

# Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và tổ hợp ánh sáng đỏ-xanh lên quá trình diệt khuẩn bằng tia UVC

Huỳnh Trần Mỹ Hòa, Nguyễn Thanh Loan, Ngô Nguyên Vũ

Trung tâm VKTech, Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Đại học Nguyễn Tất Thành.  
 htmhoa@ntt.edu.vn

## Tóm tắt

Bức xạ cực tím (ultraviolet, UV), đặc biệt là bức xạ UVC (200-280) nm có tác dụng diệt khuẩn nổi bật vì trực tiếp tác động phá hủy cấu trúc DNA của vi sinh vật. Tuy nhiên, UVC không chỉ tác động đến tế bào vi sinh vật mà còn gây tổn thương đến tế bào người và các động vật khác khi tiếp xúc. Để tìm ra biện pháp giảm liều chiếu UVC nhằm hạn chế tác hại của nó, nhóm nghiên cứu đã khảo sát tác động ánh sáng LED xanh (460 nm), ánh sáng LED đỏ (630 nm) và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh lên quá trình diệt khuẩn bằng ánh sáng LED UVC (253 nm) với việc xử lý vi khuẩn bằng ánh sáng LED xanh hoặc đỏ hoặc ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh, sau đó tiếp tục xử lý vi khuẩn bằng tia UVC. Nghiên cứu cho thấy vi khuẩn *Staphylococcus aureus* nhạy cảm với tia UVC hơn *Escherichia coli*. Xử lý vi khuẩn trong dung dịch nước muối sinh lí, ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh có khả năng tăng cường hiệu quả của tia UVC đối với *S. aureus*, nhưng không có hiệu quả đối với *E. coli*. Xử lý vi khuẩn trên mặt thạch, ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh có khả năng làm tăng hiệu quả diệt khuẩn của tia UVC trên 2 chủng vi khuẩn khảo sát, trong khi xử lý với ánh sáng xanh và UVC chỉ có hiệu quả với *S. aureus*.

Nhận 12/09/2022  
 Được duyệt 27/10/2022  
 Công bố 02/11/2022

Từ khoá  
 Liệu pháp ánh sáng, đỏ-xanh, UVC, ánh sáng tổ hợp, diệt khuẩn

© 2022 Journal of Science and Technology - NTTU

## 1 Mở đầu

Bức xạ UV (bước sóng từ 100 nm đến 400 nm) là bức xạ điện từ được chia làm 4 vùng ánh sáng: UVA từ (315 đến 400) nm, UVB từ (280 đến 315) nm, UVC từ (200 đến 280) nm và vùng tử ngoại chân không từ (100 đến 200) nm. Trong các vùng tử ngoại thì UVC có khả năng diệt khuẩn tốt nhất, vì ở bước sóng từ (250 đến 270) nm là bước sóng hấp thụ mạnh mẽ và chủ yếu của acid nucleic vi sinh vật, gây tổn hại đến tế bào [1]. Tia UVC hình thành các dimer giữa các pyrimidine gần nhau trong mạch acid nucleic, tạo thành các dimer cyclobutane pyrimidine. Sự hình thành các dimer gây tổn thương về cấu trúc của DNA và RNA, dẫn đến sai lệch trong quá trình sao chép và gây chết tế bào. Tia UVC không chỉ tiêu diệt các vi sinh vật mà còn ảnh

hưởng đến tế bào của người và động vật theo cơ chế tương tự [2,3].

Liệu pháp quang động (Photodynamic Therapy, PDT) là một liệu pháp được ra đời hơn 100 năm, có khả năng giết chết vi sinh vật chỉ bằng sự kết hợp của ánh sáng nhìn thấy, chất nhạy quang (photosensitizers, PS) vô hại và oxi phân tử [4]. Ưu điểm của liệu pháp này là khả năng tiêu diệt chủng khuẩn kháng kháng sinh và không kháng kháng sinh là như nhau; và cho đến hiện tại vẫn chưa có báo cáo nào về khả năng kháng PDT của các vi sinh vật.

Khác với liệu pháp quang động, liệu pháp ánh sáng xanh diệt khuẩn sử dụng các PS có sẵn trong nội bào vi khuẩn, như porphyrin và flavin, có đỉnh hấp thụ cực đại lần lượt là (405 và 470) nm [5]. Các PS này bị kích thích bởi ánh sáng xanh dương (400-470) nm sẽ sản

sinh ra các gốc ROS và oxi phân tử kích thích, dẫn đến việc gây độc và làm chết tế bào [6].

Các khảo sát về khả năng diệt khuẩn của ánh sáng xanh cho thấy, ánh sáng xanh có thể tiêu diệt các loài vi khuẩn như *Propionibacterium acnes*, *Helicobacter pylori*, *Acinetobacter baumannii* [5], *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* [7]. Ánh sáng đỏ đã được chứng minh là không có hiệu quả khi chỉ sử dụng ánh sáng đơn lẻ mà không bổ sung thêm các chất nhạy quang [7]. Cho đến nay, các nghiên cứu về hiệu quả diệt khuẩn của các loại ánh sáng thường tập trung vào việc so sánh hiệu quả của các loại ánh sáng với nhau và vẫn chưa có nghiên cứu nào kết hợp ánh sáng đỏ với ánh sáng xanh, cũng như kết hợp các loại ánh sáng khả kiến với bức xạ UVC.

