet$ . Z drugiej strony komórki *Bacillus* mają twardą, wielowarstwową powłokę zewnętrzną, która uniemożliwia szybką eliminację bakterii *Bacillus* konwencjonalnymi chemicznymi środkami odkażającymi, takimi jak środki na bazie chloru, ałkaliów i związków alkaliczno-alkoholowo-aminowych. Jednak po wystawieniu na działanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  zarodniki *Bacillus* również popękały i komórki o okrągłym kształcie zniknęły. W rezultacie za rodniki *Bacillus* wymagają wyższego stężenia zmiatania rodników  $\text{OH}^\bullet$ , gęstość rozpylania – dyspersji i czasu. Stężenie, gęstość rozpylania i czas reakowania w momencie wystawienia to trzy ważne parametry niszczącego działania rodników  $\text{OH}^\bullet$  na drobnoustroje.

Gdy ustali się, jakie działanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  na drobnoustroje ma wyższą skuteczność biobójczą w zależności od budowy zewnętrznej (określone na podstawie wcześniejszych badań), można wyznaczyć różnice w cechach morfologicznych drobnoustrojów chorobotwórczych między ich warstwą zewnętrzną a wnętrzem konkretnej komórki [56, 57].

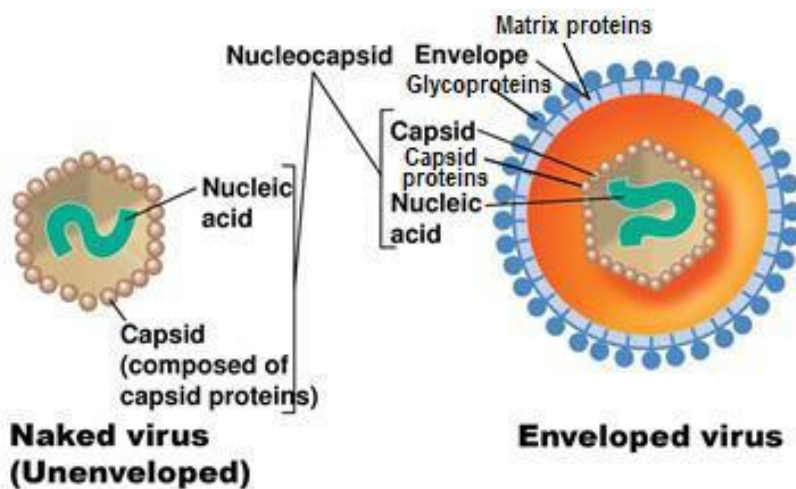
Niektóre drobnoustroje są w stanie odwrócić ten proces utleniania poprzez dysmutazę ponadtlenkową (SOD), rodzinę trzech metaloenzymów (FeSOD, MnSOD i CuZnSOD) o dużej zdolności do reakcji z utleniaczami, które neutralizują je i zmniejszają uszkodzenia oksydacyjne.

MnSOD jest syntetyzowany przez bakterie *Escherichia coli* [58] po wystawieniu na działanie tlenu i jest wywołany przez obecność rodników nadtlenkowych. Zarówno SOD, jak i katalazę wykryto w cytozolu komórek drobnoustrojów oraz w przestrzeni peryplazmatycznej (znajdującej się między błoną a ścianą komórkową) bakterii. Podobnie wykazano działanie ochronne przeciwko ROS wytwarzane w wybuchu tlenowym katalazy w bakteriach *Staphylococcus aureus* [59–61].



Cell Wall of Gram Negative Organism

Cell Wall of Gram Positive Organism



Naked virus (Unenveloped)

Enveloped virus

ANG.	POL.
O antigen	O-antygen
Lipid A	Lipid A
LPS	LPS (Lipopolisacharyd)
Outer membrane	Błona zewnętrzna
Periplasm	Przestrzeń peryplazmatyczna
Cytoplasmic membrane	Błona komórkowa
Porin	Kanał błonowy
Receptor protein	Białko receptorowe
Lipoprotein	Lipoproteina
Peptidoglycan	Peptydoglikan
Cell Wall of Gram Negative Organism	Ściana komórkowa organizmu Gram ujemnego
Teichoic acid	Kwas teichojowy
Surface protein	Białko powierzchniowe
Lipoteichoic acid	Kwas lipoteichojowy
Cell Wall	Ściana komórkowa
Cell Wall of Gram Positive Organism	Ściana komórkowa organizmu Gram dodatniego
Nucleocapsid	Nukleokapsyd
Nucleic acid	Kwas nukleinowy
Capsid (composed of capsid proteins)	Kapsyd (składający się z białek kapsydowych)
Naked virus (unenveloped)	Nieosłonięty wirus (bez otoczki)
Matrix proteins	Białko macierzy

