

Sterilisation von Bakteriensporen mittels UV-Strahlung

Dr. Halfmann, 27.11.08, Optence



Einleitung

Sterilisation mittels UV-Strahlung als viel versprechende Chance!

UV-Sterilisation als Alternative in der Lebensmittel- und Medizinbranche

- Etablierte Sterilisationsverfahren haben signifikante Nachteile
 - Cobalt 60 als Quelle für Strahlen-Sterilisation ist schwer zu be- und entsorgen
 - Ethylenoxid ist hoch explosiv und toxisch
 - Wasserstoffperoxid und Peressigsäure verbleiben als Verunreinigung
 - Autoklavieren zerstört moderne, temperaturempfindliche Materialien
- Durch VUV / UV-Strahlung bedingte Veränderungen sind oberflächlich
 - Reinigung der Oberfläche
 - Quervernetzung von Kunststoffen (UHMWPE)
 - Aktivierung der Oberfläche (z.B. für Beschichtungen)

Agenda

1. Experimenteller Aufbau
2. Mikrobiologische Methodik
3. Korrelation zwischen mikrobiologischer Auswertung und Plasma Diagnostik
4. Zusammenfassung



Experimenteller Aufbau

Doppelt induktiv gekoppelter Plasma Reaktor (DICP)

Entladungsgefäß

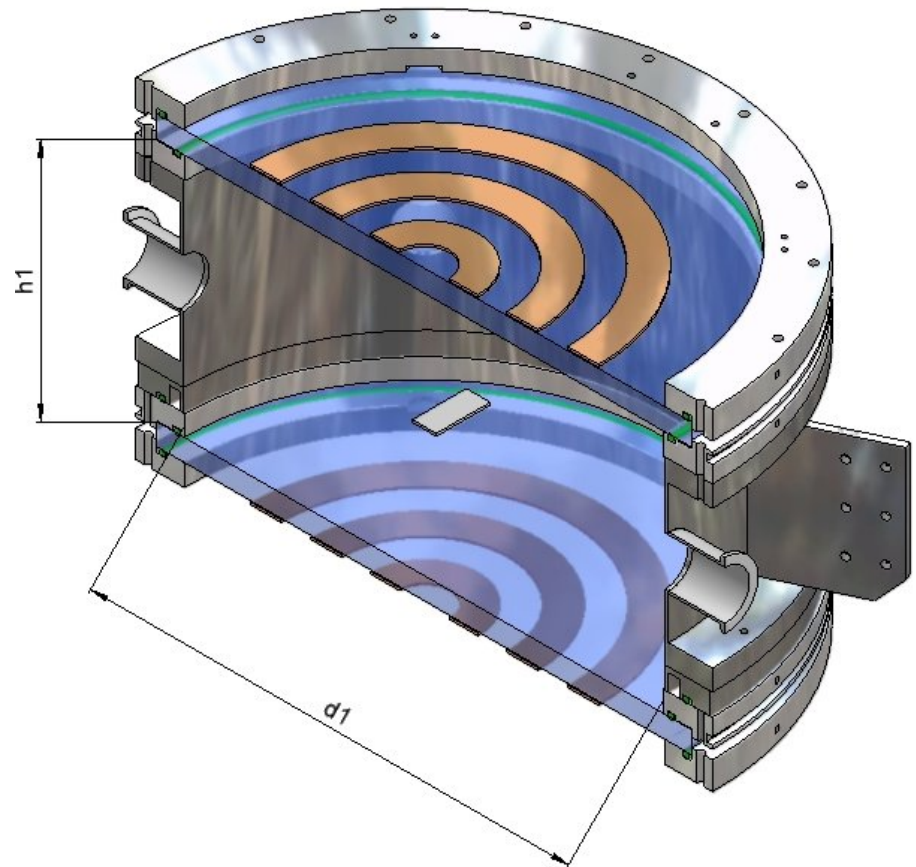
- Höhe: 20 cm
- Durchmesser: 40 cm
- Antennen: Kupferspulen
- Material: Edelstahl, Quarzglas

