

MC-Transaction on Biotechnology, 2011, Vol. 3, No. 1, e5

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

文獻回顧：

太陽輻射及紫外線對微生物失活作用的影響

陳王琨¹、鄭建璋²、陳良宇²、李宜真²、吳家慶²、梁致遠^{2*}

¹ 景文科技大學環境與物業管理系(中華民國 台灣 新北市)

² 銘傳大學健康科技學院生物科技學系(中華民國 台灣 桃園)

中文摘要

太陽輻射作用於水，造成光化學分解產生活性氧分子，進而引起微生物的失活作用。本文討論太陽輻射及紫外線對微生物的作用，並探討紫外線或可見光激發光觸媒及光敏劑產生活性氧分子的過程，於環境品質的維護將具有很好的應用潛力。

關鍵字：活性氧分子、太陽輻射、紫外線、光敏劑、光觸媒

通訊作者：梁致遠[liang121@mail.mcu.edu.tw]

收稿：2011-9-25 接受：2011-11-13

一、前言

太陽輻射具有特定的波長及能量，波長範圍包括宇宙射線至無線電的大部分。太陽輻射在未進入地球大氣層前，90%的能量集中在 0.15-4 μm 波長，進入大氣層後，在大氣層中的增溫層(電離層)中的氮、氧及其它大氣分子，能吸收波長非常短的高能輻射(如 X 射線及其它更短波長的輻射)，使之不能到達地表^[1]。

太陽輻射進入大氣層，大部分紫外線 (UV) 被臭氧所吸收，臭氧層似保護傘，阻擋 99%的紫外線。可到達地面的紫外線中，大部分的 UVA (320-400 nm)和約 10%的 UVB (280-320 nm)到達地球表面^[2]、波長最短的 UVC (<290 nm)則被臭氧層、氧分子和水蒸氣所完全吸收^[3]。而紫外線光譜範圍在 100-400 nm 間，其能量僅佔到地表之太陽輻射總量的 8%。

世界衛生組織報告指出，少量的紫外線對人有益，能幫助產生維生素 D，也用於

治療多種疾病，如佝僂病、牛皮癬、濕疹和黃疸。但人類長期暴露可能會導致皮膚、眼睛和免疫系統急、慢性效應，如皮膚紅斑是過度暴露於紫外線的急性例子，長期於暴露紫外線下，會誘導皮膚、纖維組織和血管的細胞退化，導致皮膚老化、光敏皮膚病、光化角化症及眼睛發炎等反應，最嚴重情況下，產生皮膚癌和白內障[2]。

紫外線通過直接輻射，產生活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)導致氧化壓力和改變DNA的修復機制，引起細胞和DNA損害。紫外線引起的腫瘤、免疫抑制和光老化現象，活性氧分子都扮演著促進作用[4]。活性氧分子是氧分子的衍生物，包括超氧陰離子 ($O_2^{\cdot-}$)、過氧化羥基自由基 (HO_2^{\cdot})、過氧化氫 (H_2O_2)、羥基自由基 ($\cdot OH$) 和單線態氧 (1O_2)，還包括碳、氮化合物與氧反應生成的自由基[5]。

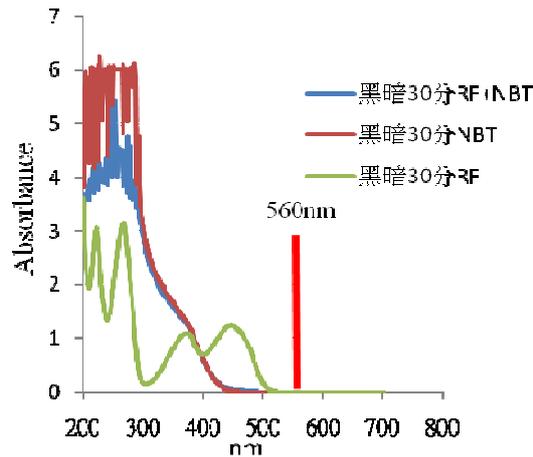
核黃素是一光敏劑，可被紫外線和可見光激發，吸收光譜在紫外光及可見光範圍的藍光區[6]，利用核黃素受光照產生的活性氧分子，能將硝基藍四氮唑 (NBT) 還原為藍色的Formazan化合物，透過分光光度計，在560 nm波長有最大吸收[7]。硝基藍四氮唑光照還原反應是測定超氧歧化酶活性常見的方法之一。