Envelope	Otoczka
Glycoproteins	Glikoproteiny
Capsid	Kapsyd
Capsid proteins	Białka kapsydowe
Nucleic acid	Kwas nukleinowy
Enveloped virus	Wirus osłonięty otoczką

**RYSUNEK 4: Otoczki wedle rodzaju i morfologii wirusów i bakterii. Adaptacja z Pearson Education, Inc ©2015 i laboratoryinfo.com**

W ostatnich latach różne laboratoria, zewnętrzne jednostki certyfikujące i uniwersyteckie ośrodki badawcze opracowały różne badania w celu sprawdzenia skuteczności biobójczej urządzenia Wadu02® w obecności drobnoustrojów chorobotwórczych w różnych przestrzeniach.

Wyniki te przedstawiono w Tabeli 1, w której wskazano, że w przypadku bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych redukcja osiąga średnio 99,9% w pierwszej godzinie ekspozycji na zaawansowany proces utleniania zarówno w powietrzu, jak i na powierzchniach.

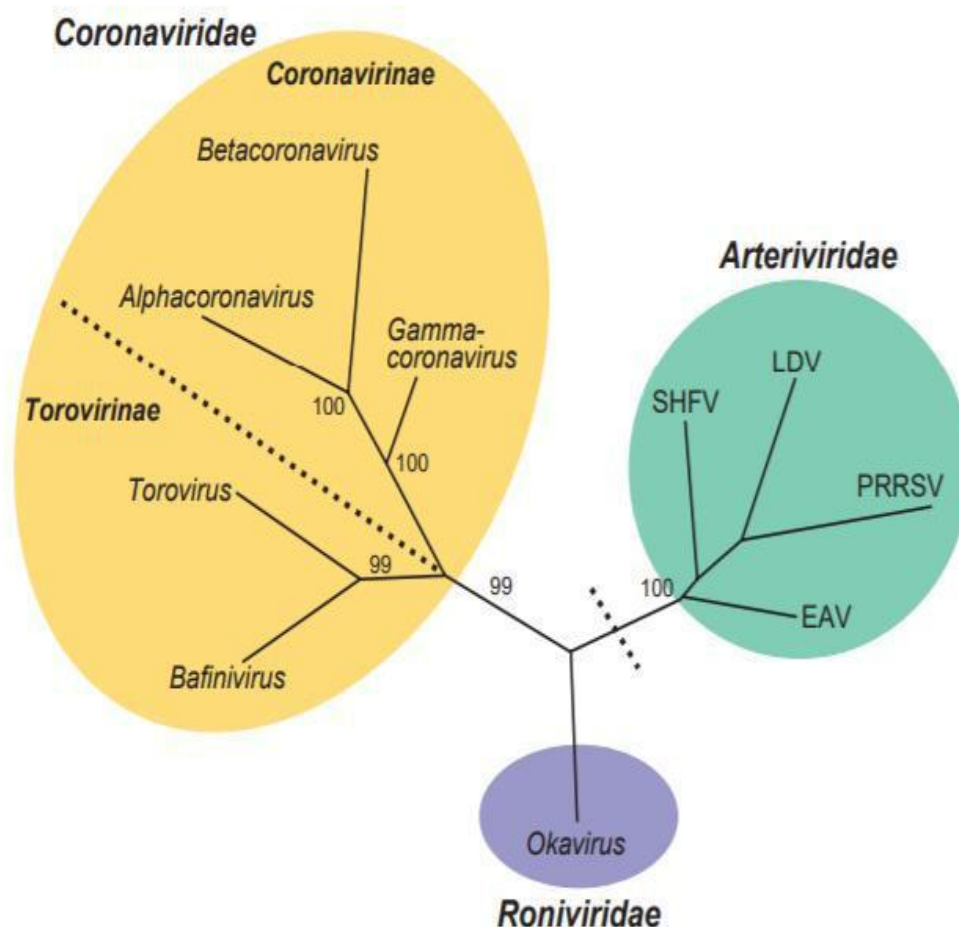
W przypadku wirusów wyniki ustalono w zależności od warunków wilgotności względnej i morfologii wirusa. Wyniki skuteczności produktu Wadu02® w przypadku wirusów bez otoczki wskazują, że w wilgotnych warunkach skuteczność jest mniejsza niż w warunkach suchych, osiągając średnio 99%; w przypadku wirusów z otoczką wilgotność sprzyja zaawansowanemu procesowi utleniania i eliminacji wirusów w przeciwieństwie do warunków suchych.