Với mục đích nghiên cứu để tìm ra biện pháp giảm thời gian chiếu UVC để hạn chế tác hại của nó, chúng tôi nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng khả kiến đến quá trình diệt khuẩn bằng bức xạ UVC, cụ thể là tác động ánh sáng LED xanh (460 nm), ánh sáng LED đỏ (630 nm) và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh (630 nm và 460 nm) lên quá trình diệt khuẩn bằng ánh sáng LED UVC (253 nm) đối với 2 chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*.

## 2 Vật liệu và phương pháp

**2.1 Phương pháp nuôi cấy và xác định mật độ vi khuẩn**  
Nghiên cứu khảo sát trên đối tượng là 02 chủng vi khuẩn: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922. Các chủng vi khuẩn được hoạt hóa trên môi trường thạch tryptic soy (TSA). Lấy một lượng vi khuẩn hòa tan vào trong dung dịch nước muối sinh lí để được giá trị  $OD_{600nm} = 0,07$  (tương đương mật độ vi khuẩn  $10^8$  CFU/mL). Sau đó pha loãng để đạt được mật độ cần thiết cho từng thí nghiệm.

### 2.2 Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu khảo sát tác dụng diệt khuẩn của đèn UVC LED (253 nm) và hệ đèn LED đỏ-xanh được cung cấp bởi trung tâm VKTech, Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT.

Với đèn UVC, cường độ  $64,9 \text{ W/m}^2$  thì mật độ năng lượng tương ứng với các mốc thời gian (20, 40, 80 và 160) giây lần lượt là (0,13; 0,26; 0,52 và 1,04)  $\text{J/cm}^2$ .

Đối với ánh sáng đỏ, cường độ  $15 \text{ W/m}^2$  mật độ năng lượng tương ứng với các mốc thời gian chiếu (1, 2 và 4) giờ lần lượt là (5,4; 10,8 và 21,6)  $\text{J/cm}^2$ .

Đối với ánh sáng xanh, cường độ  $86 \text{ W/m}^2$  thì mật độ năng lượng tương ứng với các mốc thời gian chiếu (1, 2 và 4) giờ lần lượt là (30,96; 61,92 và 123,84)  $\text{J/cm}^2$ .

Đối với ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh, cường độ  $101 \text{ W/m}^2$  thì mật độ năng lượng tương ứng với các mốc thời gian chiếu (1, 2 và 4) giờ lần lượt là (36,36; 72,72 và 145,44)  $\text{J/cm}^2$ .

### 2.3 Khảo sát khả năng diệt khuẩn của đèn UVC

Các chủng khuẩn khảo sát được pha loãng trong nước muối sinh lí để đạt mật độ xấp xỉ  $10^6$  CFU/mL. Sau đó, chiếu trực tiếp bức xạ UVC vào dung dịch chứa vi khuẩn ở các khoảng cách khác nhau (5, 10, 15, 20 và 25) cm và với các mốc thời gian (5, 10, 20, 40 và 80) giây. Mật độ vi khuẩn còn lại trong dung dịch sau khi chiếu đèn sẽ được xác định bằng phương pháp trải đĩa đếm khuẩn lạc. Nghiệm thức đối chứng của thí nghiệm là dung dịch chứa khuẩn có mật độ tương đương nhưng không được xử lí với đèn [7]. Từ đó, lựa chọn thông số công suất chiếu ánh sáng UVC phù hợp cho các khảo sát tiếp theo ở Mục 2.5 và Mục 2.6.

### 2.4 Khảo sát khả năng diệt khuẩn của ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh

Các chủng khuẩn khảo sát được pha loãng trong nước muối sinh lí để đạt mật độ xấp xỉ  $10^6$  CFU/mL. Sau đó, chiếu trực tiếp đèn LED đỏ ( $15 \text{ W/m}^2$ ) hoặc xanh ( $86 \text{ W/m}^2$ ) hoặc kết hợp đỏ-xanh ( $101 \text{ W/m}^2$ ) vào đĩa petri chứa dung dịch vi khuẩn, với thời gian chiếu lần lượt là (1, 2 và 4) giờ, nhằm để thay đổi mật độ năng lượng ánh sáng sử dụng xử lí khuẩn. Mật độ vi khuẩn còn lại trong dung dịch sau khi chiếu đèn sẽ được xác định bằng phương pháp trải đĩa đếm khuẩn lạc. Nghiệm thức đối chứng của thí nghiệm là dung dịch khuẩn có mật độ tương đương, được để trong điều kiện tối với thời gian tương ứng [7].

### 2.5 Khảo sát khả năng diệt khuẩn bằng sự kết hợp tia UVC và ánh sáng đỏ hoặc xanh hoặc đỏ-xanh trong dung dịch nước muối sinh lí

Các chủng khuẩn khảo sát được pha loãng trong nước muối sinh lí để đạt mật độ xấp xỉ  $10^6$  CFU/mL. Sau đó, chiếu trực tiếp ánh sáng đỏ ( $15 \text{ W/m}^2$ ) hoặc xanh ( $86 \text{ W/m}^2$ ) hoặc kết hợp đỏ-xanh ( $101 \text{ W/m}^2$ ) vào đĩa nhựa petri chứa dung dịch vi khuẩn với thời gian (1, 2, 4) giờ, tương tự như tiến hành thực nghiệm ở Mục 2.4.