Quelle

- Sender: 13,56 MHz mit max. 5 kW
- Geregeltes Anpassnetzwerk

Entladungsparameter

- $P=500..1000$ W
- $p=5..20$ Pa
- Gasgemische aus Ar, H₂, N₂, O₂



Experimenteller Aufbau

(Plasma-) Diagnostik

Optische Emissionsspektroskopie

- Absolut kalibriertes VUV Spektrometer im Bereich $\lambda=115..225$ nm
- Absolut kalibriertes Echelle Spektrometer im Bereich $\lambda=200..800$ nm

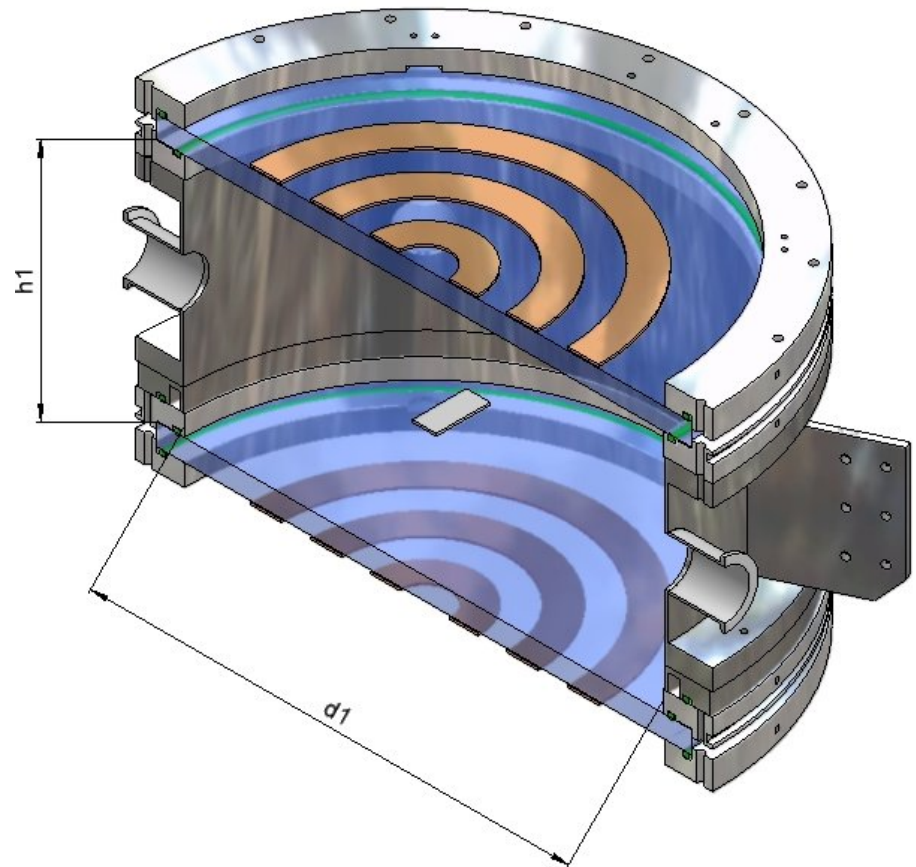
Langmuir-Sonde

Luxtron-Temperatur-Sonde

Rasterelektronenmikroskop

Tropfenanalyse

FTIR



Agenda

1. Experimenteller Aufbau
2. Mikrobiologische Methodik
3. Korrelation zwischen mikrobiologischer Auswertung und Plasma Diagnostik
4. Zusammenfassung



Mikrobiologische Methodik

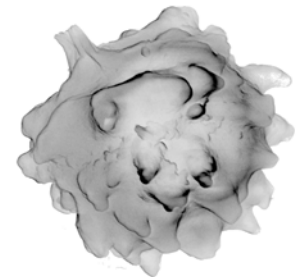
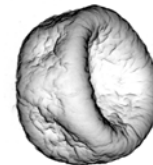
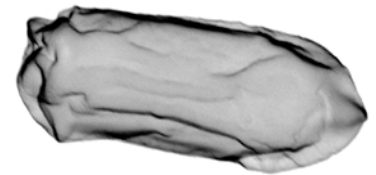
Kooperation mit dem Fraunhofer IVV, Freising