#### 2.5.4 Raport dotyczący stabilności i odkażania wirusa 2019-nCoV

Wirus 2019-nCoV to nowy szczep koronawirusa, który został po raz pierwszy wykryty w mieście Wuhan w Chinach w grudniu 2019 r. Liczba zakażonych pacjentów gwałtownie wzrosła w ostatnich tygodniach, co stało się poważnym problemem zdrowia publicznego. Przenoszenie wirusa odbywa się głównie za pomocą kropelek wydychanych przez osobę zakażoną, które mogą osiąść w jamie ustnej lub nosie osób znajdujących w pobliżu lub ewentualnie przedostać się do ich płuc. Koronawirusy to duża rodzina wirusów występujących u wielu różnych gatunków zwierząt, w tym wielbłądów, bydła, kotów i nietoperzy. Koronawirusy pochodzenia zwierzęcego rzadko zarażają ludzi i rozprzestrzeniają się wśród nich. Do przykładów należą MERS, SARS, a teraz 2019-nCoV [62].

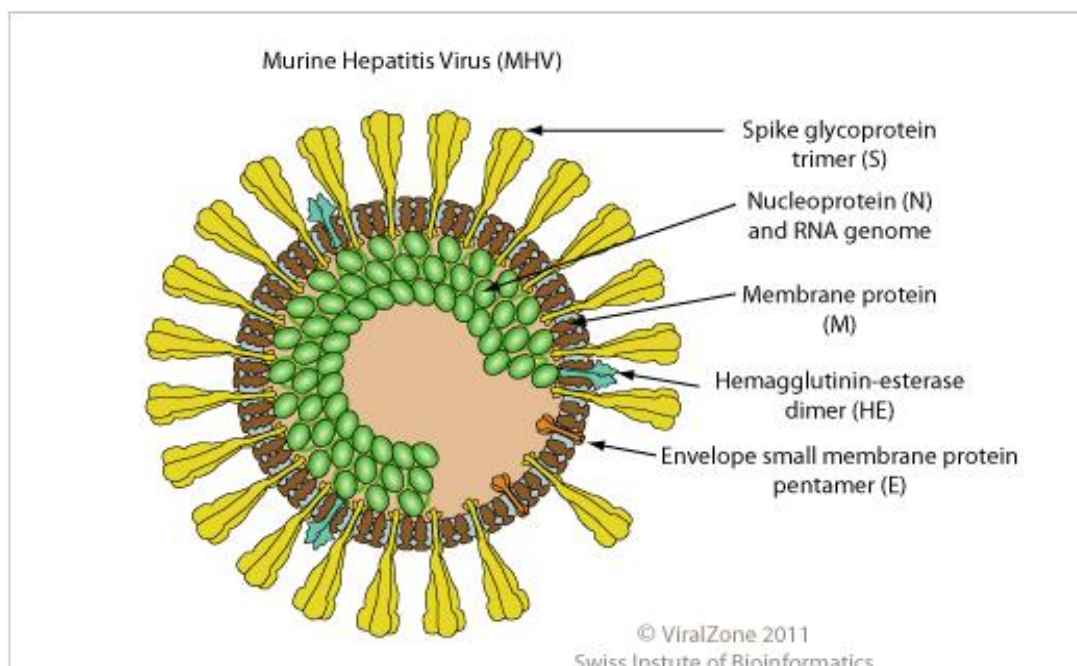
Nowy koronawirus został zaklasyfikowany jako betakoronawirus, tak jak MERS i SARS, które pochodzą od nietoperzy. Koronawirusy znajdują się w podrodzynie *Coronavirinae*, rodzina *Coronaviridae*, rząd *Nidovirales*. Dzielą się one na cztery rodzaje: alfakoronawirusy, betakoronawirusy, gammakoronawirusy i deltakoronawirusy [63].