Sau khi xử lí với đèn đỏ hoặc xanh hoặc đỏ-xanh, đĩa petri chứa dung dịch khuẩn tiếp tục được xử lí với đèn UVC ( $64,9 \text{ W/m}^2$ ) với các mốc thời gian là (0, 20, 40, 80 và 160) giây. Mật độ vi khuẩn còn lại trong dung

dịch sau khi xử lí qua mỗi giai đoạn sẽ được xác định bằng phương pháp trải đĩa đếm khuẩn lạc. Nghiệm thức đối chứng của thí nghiệm là dung dịch chứa khuẩn có mật độ tương đương, được để trong điều kiện tối với thời gian tương ứng hoặc chỉ xử lí với đèn UVC với công suất và các mốc thời gian như trên.

2.6 Khảo sát khả năng diệt khuẩn bằng sự kết hợp tia UVC và ánh sáng đỏ hoặc xanh hoặc đỏ-xanh trên đĩa thạch

Các chủng khuẩn khảo sát được pha loãng trong nước muối sinh lí để đạt mật độ  $10^5$  CFU/mL. Sau đó nhỏ lên đĩa thạch môi trường dinh dưỡng các giọt khuẩn với thể tích 5  $\mu$ L. Đĩa chứa các giọt khuẩn sẽ được sử dụng để chiếu đèn đỏ hoặc xanh hoặc đỏ-xanh, thời gian và công suất tương tự như thí nghiệm ở Mục 2.5. Tiếp đến, đĩa thạch sẽ được xử lí với đèn UVC với thời gian lần lượt là (0, 20, 40, 80 và 160) giây. Đĩa thạch sau khi được chiếu đèn UVC sẽ được ủ ở 37  $^{\circ}$ C, đọc kết quả sau (18-24) giờ. Nghiệm thức đối chứng là đĩa có các giọt khuẩn được để trong tối tương đương với thời gian xử lí đèn đỏ-xanh, sau đó được xử lí đèn UVC và đọc kết quả sau (18-24) giờ ở 37  $^{\circ}$ C.

2.7 Phương pháp phân tích dữ liệu

Các biểu đồ và sự khác biệt giữa tác động các loại ánh sáng đến tỉ lệ vi khuẩn sống sót được thực hiện bằng phân tích phương sai two-way ANOVA bởi phần mềm GraphPad Prism 8.4.2. Dữ liệu được ghi nhận dựa trên 3 lần lặp lại, dữ liệu thể hiện bằng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn. Tỉ lệ sống sót của vi khuẩn được tính dựa trên công thức:

$$\text{Tỉ lệ sống sót (\%)} = (M_1 / M_0) \times 100$$

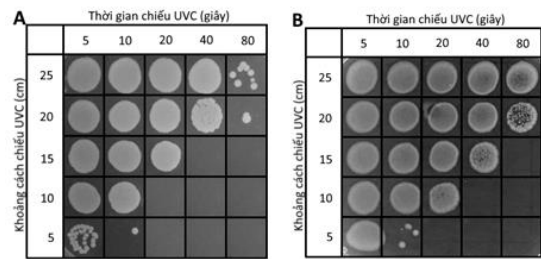
Trong đó:

$M_1$  là mật độ vi khuẩn tại mốc khảo sát (CFU/mL)

$M_0$  là mật độ ban đầu (CFU/mL)

3 Kết quả

3.1 Khả năng diệt khuẩn của đèn UVC

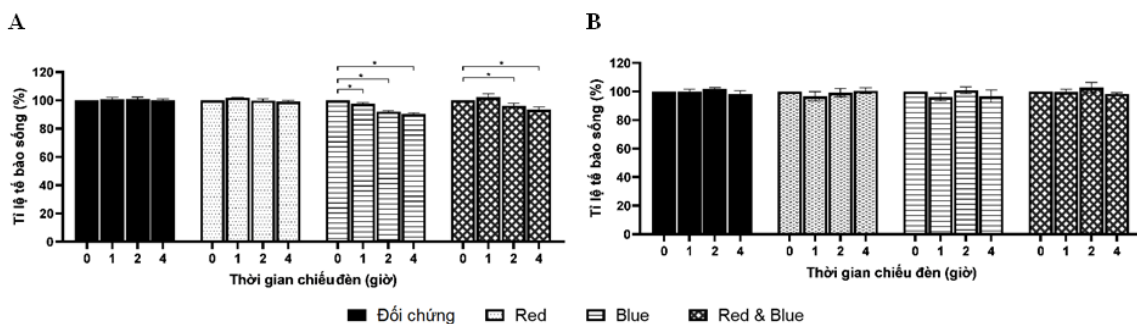


Hình 1 Checkerboard thể hiện mối tương quan giữa khoảng cách và thời gian chiếu đèn UVC.