Objekte sind sporenbildende Bakterien und Pilze

- *B. atrophaeus* DSM 2277
- *Geob. stearothermophilus* DSM 22
- *A. niger* DSM 1957 und DSM 1988

Verkeimung erfolgt auf Glasobjektträgern

- monolagig gesprüht oder mehrlagig getropft
- 10^6 Sporen/cm² von *B. atrophaeus* und *Geob. stearothermophilus*
- 10^4 Sporen/cm² von *A. niger* DSM 1957
- 10^5 Sporen/cm² von *A. niger* DSM 1988



Mikrobiologische Methodik

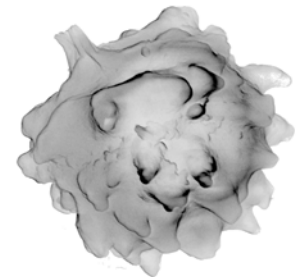
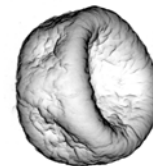
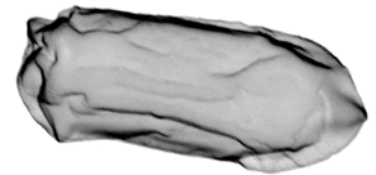
Kooperation mit dem Fraunhofer IVV, Freising

Auswertung

- Verdünnungsreihen auf Nährmedien
- Vergleich unbehandelter und behandelter Proben
- Ergebnis ist die logarithmische Reduktion R

$$R = \log\left(\frac{\text{KBE der unbehandelten Probe}}{\text{KBE der behandelten Probe}}\right)$$

- Der *dezimale Reduktionswert* D ist die Zeit in Minuten, die benötigt wird, um ausgehend von der Ausgangsverkeimung 90% der Mikroorganismen abzutöten.



Agenda

1. Experimenteller Aufbau
2. Mikrobiologische Methodik
3. Korrelation zwischen mikrobiologischer Auswertung und Plasma Diagnostik
4. Zusammenfassung



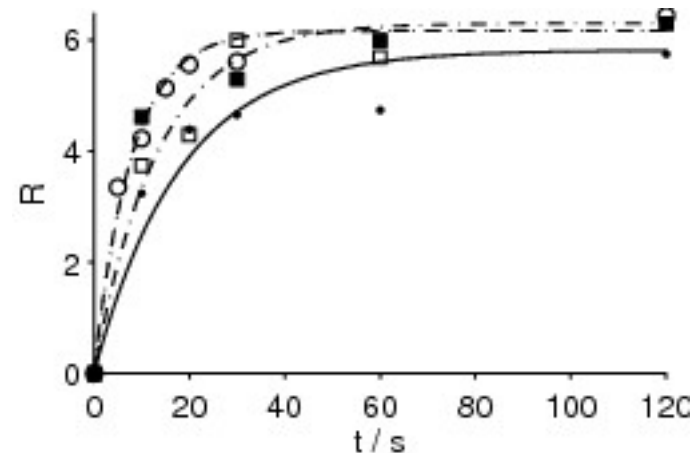
Ergebnisse der biologischen Auswertung

Zeitliche Abhängigkeit (Kinetik)

Zusammenfassend

- Nachweisgrenze bei *B. atrophaeus* Sporen erreicht für
 - Ar:H₂ und Ar:N₂ nach **40 s**
 - Ar:O₂ nach 60 s
 - Ar nach 100 s
- D-Werte
 - Ar:H₂ und Ar:N₂ **D=0.03 min**
 - Ar:O₂ D=0.05 min
 - Ar D=0.07 min