本文探討以下幾個主題(1)在太陽光及紫外線輻射下，水光分解產生活性氧分子的機制；(2)太陽輻射對微生物失活的影響；(3)光敏劑運用於空氣中微生物的失活作用。

二、太陽光及紫外線對水的光分解

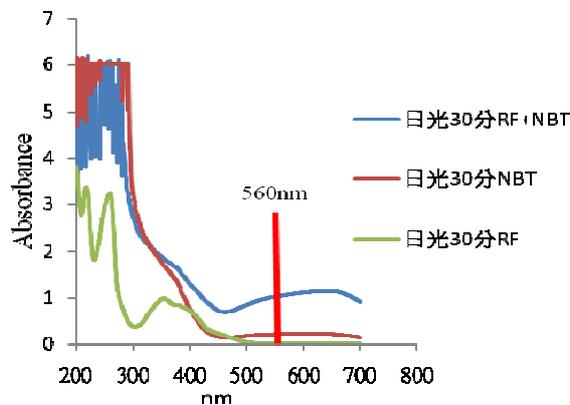
參考Beauchamp與Fridovich[8]及鄭等[9]的方法，以硝基藍四氮唑 (NBT)光照還原反應法測試水在戶外陽光下的活性氧反應。以(1)添加核黃素，不加硝基藍四氮唑(2)添加硝基藍四氮唑，不加核黃素(3)添加核黃素及硝基藍四氮唑等三種處理比較。將各處理的反應液置於避光及戶外等不同條件，進行30分鐘的反應，以分光光度計在偵測200-700 nm的吸收光譜。

核黃素對光敏感，易受光照破壞[6]，在避光後30分鐘後的紫外光及可見光的吸收光譜如圖一，有四個吸收峰：220 nm、261 nm、376 nm及439 nm，其中220 nm及261 nm的吸收峰高而窄，376 nm及439 nm的吸收峰低而寬。核黃素產生的活性氧分子，能將硝基藍四氮唑還原為藍色的Formazan化合物，在560 nm波長有最大吸收峰。添加核黃素及硝基藍四氮唑的處理，在避光後30分鐘後的紫外光及可見光的吸收光譜，560 nm並無吸光值，表示在避光處理，無Formazan的產生，無活性氧分子的生成。



圖一、避光對硝基藍四氮唑光照還原法的效應

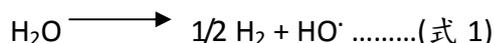
將處理的反應液放在戶外(光強度 13,000 Lux)下 30 分鐘的結果如圖二。在日照 30 分鐘後，核黃素的 439 nm 的吸收峰消失。添加核黃素及硝基藍四氮唑的處理，日照 30 分鐘後，在 560 nm 的吸光值為 1.03，表示經日照後，核黃素被激發產生活性氧分子和硝基藍四氮唑反應，產生 Formazan。反應液中僅添加硝基藍四氮唑處理，經日照後，其吸收光譜呈現不同的變化，在 560 nm 的吸光值為 0.21，在戶外過程中，也發現此處理呈淡藍色的反應，表示僅添加硝基藍四氮唑的處理，在戶外 30 分鐘能產生活性氧分子。