(A) Đối với *S. aureus*. (B) Đối với *E. coli*.

Dựa vào Hình 1 có thể thấy rằng công suất chiếu UVC (thể hiện qua sự thay đổi khoảng cách từ đèn đến mẫu) và thời gian xử lí bằng tia UVC có sự tương quan với nhau. Hiệu quả diệt khuẩn càng tăng khi mật độ ánh sáng sử dụng chiếu khuẩn tăng lên (hay liều chiếu sáng tăng lên). Với cùng một công suất chiếu sáng, mật độ năng lượng ánh sáng UVC sử dụng sẽ tỉ lệ thuận với sự thay đổi của thời gian chiếu sáng tương ứng. Đồng thời kết quả từ Hình 1 cũng cho thấy, tác động của tia UVC đến *S. aureus* mạnh hơn so với *E. coli*, thể hiện trực quan qua kết quả số khuẩn lạc được hình thành trên checkerboard tại ô khoảng cách 5 cm và thời gian chiếu 5 giây; khoảng cách 20 cm và thời gian chiếu 80 giây; khoảng cách 25 cm và thời gian chiếu 80 giây.

Kết quả trên cho thấy, khoảng cách 20 cm tính từ đèn LED đến mẫu khảo sát (tương ứng với công suất chiếu UVC là 64,9 W/m<sup>2</sup>) là phù hợp và thuận tiện cho việc ghi nhận kết quả, nên chọn công suất 64,9 W/m<sup>2</sup> và các mốc thời gian chiếu đèn UVC là (0, 20, 40, 80 và 160) giây, tương ứng với liều chiếu là (0,13; 0,26; 0,52 và 1,04) J/cm<sup>2</sup> cho các thí nghiệm tiếp theo.



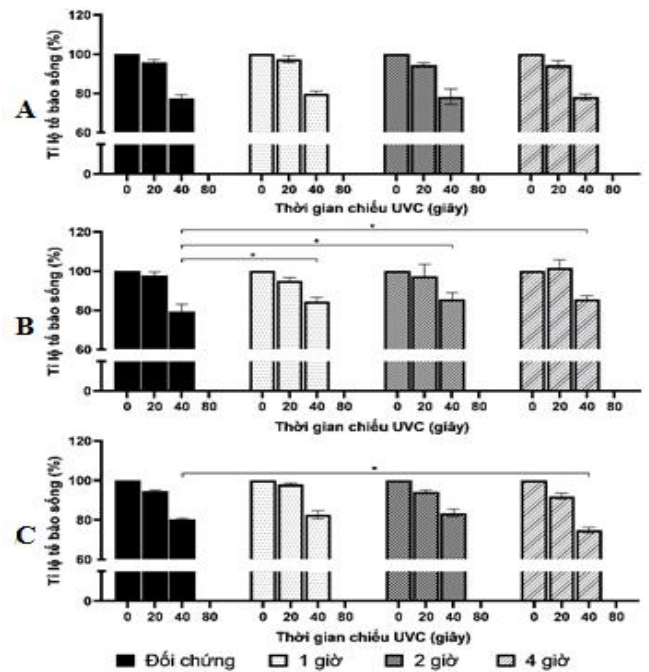
Hình 2 Biểu đồ thể hiện sự thay đổi mật độ qua thời gian khi được xử lí với đèn đỏ hoặc xanh hoặc đỏ-xanh. (A) Đối với chủng *S. aureus*. (B) Đối với chủng *E. coli*. (\*) thể hiện giá trị P < 0.05, phân tích two-way ANOVA.

3.2 Khả năng diệt khuẩn của đèn đỏ, xanh và đỏ-xanh  
 Đối với chủng vi khuẩn *S. aureus*, sau 4 giờ chiếu đèn đỏ, mật độ vi khuẩn thay đổi không đáng kể, trong khi đó ở nghiệm thức chiếu đèn xanh (SA-B) và chiếu tổ hợp đỏ-xanh (SA-RB) tỉ lệ sống sót của khuẩn giảm dần và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng không chiếu đèn.

Cụ thể ở nghiệm thức SA-B, tỉ lệ sống sót của vi khuẩn giảm dần qua các mốc thời gian (1, 2 và 4) giờ và đều khác biệt có ý nghĩa so với tỉ lệ vi khuẩn không được chiếu đèn ở cùng mốc thời gian. Còn đối với nghiệm thức SA-RB, hiệu quả diệt khuẩn của ánh sáng tổ hợp không bằng nghiệm thức SA-B, tỉ lệ vi khuẩn bắt đầu sụt giảm sau 2 giờ được chiếu đèn và sau 4 giờ thì tỉ lệ vi khuẩn còn sống là 93,38 %, cao hơn so với nghiệm thức *S. aureus* được chiếu ánh sáng xanh 4 giờ (90,34 %). Nghiên cứu của Galo và cộng sự đã cho thấy rằng, khi xử lí khuẩn bằng ánh sáng xanh với liều chiếu 284,9 J/cm<sup>2</sup> và thời gian chiếu là 6 giờ chỉ ức chế được 75 % vi khuẩn *S. aureus* [7], do đó với liều chiếu 145,44 J/cm<sup>2</sup> thì khả năng ức chế 9,66% *S. aureus* có thể là do liều chiếu chưa đủ mạnh để đem lại hiệu quả cao. Và hơn nữa, Galo và cộng sự cũng đã so sánh hiệu quả ức chế vi khuẩn của ánh sáng xanh và ánh sáng đỏ và cho thấy chỉ ánh sáng xanh có tác dụng ức chế *S. aureus* và *P. aeruginosa* trong dung dịch nước muối sinh lí và cả môi trường nuôi cấy BHI, ánh sáng đỏ không có được hiệu quả đó cho dù có nâng cường độ lên đến 603,44 J/cm<sup>2</sup>. Kết quả của nghiên cứu này cũng tương đồng với dữ liệu của Galo và cộng sự.