**RYSUNEK 5: Filogeneza nidowirusów. Rząd nidowirusów składa się z trzech rodzin: *Coronavirinae*, *Roniviridae* oraz *Arteriviridae* (na podstawie Międzynarodowego Komitetu Taksonomii Wirusów, 2012 ©).**

Na podstawie materiału genetycznego wirusy te zostały zaliczone do grupy IV wg klasyfikacji Baltimore, ponieważ cząstka wirusowa zawiera tylko jednoniciową RNA o dodatniej polarności. Dla tego samego materiału genetycznego działa jako informacyjny RNA, ponieważ oba mają dodatnią polarności. Po translacji polimeraza RNA i różne białka strukturalne tworzące kapsyd zostają zsyntetyzowane [64].

Średnice koronawirusów wynoszą około 60–200 nm. Mają one nukleokapsyd o symetrii helikalnej i powłokę lipidową, która wywodzi się z błony wcześniej zainfekowanej komórki gospodarza i zawiera glikoproteiny i antygeny powierzchniowe. Z powłoki lipidowej wystają charakterystyczne dla tego gatunku struktury przypominające koronę słoneczną, która jest widoczna pod mikroskopem i od której wzięła się nazwa tej rodziny. Wbrew oczekiwaniom fakt, że wirus posiada otoczkę, oznacza, że jest wrażliwy na różne czynniki i środki zewnętrzne, takie jak ciepło, rozpuszczalniki lipidowe, detergenty niejonowe, formaldehyd, środki utleniające i promieniowanie UV [63].



ANG.	POL.
Murine Hepatitis Virus (MHV)	Mysi wirus zapalenia wątroby (MHV)
Spike glycoprotein trimer (S)	Trymer kola glikoproteinowego (S)
Nucleoprotein (N) and RNA genome	Nukleoproteina (N) i genom RNA
Membrane protein (M)	Białko błonowe
Hemagglutinin-esterase dimer (HE)	Dimer esterazy hemaglutyniny (HE)
Envelope small membrane protein pentamer (E)	Otoczka z białka błonowego (E)

**RYSUNEK 6: Białka strukturalne koronawirusa (z ViralZone©)**

Jak widać na Rysunku 6, kapsyd koronawirusa składa się z następujących białek strukturalnych:

Kolec glikoproteinowy S wystaje z otoczki wirusa i tworzy „koronę” widoczną pod mikroskopem. Kolec przylega do białek występujących na powierzchni komórek i powoduje ich zakażenie. W niektórych przypadkach białko S powoduje, że zażona komórka łączy się z sąsiednimi komórkami, sprzyjając w ten sposób rozprzestrzenieniu się wirusa. Białko otoczki (E) odpowiada za tworzenie nowych cząstek wirusowych i ich uwalnianie z zakażonej komórki, co jest niezbędne do rozprzestrzeniania się wirusa. Białko błonowe (M) przylega do innej części błony wirusa i powoduje jej wygięcie, co nadaje kulisty kształt wirionów. Białko M wchodzi również w reakcje z nukleokapsydem utworzonym przez RNA wirusa i białko N. Białko nukleokapsydowe (N) jest fosforylowane i wiąże się z genomem wirusa podczas składania.

Wirusy te znajdują się na całym świecie ze względu na ich różnorodność genetyczną, krótki okres inkubacji i wysoki wskaźnik mutacji. Połączenie tych czynników pozwala patogenowi zarażać nie tylko zwierzęta, ale także ludzi.

Powszechnie wiadomo, że ozon w stężeniach powyżej 100 ppm i wysokiej wilgotności, jest skutecznym środkiem odkażającym szczególnie w przypadku wirusów RNA z otoczką lub bez niej [65–67]. Jednakże wysokie stężenia ozonu mogą być szkodliwe w przypadku współistnienia w miejskich, zamieszkałych środowiskach. Odnotowano, że reaktywne formy tlenu (ROS), w tym rodniki  $\text{OH}^\bullet$ , nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) i ozon ( $\text{O}_3$ ), zwiększają skuteczność odkażania kilku drobnoustrojów [68, 69].

### III. WYNIKI

Zgodnie z wynikami uzyskanymi przy zastosowaniu urządzenia Wadu02® odnośnie do wirusów o podobnych strukturach do Covid-19 (RSV), można oczekiwać, że skuteczność urządzenia będzie miała spodziewany wynik eliminacji w wysokości średnio między 92% a 99% w zależności od warunków wilgotności względnej.