Daten für Ar (—, ●), Ar:H₂ (- - -, ■),
Ar:N₂ (···, ○), Ar:O₂ (-·-, □)
bei p=10 Pa und P=1000 W

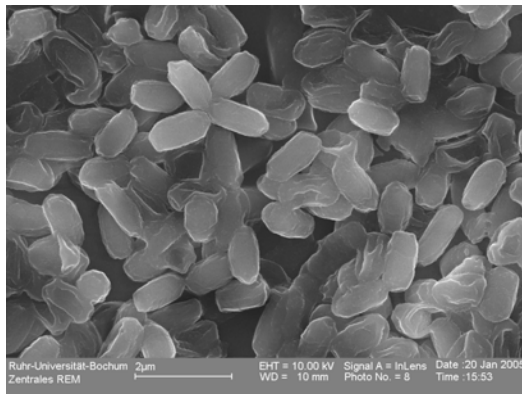


Ergebnisse der biologischen Auswertung

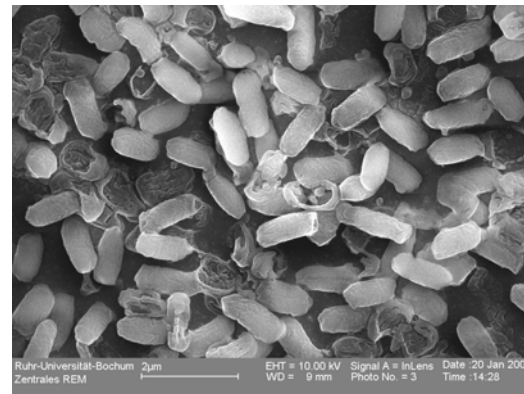
Mehrlagige Verkeimung

Zusammenfassend

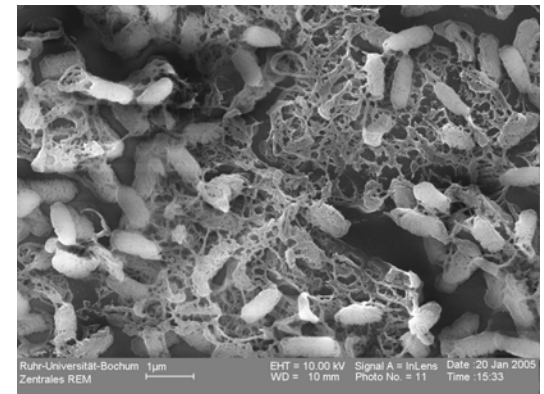
- Keine Erosion beim Erreichen der Nachweisgrenze bei monolagiger Verkeimung zu erkennen.



t=60 s



t=240 s



t=420 s

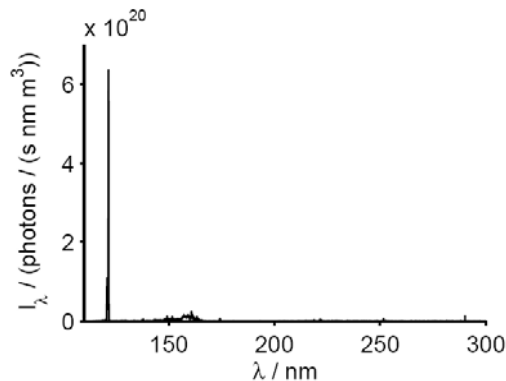
Ergebnisse der biologischen Auswertung

Korrelation zur optischen Emissionsspektroskopie

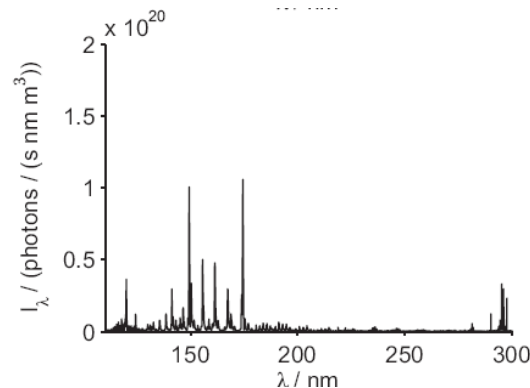
- Messung bei $p=10$ Pa, $P=1000$ W und verschiedenen Gasmischungen.