Còn đối với chủng vi khuẩn *E. coli*, tỉ lệ sống sau 4 giờ của vi khuẩn ở cả 3 nghiệm thức xử lí bằng ánh sáng đỏ (EC-R), ánh sáng xanh (EC-B) và ánh sáng kết hợp (EC-RB) dao động trong khoảng từ (95,47 đến 104,43) % cho thấy các loại ánh sáng khảo sát không có tác dụng trong việc làm suy giảm mật độ vi khuẩn *E. coli*, sự chênh lệch giữa các mốc nằm trong khoảng sai số của thí nghiệm. Tác giả Cieplik và cộng sự [8] đã xử lí *E. coli* bằng đèn LED xanh, kết quả cho thấy khuẩn *E. coli* không bị ảnh hưởng với liều chiếu là 150 J/cm<sup>2</sup> và kết quả trong nghiên cứu này cũng cho hiệu quả tương tự.

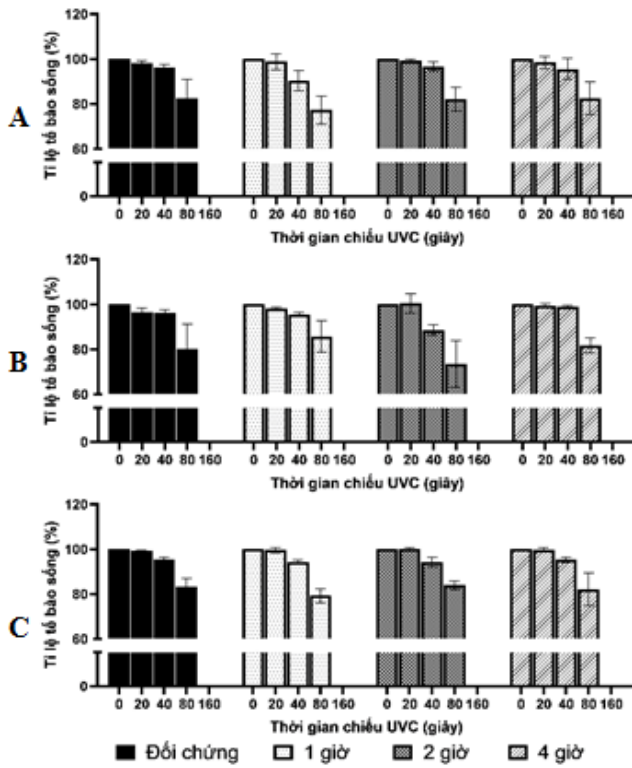
3.3. Khả năng diệt khuẩn của đèn UVC kết hợp với ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh trong dung dịch nước muối sinh lí



**Hình 3** Biểu đồ thể hiện sự thay đổi mật độ của chủng *S. aureus* khi được xử lí kết hợp UVC và ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh trong dung dịch nước muối sinh lí. (A) UVC kết hợp với ánh sáng đỏ. (B) UVC kết hợp với ánh sáng xanh. (C) UVC kết hợp với ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh (\*) thể hiện giá trị  $P < 0,05$ , phân tích two-way ANOVA.

Hình 3 cho thấy tỉ lệ vi khuẩn *S. aureus* ở tất cả các nghiệm thức đều giảm dần qua các mốc thời gian chiếu UVC. Sau 4 giờ xử lí bằng ánh sáng khả kiến và 40 giây xử lí với UVC, nghiệm thức SA-RB-UVC biểu diễn tỉ lệ khuẩn *S. aureus* còn sống là  $(74,95 \pm 1,38) \%$ , thấp hơn và là khác biệt có ý nghĩa so với tỉ lệ khuẩn *S. aureus* của đối chứng ở cùng mốc thời gian (tỉ lệ khuẩn còn sống là  $(80,33 \pm 0,6) \%$  (Hình 3C)). Như vậy, sự kết hợp chiếu sáng đỏ-xanh ở giai đoạn ban đầu đã hỗ trợ cho việc xử lí vi khuẩn *S. aureus* trong giai đoạn sử dụng tia UVC ngay sau đó.

Đối với khảo sát của chủng vi khuẩn *E. coli* trong môi trường lỏng, việc xử lí bằng ánh sáng khả kiến không hỗ trợ cho việc diệt khuẩn của đèn UVC. Dữ liệu ghi nhận được cho thấy tỉ lệ sống của *E. coli* ở trong các nghiệm thức xử lí bằng ánh sáng khả kiến không có khác biệt so với đối chứng chỉ được để trong điều kiện tối (Hình 4).