### IV. WNIOSKI

Wyniki pokazują, że zastosowanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  w zaawansowanym procesie utleniania wytwarzanym przez oczyszczacz Wadu02® to nowa, bezpieczna i skuteczna metoda szybkiego wyeliminowania drobnoustrojów chorobotwórczych w dużych przestrzeniach powietrza i na powierzchniach.

Zastosowanie rodników  $\text{OH}^\bullet$  w różnych badaniach wykazały, że ich użycie w zaawansowanych procesach utleniania, ustandaryzowanych jako środek bezpieczeństwa wykonywany urządzeniem Wadu02®, jest bezpieczne, nieszkodliwe i skuteczne w zwalczaniu drobnoustrojów chorobotwórczych i eliminacji zawieszonych cząstek, formaldehydu i LZO.

Dowodem skuteczności rodników  $\text{OH}^\bullet$  jako środka biobójczego są ich silne właściwości utleniające, zdolne do wyeliminowania drobnoustrojów w niskich stężeniach (0,8 mg/l) równoważnych 10 tysięcznym dawki konwencjonalnych środków odkażających.

Jego gęstość rozpylania (dyspersji) wynosi 22 ml/cm<sup>2</sup> reprezentujących jedną tysięczną innych środków odkażających, stały wysoki wskaźnik reakcji 10<sup>9</sup> l/mol • s w przetwarzaniu rodników OH<sup>•</sup> wynosi poniżej 4 s, co stanowi jedną tysięczną w porównaniu z chemicznymi środkami dezynfekującymi. Ponadto uszkodzenia patogenów zaobserwowane pod mikroskopem są nieodwracalne.

Opierając nasz stan homeostacyjny na prawidłowym działaniu wewnętrznego systemu przeciwutleniającego i eksperymentalnego przedstawienia skutecznego stosowania rodników OH<sup>•</sup> w oczyszczaniu powietrza i powierzchni, możemy wydać oświadczenie bezpieczeństwa dotyczące stosowania technologii Wadu02® w celu osiągnięcia zaawansowanych procesów utleniania, które są bezpieczne, skuteczne i nieszkodliwe dla ludzi do oczyszczania i odkażania powietrza i powierzchni.

**TABELA 1**  
**WYDAJNOŚĆ BIOBÓJCZA WADU02® NA PODSTAWIE WYNIKÓW BADAŃ Z LIMONEMEM**

Patogen	Ośrodek rozpraszania	Narażenie	Skuteczność %	Udokumentowane badanie
<i>Bacillus subtilis</i> (Gram +)	Powierzchnia	1 h	99,4	Bacillus, Esch, Staph – KNU
	Powietrze	20 min	99,6	Bacillus, Esch, Staph – KNU
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +)	Powierzchnia	1 h	52,3	Bacillus, Esch, Staph – KNU
	Powierzchnia	4 h	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
	Powietrze	1 h	99,9	Bacillus, Esch, Staph – KNU
Odporny <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (Odporny Gram +)	Powierzchnia	4 h	99,9	Salm, Kleb, MRSA - KCL
	Powietrze	4 h	99,9	MRSA - KCL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)	Powierzchnia	4 h	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
Gatunki <i>Enterobacter: Salmonella</i> (Gram -)	Powierzchnia	4 h	99,9	Salm, Kleb, MRSA - KCL
Gatunki <i>Enterobacter: Klebsiella</i> (Gram -)	Powierzchnia	4 h	99,9	Salm, Kleb, MRSA - KCL
	Powietrze	4 h	99,9	Klebsiella - KCL
Gatunki <i>Enterobacter: Escherichia coli</i> (Gram -)	Powierzchnia	1 h	99,9	Bacillus, Esch, Staph – KNU
	Powierzchnia	4 h	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
	Powietrze	20 min	99,9	Bacillus, Esch, Staph – KNU
<i>Wirus grypy</i> (z otoczką)	Mokry	30 min	86	Wirus grypy A – UB
	Suchy	30 min	38	Wirus grypy A – UB
VRS – syncytialny wirus oddechowy (z otoczką)	Mokry	2 h	99	VRS – UB
	Suchy	2 h	92	VRS – UB
<i>Rotawirus</i> (Nieosłonięty)	Mokry	2 h	37	RoV – UB
	Suchy	2 h	99	RoV – UB