Zusammenfassend

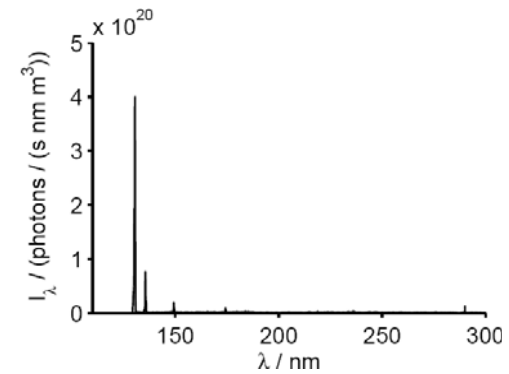
- Verschiedenen Gasmischungen führen zu unterschiedlichen spektralen Verteilungen und Intensitäten.



Ar:H₂



Ar:N₂



Ar:O₂

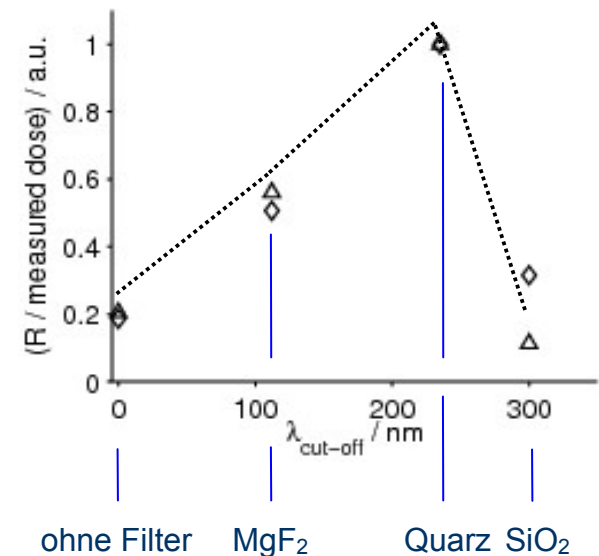
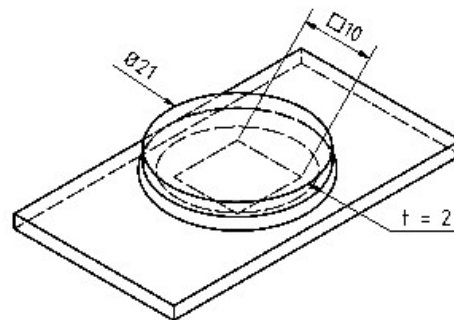
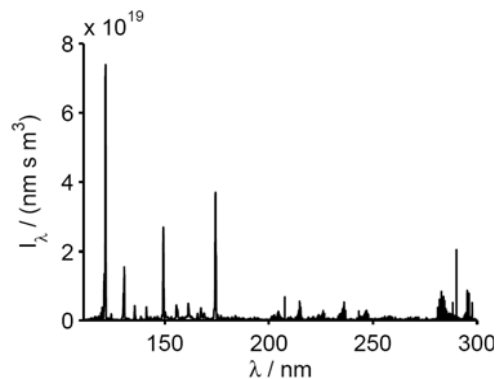
Ergebnisse der biologischen Auswertung

Wellenlängenabhängigkeit

- Verwendung von Hochpassfiltern
- Filter halten Spezies aus dem Plasma zurück.
- Behandlung bei Ar:N₂:O₂ (100:4:1), p=10 Pa und P=750 W

Zusammenfassend

- Für *B. atrophaeus* (\triangle) und *Geob. stearotherophilus* (\diamond) ist Strahlung im Bereich $\lambda \approx 235\text{-}300$ nm wichtig.