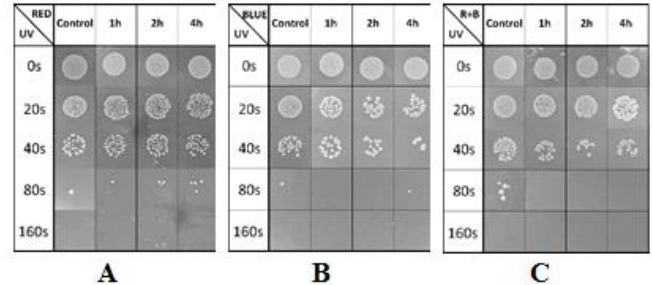
**Hình 4** Biểu đồ thể hiện sự thay đổi mật độ của chủng *E. coli* khi được xử lý kết hợp UVC và ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh trong dung dịch nước muối sinh lí. (A) UVC kết hợp với ánh sáng đỏ. (B) UVC kết hợp với ánh sáng xanh. (C) UVC kết hợp với ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh.

**3.4 Khả năng diệt khuẩn của đèn UVC kết hợp với ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh hoặc ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh trên mặt thạch**

Hình 5 thể hiện hiệu quả của sự kết hợp UVC và các ánh sáng đỏ, xanh, và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh đối với chủng vi khuẩn *S. aureus*. Cùng ở mốc thời gian 4 giờ xử lý bằng ánh sáng đỏ hoặc xanh hoặc đỏ-xanh và 40 giây chiếu UVC, các nghiệm thức kết hợp đều có ảnh hưởng đến tỉ lệ sống sót của vi khuẩn *S. aureus* (Giá trị  $P < 0,05$ ).

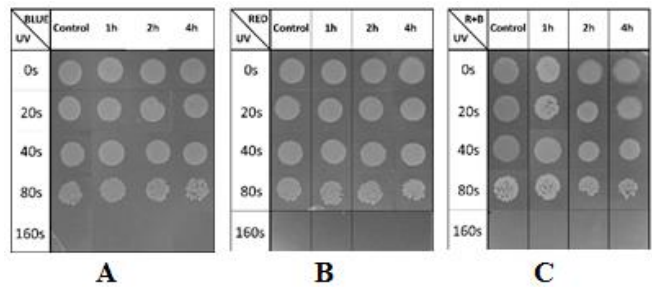
Tỉ lệ sống sót của vi khuẩn *S. aureus* sau 4 giờ xử lý ánh sáng khả kiến và 40 giây xử lý bằng UVC của nghiệm thức SA-B-UVC là  $(6,31 \pm 0,24)$  %, đây là tỉ lệ vi khuẩn còn sống sót thấp nhất tương ứng với hiệu quả diệt khuẩn cao nhất trong các nghiệm thức. Tiếp theo là nghiệm thức xử lý bằng đèn đỏ-xanh sau 4 giờ và 40 giây xử lý UVC SA-RB-UVC có tỉ lệ vi khuẩn sống sót là  $(32,81 \pm 1,83)$  %, sau đó đến nghiệm thức SA-R-UVC với thời gian xử lý đèn tương tự là  $(77,97 \pm 6,49)$  %; trong khi đó đối chứng không chiếu đèn ở cùng mốc

thời gian 4 giờ dao động trong khoảng từ  $(73,53$  đến  $108,2)$  %. Như vậy, có thể nói ánh sáng có hiệu quả hỗ trợ UVC tiêu diệt vi khuẩn *S. aureus* tốt nhất là ánh sáng xanh, ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh có khả năng hỗ trợ cho đèn UVC diệt khuẩn nhưng hiệu quả không tốt bằng.



**Hình 5** Hiệu quả diệt *S. aureus* của đèn UVC kết hợp với ánh sáng đỏ hoặc ánh sáng xanh hoặc tổ hợp đỏ-xanh trên đĩa thạch. (A) UVC kết hợp với ánh sáng đỏ. (B) UVC kết hợp với ánh sáng xanh. (C) UVC kết hợp với ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh.

Dựa vào hiệu quả diệt *E. coli* dưới sự tác động của đèn UVC và sự kết hợp của ánh sáng xanh hoặc ánh sáng đỏ hoặc ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh (Hình 6), kết quả ghi nhận được sau khi xử lý với ánh sáng khả kiến ở (1, 2 và 4) giờ và mốc 80 giây chiếu UVC, chỉ mỗi nghiệm thức EC-RB-UVC có khác biệt ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (giá trị  $P < 0,05$ ), còn 2 nghiệm thức EC-B-UVC và EC-R-UVC không có sự khác biệt. Điều này cho thấy sự kết hợp của ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh đã giúp cho hiệu quả diệt khuẩn *E. coli* của đèn UVC được tăng lên.



**Hình 6** Hiệu quả diệt *E. coli* của đèn UVC kết hợp đèn đỏ-xanh trên đĩa thạch. (A) UVC kết hợp với ánh sáng xanh. (B) UVC kết hợp với ánh sáng đỏ. (C) UVC kết hợp với ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh.

