

# **TDK DOLGOZAT**

**Sasvári Mátyás**

**2021**

# ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



## Felületkezelő polimer festék antimikrobiális hatékonyságának vizsgálata

Készítette:

**Sasvári Mátyás**

V. évf. ao. hallgató

Témavezető:

**Dr. Kerek Ádám**

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, PhD-hallgató

**Budapest**

**2021**

## TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés.....	4
2. Irodalmi áttekintés .....	5
2.1 A fotokatalitikus anyagok felhasználási lehetőségei .....	5
2.2 A TiO <sub>2</sub> és ZnO, mint fotokatalitikus anyagok.....	8
2.3 A TiO <sub>2</sub> antibakteriális hatékonysága .....	9
2.4 A ZnO antibakteriális hatékonysága.....	13
2.5 Az ezüst fotokatalitikus aktiválódást befolyásoló hatása.....	14
3. Célkitűzések .....	16
4. Anyag és módszer.....	17
4.1 Előkészítés és mintavétel .....	17
4.2 Fényerősség és távolság vizsgálata.....	19
4.3 Szerves szennyezőanyag vizsgálata.....	20
4.4 Mechanikai behatás vizsgálata.....	21
4.5 Statisztikai módszer .....	21
5. Eredmények .....	22
5.1 Fényerősség és távolság vizsgálatának eredményei .....	22
5.1.1 CFU eredmények.....	22
5.1.2 Statisztikai elemzés.....	26
5.2 Szerves szennyezőanyag vizsgálatának eredményei .....	28
5.2.1 CFU eredmények.....	28
5.2.2 Statisztikai elemzés.....	29
5.3 Mechanikai behatás vizsgálatának eredményei .....	30
5.3.1 CFU eredmények.....	30
5.3.2 Statisztikai elemzés.....	31
6. Következtetések.....	32
7. Összefoglalás .....	34
8. Summary.....	35
9. Irodalomjegyzék .....	36
10. Köszönetnyilvánítás .....	41

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

CFU	Telepformáló egység ( <i>Colony Forming Unit</i> )
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrogén-peroxid
KCl	Kálium-klorid
MBC	Minimális baktericid koncentráció ( <i>Minimum bactericidal concentration</i> )
MIC	Minimális baktericid koncentráció ( <i>Minimum inhibitory concentration</i> )
MFC	Minimális fungicid koncentráció ( <i>Minimum fungicidal concentration</i> )
MRSA	Meticillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Meticillin-érzékeny <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	Nátrium-klorid
•OH	Hidroxilgyök
Ti	Titán
TiO <sub>2</sub>	Titán-dioxid
TSB	Tripton-szója tápleves ( <i>Tryptone soy broth</i> )
ROS	Reaktív oxigéngyökök ( <i>Reactive oxygen species</i> )
UV	Ultraibolya
ZnO	Cink-oxid
ZnS	Cink-szulfid

## 1. BEVEZETÉS

A COVID-19 járvány óta a fertőtlenítőszeres, a különböző felületkezelő, öntisztuló anyagok szerepe felértékelődött. Ezzel párhuzamosan a napjainkban zajló antibiotikum-rezisztens (AMR, *Antimicrobial Resistance*) baktérium törzsek szelekciója és terjedése komoly egészségügyi aggályokat vet fel. Ezek közül ki kell emelni olyan zoonotikus kórokozókat, mint az *Escherichia coli* (*E. coli*) enterohaemorrhagiát okozó törzsei, vagy éppen a meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA). Az állattartó telepeken a rezisztencia terjedése miatt a cél az antibiotikum felhasználás visszaszorítása, melynek egyik módszere a kialakuló szubklinikai és klinikai tüneteket okozó fertőzések ellen új, innovatív módszerek alkalmazása.

Erre a problémára kínálnak megoldást a félvezetők csoportjába tartozó fotokatalitikus vegyületek, azon belül is a leggyakrabban vizsgált titán-dioxid ( $\text{TiO}_2$ ), valamint cink-oxid (ZnO). Mindkét vegyület biokompatibilis, a szervezetre nézve biztonságos. A fotokatalízis által a sávszerkezetükből adódóan fényre reagáló nanorészecskék elektrokémiai változásokon keresztül különböző reaktív oxigén gyököket (ROS) szabadítanak fel, melyekre a mikroorganizmusok fehérjéi és lipidjei érzékenyek. Ennélfogva, a rendkívül reakcióképes ROS vegyületek a sejtmembrán károsítása révén képesek elpusztítani a kórokozókat. Ez a hatásmechanizmus csak az ultraviola (UV) fény intervallumán jön létre, azonban ezüst hozzáadásával módosítható a sávszerkezet, így már a látható fény esetén is létrejön a reakció, amivel lehetővé válik a technológia gazdaságos alkalmazása, akár nagyüzemi állattartásban is. A módszer lehetőséget ad a további állategészségügyi kiadások és környezeti terhelés csökkentésére is.