**BIBLIOGRAFIA**

- [1] De la Rosa, MC; Mosso, MA; Ullán, C. (2002) El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observ. Medioambiental*; 5:375-402.
- [2] Smith RD. (2006) Responding to global infectious disease outbreaks: lessons from SARS on the role of risk perception, communication and management. *SocSci Med*;63(12):3113-23.
- [3] Writing Committee of the WHO Consultation on Clinical Aspects of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza, Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao Z, Harper SA, Shaw M, Uyeki TM, Zaki SR, Hayden FG, Hui DS, Kettner JD, Kumar A, Lim M, Shindo N, Penn C, Nicholson KG. (2010) Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med*; 362(18):1708-19. Review. Erratum in: *N Engl J Med*. 2010 May 27;362(21):2039.
- [4] Chan PK, Chan MC. (2013) Tracing the SARS-coronavirus. *J Thorac Dis*;5(Suppl.2): S118-21.
- [5] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*;395(10223):497-506.
- [6] Isaksen, I.S.A.; Dalsoren, SB. (2011) Getting a better estimate of an atmospheric radical. *Science* 331: 31-9.
- [7] Mindong Bai, Zhitao Zhang, Yiping Tian & Mindi Bai (2012) Rapidly eliminating pathogenic microorganisms in large air space using spraying OH<sup>•</sup> radicals, *Journal of the Air & Waste Management Association*, 62:4, 393-7.
- [8] Raber, E., Jin, A., Noonan, K., McGuire, R. and Kirvel, R.D. (2001) Decontamination issues for chemical and biological warfare agents: How clean is clean enough? *Int. J. Environ. Health Res.*, 11: 128-148.
- [9] Raber, E. and McGuire, R. (2002) Oxidative decontamination of chemical and biological warfare agents using L-Gel. *J. Hazard. Mater.*, 93: 339-352.
- [10] Roberto, A. and Vincenzo, C. (1999) Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal. Today*, 53: 51-9.
- [11] Glaze, W.H., Kang, J.W. and Chapin, D.H. (1987) The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation. *Ozone Sci. Eng.*, 9: 335-6.
- [12] Elías, A; Rogero, S; Fernández, I; Montes, J; Luengas, T; Gurtubay, L. (2012) Contribución de los COV's a la contaminación del aire interior, *Communication XVI International Congress of Project Engineering*. Valencia, Spain.
- [13] Shreya, S., Boris, D. and Vishal, S. (2007) Development of a new approach for microbial decontamination of water using modified Fenton's reaction. *Environ. Pollut.*, 148: 674-8.
- [14] Veressinina, G.Y. and Trapido, M. (2008) Degradation of salicylic acid by Fenton and modified Fenton treatment. *Chem. Eng. J.*, 143: 1-9.
- [15] Maurizio, A. and Vincenzo, A. (2005) Oxidation of oxalate ion in aqueous suspensions of TiO<sub>2</sub> by photocatalysis and ozonation. *Catal. Today*, 107-108: 612-8.
- [16] Naoyuki, K. and Yukako, M. (2005) Advanced oxidation effect of ozonation combined with electrolysis. *Water Res.*, 39: 4661-72.
- [17] Nick, S. and Satoshi, H. (2010) Microwaves in advanced oxidation processes for environmental applications. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.*, 11: 114-31.
- [18] Bai, M.D., Bai, X.Y., Zhang, Z.T., Bai, M.D. and Yang, B. (2005) Treatment of red tide in Ocean using non-thermal plasma based advanced oxidation technology. *Plasma Chem. Plasma Process.*, 25: 539-50.
- [19] Bai, X.Y., Zhang, Z.T., Bai, M.D. and Yang, B. (2005) Killing of invasive species of ship's ballast water in 20t/h system using hydroxyl radicals. *Plasma Chem. Plasma Process.*, 25: 41-54.
- [20] Gargori, C; Galindo, R; Llusar, M; Tena, MA; Monrós, G; Badenes, JA. (2009) Photocatalytic degradation of Orange II by titania addition to sol-gel glasses. *Sci and Tech*; 50:314-20
- [21] WHO (2000) Guías de la calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. (2005) (<http://www.euro.who.int/Document/E87950>)
- [22] Intertek (2018) Ozone emissions testing of household electrostatic air cleaners report number:103502990CRT-001, GFT-OP-10o.
- [23] Real Decreto 374/2001, de 6 de abril sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo. (BOE núm. 104 de 1 de mayo de 2001.)
- [24] Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales.
- [25] Castellanos, FE. (2007). Biotransformación de limoneno y aceites esenciales de naranja y mandarina empleando *aspergillus niger*. Chemical Master degree thesis. Universidad Industrial de Santander.
- [26] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Waomar M. (2008) Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol.* 46:446-75.
- [27] Nøjgaard JK, Bilde M, Stenby C, Nielsen OJ, Wolkoff P. (2006) The effect of nitrogen dioxide on particle formation during ozonolysis of two abundant monoterpenes indoors. *Atmos Environ*; 40:1030-42.
- [28] Weschler CJ. (2006) Ozone's impact on public health: Contributions from indoor exposures to ozone and products of ozone-initiated chemistry. *Environ Health Perspect*; 114:1489-96.
- [29] Wells JR, Forester CD. (2009) Yields of carbonyl products from gas-phase reactions of fragrance compounds with OH radical and ozone. *Environ Sci Technol*; 43:3561-8.
- [30] Sabersky RH, Sinema DA, ShairFH. (1973) Concentrations, decay rates, and removal of ozone and their relation to establishing clean indoor air. *Environ Sci Technol*; 7:347-53.