圖二、戶外日照下對硝基藍四氮唑光照還原法的效應

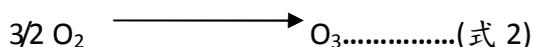
水是由兩個氫原子分別與同一個氧原子結合而成，可分成二個帶電荷的粒子，一個帶正電的氫離子 (H^+) 與一個帶負電的氫氧離子 (OH^-)，水可用另一種方式來分成二個電中性的部分，其中一個電子停留在氫原子上 ($H\cdot$)，而另一個則停留在氫氧基上形成一個 $HO\cdot$ 自由基。水分子內的化學鍵強度很高，在生物系統中通常並不會產生羥基自由基，然而高能量的輻射則會使水分子分裂而產生羥基自由基，Weeks 等人以 VUV(真空紫外線，波長 $<190\text{ nm}$) 進行水的光分解，因為具有較高的能量，能很有效率的使水發生光分解，產生羥基自由基(式 1)_[10]。

$h\nu$

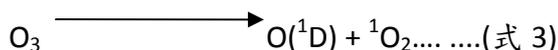


在極度的紫外線照射(主要為 185 nm 及 245 nm)，氧產生臭氧及其他的活性自由基 (reactive radicals)，且氧氣在 185nm 的紫外線下形成活性氧原子(reactive oxygen atom)，活性氧原子與氧結合成臭氧，臭氧本身吸收 254nm 的紫外線產生活性氧原子 $\text{O}({}^1\text{D})$ 及單線態氧 (singlet molecular oxygen, ${}^1\text{O}_2$)，在水中水分子可與 $\text{O}({}^1\text{D})$ 及 ${}^1\text{O}_2$ 形成其他的自由基及過氧化氫(H_2O_2)_[11]。

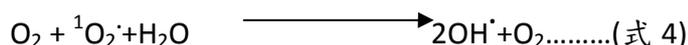
UV 185 nm



UV 245 nm



UV 245 nm



大氣中的臭氧層能夠吸收太陽光中的 UVC 及 90%的 UVB，對 UVA 影響較小_[12]，Farman 報導南極臭氧減少的狀況，臭氧量的減少不僅會使太陽輻射中的 UVB 增加，而且，應為臭氧等大氣完全吸收的 UVC，很可能穿透大氣層到達地面，直接作用於水產生活性氧分子，是值得我們警惕及注意。

三、太陽輻射對微生物的失活

太陽光所引起的生物毒性主要是由於其中的紫外線部分，不同波長的紫外線會引起不同型式的 DNA 的損害_[13]。核酸在 250-260 nm 有很強的吸收峰且該波長正好在 UVC 的波長範圍，故 UVC 對空氣以及物體表面進行滅菌是基於對細菌 DNA 直接破壞作用。以太陽光紫外線 (主要為 UVB) 對 DNA 分子的直接激發，會引發相鄰嘧啶產生二聚體反應，這些光反應產生以 cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs) 及 pyrimidine (6-4) pyrimidone (6-4PPs) 為主的光化學產物_[14]。Yang 等人_[15]及郝

等人^[16]指出太陽光照射可誘變 M13mp2 噬菌體 *lacZα* 基因區域以鳥糞嘌呤 (G) 顛換 (G→T 和 G→C) 為主的變異，長波紫外線 (UVA) 誘變也以鳥糞嘌呤顛換為主，而中波紫外線 (UVB) 照射引發以 C→T 轉換為主的突變^[16]。郝等人^[17]以陽光、UVA 及 UVB 照射噬菌體並以 ESR 偵測自由基，顯示太陽光和 UVA 照射可引起羥基自由基的產生，說明太陽光引起的突變作用與 DNA 氧化損傷有關，羥基自由基在其中發揮一定的作用。Heaselgrave 及 Kilvington^[18]以模擬太陽光 (SODIS) 在 150 W/m² 的強度下，添加 250 μM 核黃素在 2-6 小時後能，對多種微生物 (包含 *Escherichia coli*、*Fusarium solani*、*Candida albicans*、和 *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites) 降低 3 到 4 個數量級。