Kutatásunkban a nanorészecske szerkezetű  $\text{TiO}_2$ , ZnO, valamint ezüstből álló diszperz polimer festék hatékonyságát vizsgáltuk baromfi eredetű *E. coli* baktérium törzssel szemben, a fényerősség és a megvilágítás távolságának összefüggéseiben. Továbbá néztük, hogy az antibakteriális hatékonyságot hogyan befolyásolja a festékre felvitt szerves szennyezőanyag, valamint, hogy a mechanikai behatásokkal szemben milyen felületi stabilitást mutat a polimer.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Dékány és mtsai. 2014-ben *in vitro* vizsgálták a nanoezüst részecskékkel módosított  $\text{TiO}_2$  és  $\text{ZnO}$  tartalmú polimer vegyület MRSA, illetve egyéb levegőben is előforduló mikrobák elleni hatékonyságát. Egy üveglapra speciális, festékszóróval felvitt filmréteget hoztak létre a polimerből, majd az MRSA-t egy rétegben ráoltották, végül LED izzóval világították meg a fotokatalizátoros aktiválás céljából. Ezt követően elektronmikroszkóppal vizsgálták a bakteriális filmréteg csökkenését, ami a megvilágítás kezdete után egy órával volt megfigyelhető, két óra elteltével az MRSA 99,9%-a elpusztult. Ez a vizsgálat alátámasztotta a fotokatalizátoros aktivitással rendelkező nanorészecskék baktériumellenes hatékonyságát [1].

### 2.1 A fotokatalitikus anyagok felhasználási lehetőségei

Számos kutatás vizsgálja a fény hatására aktiválódó vegyületek felhasználási lehetőségeit [2, 3] elsősorban az öntisztító felületek [4], mint például textíliák [5], vagy antibakteriális felületek létrehozása céljából [6–8]. További alkalmazási lehetőség lehet implantátumok biztonságosabbá tétele [9], szennyvízkezelés [10], illetve a gazdasági használatok gázemissziója okozta szaghatás csökkentése [11]. A fotokatalitikus nanorészecske szerkezet hatékonysága ma már bizonyos, azonban kihívást jelent a vegyületek megfelelően stabil módon történő felvitele a felületre.

Az egyik probléma az aktiváláshoz szükséges fényhullámhosszúság tartománya. A fotokatalitikus vegyületek közül a  $\text{TiO}_2$  aktiválásához UV-fény szükséges, azonban a cél az, hogy a látható fény hullámhosszúságán is bekövetkezzen az aktiválódás, ezért a kutatók különböző vegyületekkel próbálják meg módosítani az anyag elektrokémiai tulajdonságait. Asahi és mtsai. a nitrogénnel dópolt  $\text{TiO}_2$ -ot találták a leghatékonyabbnak erre, ugyanis ez megváltoztatta a  $\text{TiO}_2$  aktiváló fényhullámhosszúság sáv szélességét, így az aktiválódás már a látható fénytartomány 500 nm-es hullámhosszán bekövetkezett [12], Tahmasebizad és mtsai. leírták, hogy a  $\text{TiO}_2$  aktiválódása réz és nitrogén együttes dópolásával a látható fény hullámhossz tartományába tolódik [13], Tallósy és mtsai. 2014-ben megállapították, hogy a nanoezüst a  $\text{TiO}_2$  aktiválódására hasonlóan hat [1], egy 2015-ös tanulmányban a félvezető nanorészecskék jelentőségét támasztották alá [14], Tobaldi és mtsai. vizsgálataik során a  $\text{TiO}_2$  és ezüst nanostrukturás fotokrom vegyület látható fényre történő aktiválódását írták le [15], Magalhães és mtsai. a grafénnal történő dópolás aktivációs hullámhossz tartomány

eltolódását állapították meg [16], Alotaibi és mtsai. aeroszol formájában felvitt rézzel dópolt  $\text{TiO}_2$  esetén írtak le nagyobb fotokatalitikus aktivitást [17].