- [31] Weschler CJ. (2000) Ozone in Indoor Environments: Concentration and Chemistry. *Indoor Air*;10:269-88.
- [32] Grosjean D, Williams EL, Grosjean E, Andino JM, Seinfeld JH. Atmospheric oxidation of biogenic hydrocarbons: reaction of ozone with beta-pinene, D-limonene and trans caryophyllene. (1993) *Environ Sci Technol*;27:2754-8.
- [33] Shu Y, Kwok ESC, Tuazon EC, Atkinson R, Arey J. (1997) Products of the gas-phase reactions of linalool with OH radicals, NO<sub>3</sub> radicals, and O<sub>3</sub>. *Environmental science & technology*; 31:896-904.
- [34] Fan Z, Lioy P, Weschler C, Fiedler N, Kipen H, Zhang J. (2003) Ozone-initiated reactions with mixtures of volatile organic compounds under simulated indoor conditions. *Environ Sci Technol*; 37:1811-21.
- [35] Tamás G, Weschler CJ, Toftum J, Fanger PO. (2006) Influence of ozone-limonene reactions on perceived air quality. *Indoor Air*; 16:168-78.
- [36] Lamorena RB, Lee W. (2008) Influence of ozone concentration and temperature on ultra-fine particle and gaseous volatile organic compound formations generated during the ozone-initiated reactions with emitted terpenes from a car air freshener. *J Hazard Mater*; 158:471-7.
- [37] Huang YT, Chen CC, Chen YK, Chiang CM, Lee CY. (2012) Environmental test chamber elucidation of ozone-initiated secondary pollutant emissions from painted wooden panels in buildings. *Build Environ*; 50:135-40.
- [38] Wainman T, Zhang J, Weschler CJ, Lioy PJ. (2000) Ozone and limonene in indoor air: a source of submicron particle exposure. *Environ Health Perspect*; 108:1139-45.
- [39] Lamorena RB, Jung SG, Bae GN, Lee W. (2007) The formation of ultra-fine particles during ozone-initiated oxidations with terpenes emitted from natural paint. *J Hazard Mater*; 141:245-51.
- [40] Sarwar G, Corsi R. (2007) The effects of ozone/limonene reactions on indoor secondary organic aerosols. *Atmos Environ*; 41:959-73.
- [41] Chemical agent directive 98/24/EC and Framework Directive 89/391/EEC
- [42] Weschler CJ, Shields HC. (1996) Production of the hydroxyl radical in Indoor Air. *Environ Sci Technol*; 30:3250-8.
- [43] Weschler CJ, Shields HC. (1997) Measurements of the hydroxyl radical in a manipulated but realistic indoor environment. *Environ Sci Technol*; 31:3719-22.
- [44] Sarwar G, Corsi R, Kimura Y, Allen D, Weschler CJ. (2002) Hydroxyl radicals in indoor environments. *Atmos Environ*; 36:3973-88.
- [45] Weschler CJ. (2004) Chemical reactions among indoor pollutants: what we've learned in the new millennium; 14:184-94.
- [46] Huang, H. L., Tsai, T. J., Hsu, N. Y., Lee, C. C., Wu, P. C., & Su, H. J. (2012). Effects of essential oils on the formation of formaldehyde and secondary organic aerosols in an aromatherapy environment. *Building and Environment*, 57, 120-125.
- [47] Korea Conformity Laboratories (2017). SPS-KACA002-132:2016 / Wadu02-A-03.
- [48] Universitat Politècnica de Catalunya CRESCA-UPC. Salmeron D, AM; Picón T, J; García R, J. (2019) Test of remove effect particle matters, VOC's and formaldehyde by means of hydrogen peroxide and d-limonene.
- [49] Riley PA. (1994) Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol*;65(1):27-33.