根據世界衛生組織日前公佈的調查報告^[2]，在發展中國家，80%-90%的疾病和三分之一以上死者的死因，都與使用受到細菌感染或受化學污染的水有關，因此在世界衛生組織的飲用水水質準則中提及：「在應急狀況下可將小量的水裝在清潔透明容器中，如塑膠飲料瓶，用力搖動容器20秒，並在陽光下曝曬至少6小時，以紫外線將水中大部分的微生物殺死」^[2]。Salih^[19]的研究結果表明，飲用水置於太陽光下輻射2天，即可達到100%的微生物失活率。發展中國家因資金匱乏，技術落後，無法保證居民飲用水的衛生條件，在赤道附近地區偏遠鄉村的飲用水消毒，以太陽光作為消毒的手段，是一可考慮的選擇。

四、活性氧對微生物失活的應用

2008年台灣通過「室內空氣品質管理法草案」，期有效改善室內空氣品質，維護室內環境品質，保障國民身體健康，法案規定，各種場所室內空氣檢測不合規定將進行罰鍰，其檢測項目包括細菌及真菌的菌落數 (CFU/m²) 要求。Daniels^[20]指出空氣負離子中的超氧陰離子 (superoxide, O₂⁻) 與空氣中的生物氣膠進行反應或使其帶電，產生移除或殺菌的功能，空氣負離子的應用包括消除室內微生物、臭味，以及揮發性有機污染物等。Shargawi等人^[21]指出空氣負離子能對一些非氣膠的微生物具有殺菌的功能。

在照光的系統中加入催化劑，俗稱觸媒，使系統的反應速率加速。觸媒，可促使物質產生化學反應或增加化學反應的速率，但本身不產生變化。光觸媒 (photocatalysis) 是以光能作為激發，主要成份為二氧化鈦 (TiO₂)，當以小於387.5 nm 的紫外光照射，能夠激發產生光子電子 (photo-induced electron) 及光子電洞 (photo-induced hole)，結合氧氣或水分子產生化學性質極為活潑的自由基團^[22-24]，以二氧化鈦產生自由基的能力可造成細菌死亡，抑制病毒的活性且捕捉、殺除空氣中的浮游細菌。二氧化鈦主要作用的波長在紫外線，如何利用可見光源以有效達到激發二氧化鈦光觸媒，是一項重要的課題。

核黃素，對光敏感，易受光照破壞^[6]，以核黃素作為光敏劑，照射紫外線或可見光產生活性氧，能對微生物產生失活作用。核黃素是人體中所須要的維生素，是安全的光敏劑，已在許多領域中發展其光化學的優點。

被病毒污染的血製品，如 HIV 病毒、B 肝病毒、C 肝病毒等曾討論使用 UVC 照射的方法，但是 UVC 誘發的脂質過氧化作用會使溶液中和血漿中的 AHF 分別破壞 70% 和 40%^[5]。Ruane 等^[25]以核黃素光化學法對血小板中的病毒和細菌的失活研究，使用 50 $\mu\text{mol/L}$ 核黃素，經 265-370 nm 波長紫外光 (6.2 J/mL) 照射 8-10 分鐘，該項技術可將血液中的 HIV 病毒降低 (4-6) \log_{10} ，西尼羅病毒降低約 5 \log_{10} ，非脂包膜病毒的豬細小病毒降低 5 \log_{10} 以上，大腸桿菌和金黃色葡萄球菌降低 4 \log_{10} 或更多。Cui 等^[26]使用 400-500 nm 的可見光激發核黃素光化學方法，可有效抑制淋巴細胞的增殖活性和細胞因子分泌活性。Makdoui 等人^[27]以 UVA 及添加核黃素後比較菌落數 (CFU)，指出添加核黃素後照 UVA 的效果，比僅照射 UVA 能更有效的滅菌。利用核黃素的光敏特性，能激發產生活性氧分子，以 UVA 及核黃素的結合，在眼部的疾病，如細菌及真菌的治療上，也有所進展^[28,29]。