A másik probléma a vegyületek különböző felületeken történő stabilitásának a megőrzése volt. Erre speciális semleges bevonatokat, mint például a szilikátot lehet használni, ami nemcsak megakadályozza a kezelt felület károsodását, hanem az anyag leválását is gátolja [2]. Egy 2013-as kutatás során a stabilitás növelésére a különböző diszperz rendszerek, ún. nanokompozitok jelentőségét írták le [18]. Obregon és mtsai. a fotokatalitikus anyagokat elektroforetikus festési eljárással vitték fel a vizsgált felületre. Az elektroforetikus festés során egymást átfedő nanorészecskék formájában kerülnek fel a fotokatalitikus anyagok a felületre, ami egy olyan porózus nanoszerkezetet ad, amely a fényvel érkező fotonokkal nagyobb számban reagál. Azt tapasztalták, hogy a bevonat fotoreaktív tulajdonságai nagymértékben nőttek, valamint nagyobb hatékonyságot értek el öntisztító felületként [19].

A felületek öntisztító képességének hatékonyságmérését Minella és mtsai. vizsgálták. Méréseikben hét különböző színű fotokatalitikus anyagot (barit, goetit és  $\text{TiO}_2$ ) vizsgáltak metilénkékkel, rodamin-B-vel, valamint metanil-sárgával, ugyanis ennek a három festéknek a színe lefedi a látható fény teljes hullámhosszát. Azt tapasztalták, hogy az öntisztító képesség hatékonyságát bizonyító metilén-kék fő bomlástermékei a folyékony közegben történő bomlástól eltérően a szilárd-szilárd felület határán keletkeztek, mely ígéretes eredménynek számít a korábbi folyékony-szilárd fázishatár vizsgálatokkal szemben. Munkájuk során többféle festékanyag alkalmazásával az öntisztító képességű fotokatalitikus anyagok hatásbéli eltéréseire is rávilágítottak [4]. Pakdel és mtsai. kutatásuk során rávilágítottak a fotokatalitikus vegyület textíliákban történő felhasználási lehetőségére [5].

A cink-szulfid ( $\text{ZnS}$ ), mint fotokatalitikus nanokristályos anyag antibakteriális hatékonyságát Synnott és mtsai. vizsgálták beltéren, mely során 60 wattos izzót alkalmazva *S. auerus* és *E. coli* ellenes hatékonyságot írtak le. A szintetizált  $\text{ZnS}$  nanorészecskék kocka alakú rácsszerkezetet mutattak, átlagosan 4-6 nanométeres nagyságban, a fotokatalitikus aktivitás ennek a kristályszerkezet változásainak köszönhetően jött létre. Baktericid és bakteriosztatikus hatást egyaránt mutatott a vegyület, öt óra alatt a baktériumok 88%-a pusztult el [20]. Baek és mtsai.  $\text{TiO}_2$ -t és  $\text{ZnO}$ -t kombinálva szénalapú nanocsövekkel és grafén-oxiddal alkotott nanohibridjeit vizsgálták egy multirezisztens *E. coli* törzs ellen. A grafén-oxid alapú nanohibridek nagyobb diszperziót értek el a karbonalapúval szemben. A

négy nanohibrid közül a ZnO/grafén-oxid volt a legeredményesebb, 6 óra kezelési idő alatt 72%-os kórokozószám csökkenést ért el. A jelentkező antibakteriális hatást legnagyobb részben a keletkező ROS vegyületek okozták, de ezen kívül kimutatták, hogy a nanorészecskék grafén-oxid éles szélei felsértették a baktériumok sejtfalát [21].