**4 Thảo luận**

Ánh sáng xanh dương bất hoạt vi khuẩn bằng cách tác động đến các thành phần quan trọng trong tế bào vi khuẩn thông qua việc tạo ra các gốc oxi hóa (ROS) tự

do khi các chất nhạy quang bên trong tế bào hấp thụ được ánh sáng xanh trong phổ từ (400-470) nm [9]. Liệu pháp ánh sáng xanh chính là cơ chế tạo nên hiệu quả của ánh sáng xanh đối với vi khuẩn *S. aureus* trong khảo sát này. Từ Hình 2, có thể thấy được ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh có xu hướng tương tự như ánh sáng xanh, tuy nhiên lại có hiệu quả thấp hơn một phần, có thể do sự cản trở của ánh sáng đỏ trong hệ đỏ-xanh.

Trong nghiên cứu này, khi *S. aureus* bị xử lý với ánh sáng xanh thì các vật chất di truyền, protein, các con đường chuyển hóa vật chất, carbohydrate, các thành phần cấu tạo màng tế bào đều bị các chất nhạy quang nội sinh làm cho hư tổn. Việc này dẫn đến tế bào bị stress, yếu đi hoặc chết. Việc xử lý vi khuẩn bằng tia UVC khi chúng đang bị stress đã làm tăng hiệu quả diệt khuẩn. Hiệu quả hỗ trợ tia UVC tiêu diệt vi khuẩn *S. aureus* và *E. coli* của ánh sáng xanh và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh có tiềm năng để trở thành một giải pháp giúp giảm liều chiếu của tia UVC, hạn chế nguy cơ gây hại của tia UVC đến con người. Và đây cũng là nghiên cứu đầu tiên kết hợp ánh sáng khả kiến (cụ thể là ánh sáng đỏ và ánh sáng xanh) với bức xạ UVC.

Khi so sánh kết quả khảo sát từ Mục 3.3 và Mục 3.4 cho thấy rằng, môi trường sinh sống của vi khuẩn có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình xử lý chúng. Trong môi trường dung dịch, sự tổ hợp của ánh sáng đỏ-xanh chỉ có tác dụng đối với khuẩn *S. Aureus*. Đối với môi trường là bề mặt thạch dinh dưỡng, ánh sáng đỏ-xanh có tác dụng với cả khuẩn *S. aureus* và *E. coli*, mặt dù hiệu quả diệt khuẩn *E. coli* còn thấp hơn so với *S. aureus*. Như vậy, quá trình diệt khuẩn sử dụng tác nhân ánh sáng phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, từ bước sóng của ánh sáng sử dụng đến công suất, liều chiếu sáng và cả sự phân bố của vi khuẩn trong môi trường. Khi khuẩn được phân tán trên bề mặt thạch dinh dưỡng, chúng sẽ dễ dàng bị phơi sáng và chịu tác động của ánh sáng. Còn trong môi trường dung dịch, vi khuẩn có thể ẩn nấp xuống phía dưới làm cho ánh sáng không thể phát huy tối đa tác dụng. Kết quả này đóng góp ý nghĩa quan trọng cho việc thiết kế các thí nghiệm diệt khuẩn có sử dụng tác nhân ánh sáng.

Một số lưu ý: Kết quả ở khảo sát 40 giây chiếu UVC (Hình 3B và 3C) cho thấy ngược lại với kết quả tỉ lệ

sống sót vi khuẩn giảm ở nghiệm thức SA-RB-UVC khi xử lý vi khuẩn trong nước muối sinh lý, tỉ lệ sống sót sau 40 giây chiếu UVC của *S. aureus* tăng sau 4 giờ chiếu đèn xanh ( $85,66 \pm 1,80$ ) % so với đối chứng không xử lý với đèn xanh là ( $79,38 \pm 3,85$ ) %. Từ Hình 6 cho thấy, ánh sáng xanh không đem lại hiệu quả hỗ trợ cho UVC, trong khi đỏ-xanh lại hỗ trợ làm tăng khả năng diệt khuẩn đối với chủng *E. coli* với điều kiện xử lý trên bề mặt thạch. Từ các kết quả trên, có một số vấn đề cần được quan tâm: (1) trong xử lý khuẩn bằng liệu pháp ánh sáng, tùy thuộc vào bước sóng ánh sáng sử dụng và đặc tính sinh lý của loài khuẩn khảo sát, ánh sáng có thể tiêu diệt khuẩn nhưng cũng có thể làm cho khuẩn tăng khả năng đề kháng; (2) việc sử dụng từ hai loại bước sóng ánh sáng trở lên có thể xảy ra sự tương tác theo xu hướng làm tăng cường khả năng diệt khuẩn hoặc cản trở vai trò của nhau trong quá trình xử lý khuẩn. Đây là các vấn đề có ảnh hưởng rất nhiều đến ứng dụng trong thực tế. Trong định hướng nghiên cứu tiếp theo, sẽ tiến hành thêm các thí nghiệm khác nhau để làm sáng tỏ cơ chế xử lý khuẩn của từng ánh sáng riêng lẻ và sự tương tác khi sử dụng tổ hợp các tác nhân này.