五、研究與展望

在南極高空大氣層臭氧減少的狀況，不僅使太陽輻射中的 UVB 增加，原先應該為大氣完全吸收的 UVC，很可能穿透大氣層到達地面，直接作用於水產生活性氧分子，是非常值得注意的事情。另一面，在自然水體中若有一些光吸收物質 (light-absorbing substances)，如硝酸/亞硝酸根離子，腐植質及草酸鐵/草酸亞鐵複合物在太陽光下藉由光化學反應，能產生活性氧分子^[37]。利用硝基藍四氮唑光照還原反應法，觀測到水溶液在戶外陽光下具有活性氧反應的存在，是紫外線能量打斷水分子，或是純水中有其他光吸收物質受光激發，導致電子轉移形成活性氧分子，其詳細機制仍須進一步的釐清。

紫外線引起的免疫抑制和光老化，活性氧分子都扮演著促進作用^[4]，以紫外線或可見光照射光觸媒或光敏劑，能產生活性氧分子，對微生物產生失活作用，能有效降低菌落數 (CFU)。光觸媒及光敏劑受到光激發產生活性氧分子，應用在太陽光殺菌或是室內環境品質的維護都有很好的潛力。但光觸媒或光敏劑應用到室內時，在室內人造光源，發揮光觸媒或光敏劑的特點或增加活性氧分子的作用，則是值得進一步開發的商業課題。

參考文獻

- [1] 小普卓瑪：太陽輻射光及其對人類的影響。西藏大學學報，2007，22：121-124.
- [2] World Health Organization: Health effects of UV radiation: <http://www.who.int/uv/health/en/index.html>.
- [3] Farmer KC, Maylor MF: Sun exposure, sunscreens, and skin cancer prevention: a year- round concern . Ann Pharmacother 1996, 30: 662- 673.
- [4] Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Oka BM, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T: UV - induced skin damage. Toxicology 2003, 189: 21-39.
- [5] 王小勇：紫外線誘導產生的活性氧簇在皮膚的研究進展。中國麻風皮膚病雜誌，2005，21：718-720。
- [6] 簡宏霖、鄭建璋、陳良宇、梁致遠：核黃素光化學的研究。生技學報(MC-TB)，2011，v3e3。
- [7] Donnelly JK, McLellan KM, Walker JL, Robinson DS：Superoxide dismutases in foods. A review. Food Chemistry 1989, 33: 243-270.
- [8] Beauchamp C, Fridovich I: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem 1971, 44: 276-287.
- [9] 鄭建璋、簡宏霖、梁致遠：光照度對硝基藍四氮唑嗪光照反應的影響。生技學報(MC-TB)，2010，v2e2。
- [10] Legrini O, Oliveros E, Braun AM: Photochemical processes for water treatment. Chem Rev 1993, 93: 671-698.
- [11] Yu C, Parikh AN, Groves JT: Direct patterning of membrane-derivatized colloids using In-Situ UV-ozone photolithography. Advanced Materials 2005, 17: 1477-1480.
- [12] 丁振華、范建中：紫外輻射生物學與醫學。人民軍醫出版社，北京市。2000。
- [13] Mouret S, Baudouin C, Charveron M, Favier A, Cadet J, Douki T: Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation. Proc Natl Acad Sci USA 2006, 103: 13765-13770.