Gao és mtsai. leírták, hogy a  $\text{TiO}_2\text{-B@anatase}$  nanodrótok alkalmazása a fotokatalízis révén hatékonyan távolítja el a szénhidrogén szennyeződések a titán (Ti) implantátum felületétől, úgy, hogy nem károsítja annak felszínét. Ugyanis, a Ti implantátumok felületi tisztasága rendkívül fontos, azonban elkerülhetetlenül szennyeződhet szerves anyagokkal, melyek gátolják a korai csontintegrációt. A fotokatalízist metilénkék bontásával tanulmányozták, a tisztító mechanizmust és sejtválaszt pedig morfológiai, sejtosztódási és differenciálódási vizsgálatokkal elemezték [9]. Szennyvízben lévő antibiotikum rezisztens *E. coli* fotokatalízissel történő inaktiválását tanulmányozták Rizzo és mtsai. Különböző megvilágítás mellett figyelték a  $\text{TiO}_2$  hatását, és megállapították, hogy a 250 Watt teljesítményű izzó használatával 10 perc alatt a baktériumok teljes mértékben eltűntek, még a napfény 60 perc alatt érte el ugyanezt a hatást [22]. A nem megfelelő hulladékfeldolgozás, és a nagymennyiségű gyógyszermaradványok miatt létrejövő antibiotikum rezisztens törzsek komoly egészségügyi kockázatot jelenthetnek a jövőben [23], így a fertőtlenítés és tisztítás fontos technológiai szereplője lehet a  $\text{TiO}_2$ . A használat tartás során keletkező kellemetlen szaghatás és gázemisszió mérséklése érdekében Lee és mtsai. gazdasági körülmények között vizsgáltak fotokatalitikus légtisztítási technikát. A mobil labor alkalmas volt 1,2 m<sup>3</sup>/s áramlású levegő  $\text{TiO}_2$  és UV-A gerjesztett fotokatalízissel történő kezelésére. Az eredmények azt mutatták, hogy az ammónia koncentrációja 9%-kal, a butan-1-ol pedig 34%-kal csökkent. A gázok lebomlásának mértéke nőtt, ha emelték a fényintenzitást és a kezelési időt [11].

Napjainkban fontos szempont, hogy környezetbarát technológiákat alkalmazzunk. Dikshit és mtsai. irodalmi áttekintésükben a nanovegyületek gyártása során használt ún. zöld szintézis módszeréről írtak. Ezzel elkerülhetők a káros és extrém gyártási körülmények, mérgező vegyi anyagok és adalékok alkalmazása. Számos növény és mikroorganizmus használható fel gyártás optimalizálás céljából energia- és költséghatékony, valamint környezetre biztonságos módon [24]. Bono és mtsai. áttekintő cikkükben arról írnak, hogy a COVID-19 járvány kórokozója – a légúti fertőzést kialakító koronavírus – felhívta a figyelmet a levegő útján terjedő mikrobákra. A vakcina és gyógyszerfejlesztés mellett a beltéri levegőben történő terjedés hatékonyabb megállításának innovatív technológiai



megoldásai lehetnek a fotokatalitikus aktivitással rendelkező nanoanyagok, mint például a  $\text{TiO}_2$ , melynek használata egyben minimalizálja az egészségkárosodást [25].

## 2.2 A $\text{TiO}_2$ és $\text{ZnO}$ , mint fotokatalitikus anyagok

Az egyik legszélesebb körben használt anyag a  $\text{TiO}_2$  [3, 26, 27]. A  $\text{TiO}_2$  egy olcsó [2], félvezető tulajdonságú vegyület, mely kifejezett baktericid hatással rendelkezik [28]. Fontos tulajdonsága, hogy más félvezetőkkel, illetve egyéb anyagokkal kombinálható, így az aktiváló fényhullámhossz kiterjeszhető a látható fény hullámhosszára [3]. A  $\text{TiO}_2$  gyakori kombinációs partnere a  $\text{ZnO}$ , mely szintén rendelkezik fotokatalitikus potenciállal [29], valamint sötétben is képes kifejteni hatását, bár ennek mechanizmusa még nem teljesen tisztázott [30].

Az oxidok közül a  $\text{TiO}_2$ -nak van a legjobb korrózióval szembeni ellenállóképessége, éppen ezért ígéretes vegyület fotoelektrodák készítéséhez, fotokatalízishez [31]. A  $\text{TiO}_2$ -nak többféle formája van, melyek közül felhasználás szempontjából legfontosabbak az anatáz és a rutil, melyek tetragonális kristályszerkezettel rendelkeznek [32]. Elsőként Fujishima és Honda írtak a  $\text{TiO}_2$  elektródákkal történő vízbontásról, ami a figyelmet a fotokatalízis terület felé irányította [33]. A fotokatalízis során a fényből származó fotonok gerjesztik a  $\text{TiO}_2$ -t, ennek következtében elektronvándorlás történik a vegyértéksáv, másnéven valenciasáv irányából a vezetési sáv felé, miközben elektron lyukak jönnek létre az előbbiben a [31, 34]. Az elektronok a jelenlévő oxigént képesek redukálni, így felszabadítva többek között szuperoxid aniont ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) és hidrogén-peroxidot ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), amelyek oxidálni képesek a szerves anyagokat. A pozitív töltésű lyukak vízzel reagálva hidroxil-gyököket ( $\bullet\text{OH}$ ) képeznek [34]. A tiltott sáv (band gap) szélessége, energiája határozza meg egy anyagról, hogy milyen a vezetési tulajdonsága. A tiltott sáv a vegyértéksáv és a vezetési sáv között található, mely a félvezető  $\text{TiO}_2$  esetében széles, így az elektronok nehezebben képesek a vegyértéksávból a vezetési sávba átjutni [35]. A  $\text{TiO}_2$  emiatt csak az UV tartományba (~400 nm) eső fényre reagál, amely azonban a napfénynek csak egy részét teszi ki, éppen ezért az aktiváló fényspektrum szélesítése kiemelt jelentőségű. Rehman és mtsai. cikkükben többféle módosítási eljárást is megfogalmaztak, mint a fém és nemfém általi dópolást, illetve a felület módosítását, például polimer érzékenyítéssel [36]. A dópolás során szennyezéssel – különböző anyagokkal módosítják a sáv szerkezetet, így változtatva a vezetési jellemzőket. Zaleska a dópolás többféle formájáról számol be, beleértve a nemfémes és fémes anyagok használatának lehetőségét is. A fémes dópolás során számos fémvegyületet választanak ki és adnak hozzá az eredeti anyaghoz, mely során az elektron-lyuk rekombinációt csökkentik