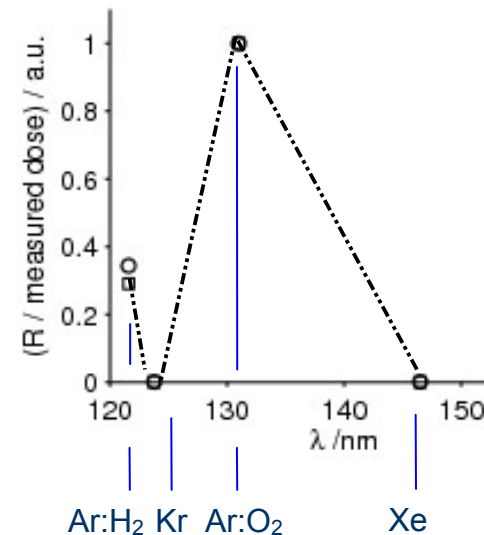
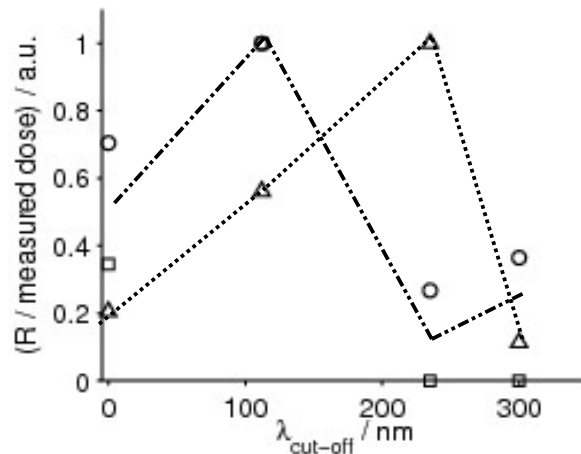


Ergebnisse der biologischen Auswertung

Wellenlängenabhängigkeit

Zusammenfassend

- Behandlung bei Ar:N₂:O₂ (100:4:1) zeigt, dass VUV-Strahlung zur Deaktivierung benötigt wird.
- Versuch mit verschiedenen Gasen / Gasmischungen zeigt die Sensitivität im VUV-Bereich.
- Für *A. niger* DSM 1957 (□) und DSM 1988 (○) ist Strahlung im Bereich $\lambda \approx 130-180$ nm mit einer Lücke bei $\lambda \approx 147$ nm wichtig.