## 5 Kết luận

Vi khuẩn *S. aureus* nhạy với các loại ánh sáng như UVC, ánh sáng xanh (460 nm) và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh (630 và 460) nm hơn so với *E. coli*. Việc chiếu kết hợp ánh sáng xanh hoặc ánh sáng đỏ-xanh với tia UVC giúp giảm liều chiếu của tia UVC, do đó ánh sáng xanh và ánh sáng tổ hợp đỏ-xanh có khả năng hỗ trợ cho quá trình diệt *S. aureus* và *E. coli* bằng tia UVC. Sự phân bố của vi khuẩn trong các môi trường khác nhau có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả diệt khuẩn của tác nhân ánh sáng.

## Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2021.01.018/HĐ-KHCN

## Tài liệu tham khảo

1. Conner-Kerr, T. A., P. K. Sullivan, J. Gaillard, M. E. Franklin, and R. M. Jones. (1998). "The Effects of Ultraviolet Radiation on Antibiotic-Resistant Bacteria in Vitro." *Ostomy/Wound Management* 44(10):50-56.
2. Sosnin, E. A., E. Stoffels, M. V. Erofeev, I. E. Kieft, and S. E. Kunts. (2004). "The Effects of UV Irradiation and Gas Plasma Treatment on Living Mammalian Cells and Bacteria: A Comparative Approach." *IEEE Transactions on Plasma Science* 32(4):1544-50. DOI: 10.1109/TPS.2004.833401
3. Dai, Tianhong, Gitika B. Kharkwal, Jie Zhao, Tyler G. St Denis, Qiuhe Wu, Yumin Xia, Liyi Huang, Sulbha K. Sharma, Christophe d'Enfert, and Michael R. Hamblin. (2011). "Ultraviolet-C Light for Treatment of Candida Albicans Burn Infection in Mice." *Photochemistry and Photobiology* 87(2):342-49. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2011.00886.x.
4. Dai, Tianhong, George P. Tegos, Timur Zhiyentayev, Eleftherios Mylonakis, and Michael R. Hamblin. (2010). "Photodynamic Therapy for Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infection in a Mouse Skin Abrasion Model." *Lasers in Surgery and Medicine* 42(1):38-44. DOI: 10.1002/lsm.20887.
5. Dai, Tianhong. (2017). "The Antimicrobial Effect of Blue Light: What Are Behind?" *Virulence* 8(6):649-52. DOI: 10.1080/21505594.2016.1276691.
6. Dai, Tianhong, Mark S. Vrahas, Clinton K. Murray, and Michael R. Hamblin. (2012). "Ultraviolet C Irradiation: An Alternative Antimicrobial Approach to Localized Infections?" *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 10(2):185-95. DOI: 10.1586/eri.11.166.
7. Galo, I. D. C., R. P. Prado, and W. G. Dos Santos. (2022). "Blue and Red Light Photoemitters as Approach to Inhibit Staphylococcus Aureus and Pseudomonas Aeruginosa Growth." *Brazilian Journal of Biology* 82:e231742. DOI: 10.1590/1519-6984.231742.
8. Cieplik, Fabian, Andreas Späth, Christoph Leibl, Anita Gollmer, Johannes Regensburger, Laura Tabenski, Karl-Anton Hiller, Tim Maisch, and Gottfried Schmalz. (2014). "Blue Light Kills Aggregatibacter Actinomycetemcomitans Due to Its Endogenous Photosensitizers." *Clinical Oral Investigations* 18(7):1763-69. DOI: 10.1007/s00784-013-1151-8.
9. Hadi, Joshua, Shuyan Wu, and Gale Brightwell. (2020). "Antimicrobial Blue Light versus Pathogenic Bacteria: Mechanism, Application in the Food Industry, Hurdle Technologies and Potential Resistance." *Foods* 9(12):1895. DOI: 10.3390/foods9121895.

### Investigation of the effect of red light, blue light and red and blue light combination on the disinfection process by UVC

Huynh Tran My Hoa, Nguyen Thanh Loan, Ngo Nguyen Vu  
VKTECH Research Center, NTT Hi-tech Institute, Nguyen Tat Thanh University  
htmhoa@ntt.edu.vn

**Abstract** Ultraviolet radiation (UV), especially UVC radiation (200-280) nm, has a strong bactericidal effect by directly destroying their DNA structure. UVC not only influences microbial cells but also damages human and other animal cells after exposure. To reduce the dosage of UVC radiation and limit its harmful effects, we investigated the impact of blue LED light (460 nm) and red LED light (630 nm) and the combination of red and blue LED light (red-blue) on the disinfection process by UVC LED light (253 nm). This study shows that *Staphylococcus aureus* was more sensitive to UVC than *Escherichia coli*. The irradiation of red-blue lights followed by UVC treatment exhibited a strong effect on *S. aureus* in the saline solution; however, this effect was not observed for *E. coli*. On the agar plate, the combination of red-blue increased the bactericidal efficacy of UVC light on both *S. aureus* and *E. coli* whereas blue light only enhanced UVC efficiency on *E. coli*.

**Key words** light therapy, red-blue, UVC, light combination, disinfection.