az elektron csapdázás jelensége révén. A nemfémes dópolás során három fő irányvonalat lehet megkülönböztetni: a tiltott sáv szűkítése, az oxigén hiányos állapot és az energiaszint módosítás [37]. Magalhães és mtsai. a dópolás egyik formájaként TiO<sub>2</sub>/grafén kompozitot vizsgáltak. A TiO<sub>2</sub> nanorészecskéket mikronagyságú grafénlemezekhez kötötték, ami így biztonságosabb a szervezetre nézve, hiszen nem szívódnak fel. A grafén ezenkívül kiválóan mozgósítja a töltéshordozókat, ezáltal gyorsítani képes a fotokatalízist. Ezüst, vagy arany részecskéket a kompozit felületére felhordva, speciális szerkezetüknek köszönhetően alkalmasak a nagyobb fényhullámhosszon, azaz a látható fényen történő fotokatalízisre [16].

Liu és mtsai. kutatásukban megállapították, hogy a fotokatalízis hatékonysága nagymértékben függ az ionizáltság mértékétől. Napelemekbe épített Ti nanocsöveket vizsgáltak, mely során a nanocsövek közötti sávokban létrejött egy speciális oxigénhiányos Ti<sup>3+</sup> ionállapot, ami magához vonzotta az elektronokat. Ebből arra következtettek, hogy az ionos Ti<sup>3+</sup> szignifikánsan nagyobb fotoaktivitást mutat, mint az egyszerű TiO<sub>2</sub> [38]. Li és mtsai. 10 nm-nél kisebb rutil TiO<sub>2</sub> nanorészecskéket szintetizáltak és vizsgálták a felületi jellemzőiket, mely során megállapítást nyert, hogy a kis mérettartomány és a jelentős számú felületi defekt nemcsak a vegyértéksávot tolja el – így szűkítve a tiltott sávot, hanem elősegíti a töltéshordozás szétválasztását is. Továbbá, ez a felhasználási mód elősegíti a Ti<sup>3+</sup>-ok kialakulását a fotokatalízis alatt, míg az ionok fokozzák a fotokatalízist [14].

Aktivitásnövelés lehetőségeként Perović és mtsai. a TiO<sub>2</sub> és többféle szűk tiltott sávval rendelkező félvezető heterojunctióját, vagyis heteroátmenetét vizsgálták, mely eltérő jellemzőkkel bíró félvezetők között, a határfelületen alakul ki. A heteroátmeneteknek három fő típusa van, melyek a két résztvevő anyag vezetési és vegyértéksáv energiájának minőségében különböznek. A heteroátmenetekkel eredményesen lehet lebontani gyógyszereket, a szén dópolat TiO<sub>2</sub>/volfrám-trioxid (WO<sub>3</sub>) bizonyos körülmények között 100%-ban eltávolítja a diklofenákot, míg a TiO<sub>2</sub>/vas-oxid (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 300 perc kezelési idő alatt képes az oxitetraciklin közel 80%-át elbontani [39]. Új alternatívát írtak le Yan és mtsai., akik speciális protonmentes körülmények között figyelték meg, hogy a TiO<sub>2</sub> eltérő elektrontranszfert és elektron csapdázást mutat, amely további információként szolgálhat a fejlesztésekhez [40].