Ergebnisse der biologischen Auswertung

Optimale Gasmischung

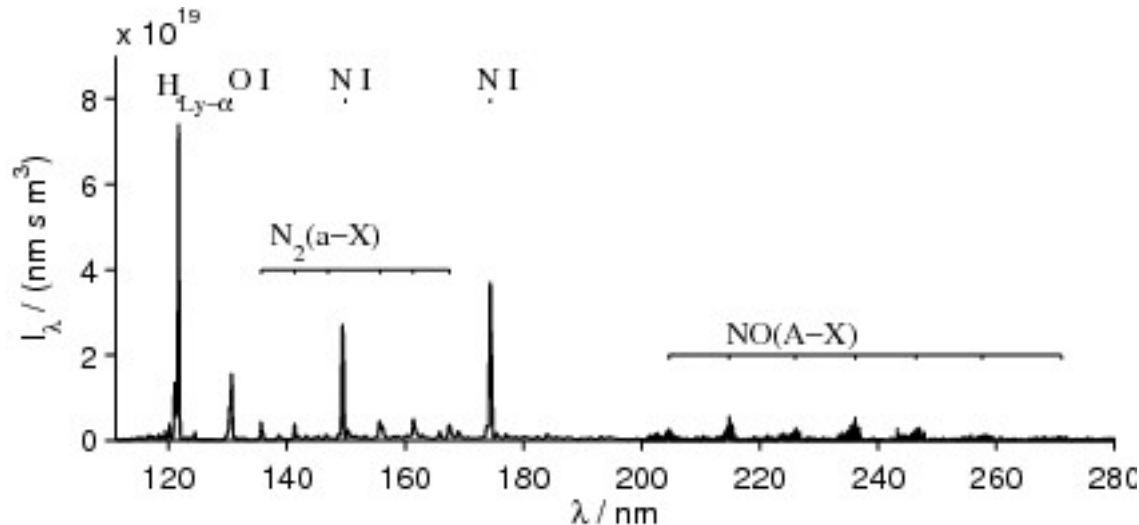
Zusammenfassend

- *B. atrophaeus* und *Geob. stearotherophilus* werden mit Strahlung im Bereich $\lambda \approx 235$ -300 nm abgetötet.
- *A. niger* DSM 1957 und DSM 1988 werden durch VUV Strahlung sterilisiert.



Strahlungsintensität im VUV und UV Bereich muss optimiert werden!

Optimum erreicht für Ar:H₂:N₂:O₂ (100:1,2:1,0:0,8).



Ergebnisse der biologischen Auswertung

Optimale Gasmischung

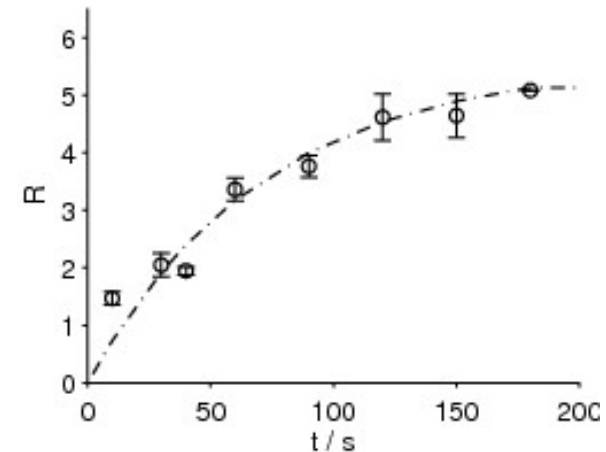
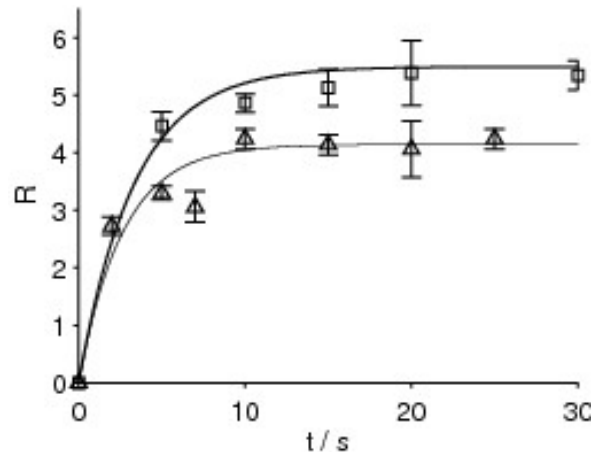
Zusammenfassend

- D-Wert für *B. atrophaeus* (\triangle)
- D-Wert für *A. niger* (\square) DSM 1957
- D-Wert für *A. niger* (\circ) DSM 1988

D=0.015 min (D=0.03 min)

D=0.019 min (D=0.05 min)

D=0.283 min



Agenda

1. Experimenteller Aufbau
2. Mikrobiologische Methodik
3. Korrelation zwischen mikrobiologischer Auswertung und Plasma Diagnostik
4. Zusammenfassung



Zusammenfassung

Korrelation der verschiedenen Diagnostiken ergibt:

- Erosion ist in der Niederdruckentladung ein vernachlässigbarer Sterilisationsprozess.
- Sterilisationsmechanismus in der Niederdruckentladung ist die Strahlung.
- Bakteriensporen werden durch Strahlung im Bereich 235 nm – 300 nm abgetötet.
- Pilzsporen reagieren auf Strahlung im Vakuum-UV bereich unterhalb 200 nm mit einem Maximum um 130 nm.

**Für den optimalen Sterilisationsprozess wird keimabhängig
UV und VUV Strahlung benötigt.**

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit.

Dr. Helmut Halfmann

h.halfmann@osram.de