- [14] Schuch AP, da Silva Galhardo R, de Lima-Bessa KM, Schuch NJ, Menck CF: Development of a DNA-dosimeter system for monitoring the effects of solar-ultraviolet radiation. *Photoche Photobiol Sci* 2009, 8: 111-120.
- [15] 郝衛東、東岸和雄：太陽光及紫外線 B 誘發基因突變的鹼基特異性。北京醫科大學學報，1997，29：121-123。
- [16] Yang SJ, Hao WD, Ekuni A, Fujiwara Y, Ono T, Munakata N, Hayatsu H, Negishi K: Sunlight mutagenesis: changes in mutational specificity during the irradiation of phage M13mp2. *Mutation Research* 1999, 438: 53-62.
- [17] 郝衛東、尚蘭琴、趙慧、王紅傳、盧景芬、古力努爾：DNA 氧化損傷在太陽光致 M13mp2 噬菌體突變中的作用。中國環境科學，2000，2：154-158。
- [18] Heaselgrave W, Kilvington S: Antimicrobial activity of simulated solar disinfection against bacterial, fungal, and protozoan pathogens and its enhancement by riboflavin. *Applied and Environmental microbiology* 2010, 76: 6010-6012.
- [19] Salih FM: Formulation of a mathematical model to predict solar water disinfection. *Water Research* 2003,37: 3921-3927.
- [20] Daniels SL: On the ionization of air for removal of noxious effluvia. *IEEE Transactions on Plasma Science* 2002, 30: 1471-1481.
- [21] Shargawi JM, Theaker ED, Drucker DB, MacFarlane T, Duxbury AJ: Sensitivity of *Candida albicans* to negative air ion streams. *Journal of Applied Microbiology* 1999, 87: 889-897.
- [22] Bore KW: *Survey of Semiconductor Physics*, New York, Van Norstrand Reinhold.
- [23] Brillas E, Mur E, Sauleda R, Sánchez L, Peral J, Domènech X, Casado J: Aniline mineralization by AOP's: anodic oxidation, photocatalysis, electro-Fenton and photoelectro-Fenton processes. *Applied Catalysis B: Environmental* 1998, 16: 31-42.
- [24] Alberici RM, Jardim WF: Photocatalytic destruction of VOCs in the gas-phase using titanium dioxide. *Applied Catalysis B: Environmental* 1997, 14: 55-68.
- [25] Ruane PH, Edrich R, Gampp D, Kell SD, Leonard RL, Goodrich RP:

Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrations using riboflavin and light. *Transfusion* 2004, 44: 877-885.

[26] Cui Z, Huang Y, Mo Q, Wang X, Qian K: Inactivation of lymphocytes in blood products using riboflavin photochemical treatment with visible light. *Photochem Photobiol* 2008, 84: 1195-1200.

[27] Makdoui K, Bäckman A, Mortensen J, Crafoord S: Evaluation of antibacterial efficacy of photo-activated riboflavin using ultraviolet light (UVA). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010, 248:207-212.

[28] Martins SAR, Combs JC, Noguera G, Camacho W, Wittmann P, Walther R, Cano M, Dick J, Behrens A: Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000, 49:3402-3408.

[29] Micelli FT, Leozappa M, Lorusso M, Epifani E, Micelli Ferrari L: *Escherichia coli* keratitis treated with ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking: a case report. *Eur J Ophthalmol* 2009, 19: 295-297.

[30] Zhan M: Determination of photochemically-generated reactive oxygen species in natural water. *J Environment Sciences* 2009, 21: 303-306.

Mini Review:

The Effect of Solar and Ultraviolet Radiation on Microbial Inactivation

Wang-Kun Chen¹, Jian-Wei Juen², Liang-Yu Chen², Yee-Jen Lee², Chia-Ching Wu² and Ji-Yuan Liang^{2*}

¹Department of Environment and Property Management, Jinwen University (New Taipei City, Taiwan, R.O.C.)

²Department Biotechnology, School of Health Technology, Ming-Chuan University, (Taoyuan, Taiwan, R.O.C.)

Abstract

Reactive oxygen species (ROS) can be produced by interactions between sunlight and water, such as photochemically decomposed reaction. These reactive intermediates as strong oxidants could induce the microbial inactivation . This study discusses the effects of solar and different ultraviolet radiation on the microorganisms. Besides, the ROS is generated from excited photocatalyst and photosensitizer by solar or ultraviolet radiation. The ROS photochemistry can be a good potential technology for maintaining the environmental quality.

Keyword: reactive oxygen species, solar, ultraviolet radiation, photocatalyst, photosensitizer

Corresponding author: Ji-Yuan Liang [liang121@mail.mcu.edu.tw]

Received 25 Sep 2011/Accepted 13 Nov 2011

MC-Transaction on Biotechnology, 2011, Vol. 3, No. 1, e5

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.