### **2.3 A TiO<sub>2</sub> antibakteriális hatékonysága**

A TiO<sub>2</sub> működésének lényege, hogy a fotokatalitikus aktiválás következtében keletkező ROS vegyületek sejtmembrán károsítása révén pusztítja el a kórokozókat [1, 41,

42]. A fotokatalízis során felszabaduló elektronok reagálnak a  $\text{TiO}_2$  felszínén adszorbeált oxigénnel. A folyamat következményeként szuperoxo ( $\text{O}_2^-$ ) és peroxi gyökök ( $\text{O}_2^{2-}$ ), illetve a molekuláris oxigén disszociációja révén kialakuló szuperoxid anion ( $\text{O}_2^-$ ) keletkezik [43]. Ugyanakkor nemcsak ezek a kifejezetten reakcióképes ágensek képződnek, hanem hidroxilgyökök ( $\bullet\text{OH}$ ) és  $\text{H}_2\text{O}_2$  is, melyet Nosaka és mtsai. részletesen vizsgáltak. Leírták, hogy a  $\bullet\text{OH}$  csapdázott pozitív lyukként értelmezhető a szilárd-folyadék interfésznél, mely speciális egyensúlyi állapotban van. A lyukak a felületen adszorbeált, míg a  $\bullet\text{OH}$ -ök a folyadékban lévő anyagok oxidációjáért felelősek [44]. A különböző  $\text{TiO}_2$  formák, a rutil és anatáz eltérő fotokatalitikus aktivitással bírnak [45], az anatáz esetében magasabb a  $\bullet\text{OH}$  felszabadítás, ezzel szemben a rutilnak a  $\text{H}_2\text{O}_2$  generálása jelentős [46].

Az adszorpció fotokatalízisben betöltött szerepét Gogniat és mtsai. nézték, akik  $\text{TiO}_2$  baktericid hatását nátrium-klorid/kálium-klorid ( $\text{NaCl-KCl}$ ) és nátrium-foszfát oldatban tanulmányozták. Az eredmény azt mutatta, hogy a  $\text{NaCl-KCl}$  oldatban azonnal elkezdődött az *E. coli* baktériumok adszorpciója, míg a nátrium-foszfát oldatban ez később következett be. A baktériumok adszorpciója a  $\text{TiO}_2$ -hoz pozitív korrelációt mutatott a baktericid hatással, amely a sejtfal integritás elvesztése miatt jön létre [47]. Wu és mtsai. részletesen vizsgálták az *E. coli* fotokatalízissel történő inaktiválását. Fluoreszcens mikroszkóp és Live/Dead BacLight használatával megállapították, hogy a fotokatalitikus eljárás több helyen is membránkárosodást okozott a baktériumon. A scanning és transzmissziós elektronmikroszkópok használatával súlyos elváltozásokat detektáltak a sejt morfológiájában és belső struktúrájában a  $\bullet\text{OH}$  általi oxidatív stressznek köszönhetően [48]. Carré és mtsai. hasonló eredményre jutottak, akik szintén *E. coli* fotokatalízis általi eliminációját tanulmányozták, kiemelve a lipidekre és fehérjékre gyakorolt hatást. Malondialdehid mennyiségi meghatározásával és szuperoxid-dizmutáz alkalmazásával megfigyelték a lipid peroxidációt, és detektálták annak fő okozóját, a szuperoxid anion gyököt. A fehérjevizsgálatot kétdimenziós elektroforézissel végezték, mely kimutatta, hogy a sötétben és fényben is alkalmazott  $\text{TiO}_2$  kezelés hatására egyes vizsgált fehérjék eltűntek a vegyület citotoxikus hatásának köszönhetően [49].

Khan és mtsai.  $\text{TiO}_2$  és egy másik fotokatalitikum, a  $\text{ZnO}$  nanorészecskék szintetizálását és tulajdonságait kutatták két különböző *Streptococcus mitis* törzsön (ATCC 6249 és Ora-20). A  $100 \mu\text{g/ml}$  koncentrációjú  $\text{ZnO}$  nanovegyület használatát követően 99%-os telepformáló egység (CFU, Colony Forming Unit) csökkenést tapasztaltak mindkét törzs esetében, azonban a  $\text{TiO}_2$  megegyező koncentrációjakor a csökkenés csak 68%-os volt az