- [50] Bai M, Zhang Z, Tian Y, Bai M. (2012) Rapidly eliminating pathogenic microorganisms in large air space using spraying \*OH radicals. *J Air Waste Manag Assoc*; 62(4):393-7.
- [51] Shapoval GS, Gromovaia VF. (2003) Mechanism of antioxidant protection of an organism from oxidative stress. *Ukr Biokhim Zh*;75(2):5-13.
- [52] Adair TM. (1996) Is peroxide a hazard? *J Am Dent Assoc*;127(4):422.
- [53] Huttunen J. (1994) Free radicals and antioxidants. Advantages of antioxidants in clinical medicine, truth or fiction? *Duodecim*;110(17):1606-8.
- [54] Ede S, Hafner L, Dunlop P, Byrne J, Will G. (2012) Photocatalytic disinfection of bacterial pollutants using suspended and immobilized TiO<sub>2</sub> powders. *Photochem Photobiol*;88(3):728-35.
- [55] Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. (1995) Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J*;6(2):85-90.
- [56] O'Brien D, Stevens N, Fitzgerald-Hughes D, Humphreys H. Effect of a novel air disinfection system on airborne micro-organisms in a hospital outpatient clinic (2012) *J Hosp Infect*;80(1):98-9.
- [57] Wong V, Staniforth K, Boswell TC. (2011) Environmental contamination and airborne microbial counts: a role for hydroxyl radical disinfection units? *J Hosp Infect*;78(3):194-9.
- [58] Hao J, Qiu S, Li H, Chen T, Liu H, Li L. (2012) Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol*;155(3):99-104.
- [59] Zhang Q, Ma R, Tian Y, Su B, Wang K, Yu S, Zhang J, Fang J. (2016) Sterilization Efficiency of a Novel Electrochemical Disinfectant against *Staphylococcus aureus*. *Environ Sci Technol*;50(6):3184-92.
- [60] O'Brien D, Stevens N, Fitzgerald-Hughes D, Humphreys H. Effect of a novel air disinfection system on airborne microorganisms in a hospital outpatient clinic. *J Hosp Infect*. 2012 Jan;80(1):98-9.
- [61] Wong V, Staniforth K, Boswell TC. (2011) Environmental contamination and airborne microbial counts: a role for hydroxyl radical disinfection units? *J Hosp Infect*;78(3):194-9.
- [62] Novel coronavirus 2019 situation summary, Wuhan, China, CDC (date unknown)
- [63] Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., & Smith, D. B. (2018). Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic acids research*, 46(D1), D708–D717.
- [64] Fehr AR, Perlman S. (2015) Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*; 1282:1-23.
- [65] WHO guidelines on hand hygiene in health care: first global patient safety challenge clean care is safer care

- 
- [66] Sato H, Wananabe, Y; Miyata, H. (1990) Virucidal effect of ozone treatment of laboratory animal viruses. *ExpAnim*; 39:223-9.
- [67] Breidablik, HJ; Lysebo, DE; Johannessen, L; Skare, A; Andersen, JR; Kleiven, OT (2019) Ozonized water as an alternative to alcohol based hand disinfection. *J Hosp Infect*, 102:419-24.
- [68] Jeong, J; Kim, JY; Yoon, J. (2006) The role of Reactive oxygen species in the electrochemical inactivation of microorganisms. *Environ Sci Technol* 40:6117-122.
- [69] Huang, X; Qu, Y; Cid, CA; Finke, C; hoffman, MR; Lim, K; Jiang, SC. (2016) Electrochemical disinfection of toilet wastewater electrolysis cell 92:164-72.