első és 79%-os a második törzs esetén. Az  $IC_{50}$  értékeket vizsgálva kijelenthető, hogy bár mindkét vegyület sikeresen gátolta a baktériumok szaporodását, a ZnO hatékonysága magasabb, mint a  $TiO_2$ -é, ezen kívül 26-83%-os szuperoxid-dizmutáz aktivitás növekedést is kimutattak [50]. A ZnO antimikrobiális mechanizmusa Siddiqi és mtsai. szerint azzal magyarázható, hogy a fény által gerjesztett nanorészecskés ZnO átdiffundál a sejtfalon és a citoplazmában interakcióba lép a fehérje és szénhidrát molekulákkal, inaktiválva azokat, illetve a hatásukhoz hozzájárul a ROS vegyületek felszabadítása is [51]. ZnO és  $TiO_2$  membránokra kifejtett hatását Sydor és mtsai. vizsgálták, melyben a membránmodellek különféle foszfolipid kompozitok (DOPC, DOPS és POPC), azaz liposzómák voltak. A modelleket  $TiO_2$  és ZnO nanorészecskékkel kezelték, a változásokat pedig fluoreszcenciás módszerrel mérték. Mindkét nanoszkópikus anyag dóziszfüggő permeabilitás növekedést okozott. A  $TiO_2$  és ZnO hatással volt a lipidek sorrendjére is, mely a lipidek feji régiójától, a nanorészecskék felületi töltésétől és a koleszterol jelenlététől függ [52].  $TiO_2$  fotokatalitikus baktericid aktivitásának mélyebb megértése érdekében Takao és mtsai. munkájuk során a bakteriális sejtfal összetevőjére, a peptidoglikán rétegre fókuszáltak. A vizsgálatban *Lactobacillus plantarum* baktériumok és protoplastjaik túlélési rátáit tanulmányozták, továbbá a sejtfallal nem rendelkező *Mesoplasma florum*-ot (*M. florum*) is nézték. Az intakt sejtek túlélési rátája kisebb volt, mint a protoplastoknak, de a protoplastok és a *M. florum* rátái között nem volt szignifikáns különbség. Az eredmények azt mutatták, hogy a peptidoglikán réteg jelenléte növeli a fotokatalízis baktericid hatását [53]. Rodríguez-González és mtsai. összefoglaló cikkében is a baktérium sejtfal sérüléseit írták le, melyet a ROS vegyületek és a fémrészecskék okoznak [42].

A  $TiO_2$  antibakteriális hatékonyságát Chen és mtsai. vizsgálták *E. coli* és *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) baktériumtörzsekre nézve. A laboratóriumi körülmények között végzett vizsgálat során megállapították, hogy a  $TiO_2$  baktericid hatással rendelkezik. Finomítatlan vízben 30 perc  $TiO_2$  kezelés és UV bevilágítást követően az *E. coli* 92,6%-ban, a *S. aureus* pedig 94,2%-ban inaktiválódott. Izoosmotikus folyadékban mindkét baktérium 100%-ban elpusztult 30 perc kezelés után. A fotokatalitikus sterilizáló hatás a világítás kezdetétől 24 óra elteltével is hatékonyan bizonyult [54]. Nakano és mtsai. *E. coli* és *S. aureus* mellett multirezisztens *Pseudomonas aeruginosa*-t (*P. aeruginosa*) is tanulmányoztak  $TiO_2$  kezelést követően, megfigyelték, hogy nagy hatékonysággal inaktiválódtak a Gram-pozitív baktériumok, a Gram-negatív baktériumok inaktiválása viszont hosszabb idő volt [55]. Ibrahim és mtsai. a  $TiO_2$  baktericid aktivitását mutatták ki,

melynek a mértéke *E.coli* esetében 97%-os, *S. aureus* esetében 95%-os csökkenés volt [56]. Korábban Mohl és mtsai. is kimutatták a TiO<sub>2</sub>-ről, hogy meticillin-érzékeny *S. aureus* (MSSA) és MRSA ellen is kiváló antimikrobiális hatással rendelkezik [57]. Shimizu és mtsai. karbon nanocsövek és TiO<sub>2</sub> kompozitjainak *E.coli*-val szembeni effektív deaktiválását állapították meg [58]. Janus és mtsai. leírták, hogy beton anyagába 10% tömegarányban kevert TiO<sub>2</sub> fotokatalitikum szignifikáns *E. coli* elleni antibakteriális hatást fejt ki, akár teljes mértékben képes volt elpusztítani azt [59]. Az 5%-os TiO<sub>2</sub>:Cu multifunkciós vékonyfilmmel kapcsolatban Alotaibi és mtsai. fogalmazták meg, hogy sikeresen képes *E. coli* és *S. aureus* elleni antibakteriális aktivitásra; továbbá bizonyítást nyert, hogy a rácsközi és szubsztitúciós réz nagymértékben növelte a vegyület fotokatalitikus hatékonyságát [17]. Liao és mtsai. áttekintő cikkében a Cu<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 60 perc alatt 100%-ban inaktíválta az *E. coli*-t [60]. A TiO<sub>2</sub>-ot ciprofloxacinnal, ezüsttel és chitosannal kombinálták, és az így megalkotott nanohibridet hatékonynak találták mastitist okozó multirezisztens *E. coli* ellen, ugyanis 6 óra kezelés után drasztikusan csökkent a kórokozó száma. Mindemellett a vegyület biokompatibilisnek bizonyult, ugyanis a vizsgált szarvasmarha tejmirigy-hámsejtek 93.08%-a a kezelést követően láthatóan ép maradt [61]. A TiO<sub>2</sub> borítás *E. coli*-val szembeni felhasználásának lehetőségét további kutatások támasztják alá [62, 63].

*Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) biofilm TiO<sub>2</sub> és UV-A fényvel történő 90 perces kezelést követően 3 logaritmus/CFU csökkenés következett be a baktériumok számában [64]. Bartomeuf és mtsai. nagyon vékony, 80-500 nm vastagságú fotoaktív réteget vizsgáltak *L. monocytogenes* baktérium ellen. Az eredmények azt mutatták, hogy 400 nm-es küszöbértékig jelentős a hatékonyságnövekedés, valamint a baktériumszámban szignifikáns csökkenés volt tapasztalható már 20 perc UV-A megvilágítást követően [65]. TiO<sub>2</sub> és ZnO, illetve ezek keverékeinek zeolittal támogatott kompozitjainak antimikrobiális hatását Azizi-Lalabadi és mtsai. többek között *L. monocytogenes* ellen tanulmányozták. A kezelés 24 órás időtartama alatt elért eredményeket a minimális gátló koncentráció (MIC, minimum inhibitory concentration) és a minimális baktericid koncentráció (MBC, minimum bactericidal concentration) tükrében vizsgálták. A TiO<sub>2</sub>/ZnO/zeolit kompozit *L. monocytogenes*-el szembeni MIC<sub>90</sub> érték 2 mg/ml volt, MBC értéke pedig 3 mg/ml volt [66].

Sun és mtsai. látható fényre reagáló TiO<sub>2</sub> komponenst alkalmaztak több *Bacillus* faj ellen, beleértve a *Bacillus anthracis*-t (*B. anthracis*). Megállapították, hogy a nanorészecskés kompozit 40-60%-os szignifikáns csökkenést okoz a vizsgált fajok számában, valamint a *B. anthracis* toxinjait is képes 90%-ban inaktíválni [67]. Toxinlebonthatást Kaminski és mtsai. is

kimutattak, akik kísérletben tisztított anatoxin-a, valamint *Dolichospermum flos-aquae* sejtek és ezek termékeinek UV-A és TiO<sub>2</sub> fotokatalízise során történő toxicitáscsökkenését és lebomlását vizsgálták. 30 percnyi kezelés után a Thamnotoxkit F<sup>TM</sup> teszt kimutatta, hogy a minta már nem mutat toxicitást; a nanovegyület a cyanobaktériumok és toxinjaik lebontásában is sikeres volt [68]. A TiO<sub>2</sub>-ot *Candida albicans* (*C. albicans*) elleni terápia részeként is fel lehet használni [69]. Kermani és mtsai. *C. albicans* esetén a nanorészecskés TiO<sub>2</sub> és ZnO antifungális és citotoxikus aktivitását vizsgálták az Amphotericin-B-hez hasonlítva. Az eredmények azt mutatták, hogy a vizsgált nanorészecskés vegyületek gombaellenes és citotoxikus potenciállal rendelkeznek a *Candida* fajok ellen. Összehasonlítva az amphotericin-B-vel azonban gyengébb a hatásuk, a minimális fungicid koncentráció (MFC, minimum fungicidal concentration) értéke amphotericin-B esetén 16-32 µg/ml, ezzel szemben a TiO<sub>2</sub> MFC értéke 256-512 µg/ml volt [70].

#### 2.4 A ZnO antibakteriális hatékonysága

ZnO nanorészecskék antibakteriális hatását szintén vizsgálták *E. coli* ellen, ZnO-t tartalmazó, illetve a vegyületet nem tartalmazó oldatokkal. A nanorészecskét tartalmazó oldat erős antibakteriális aktivitást mutatott a ZnO koncentrációval arányosan, 12 mmol/l koncentráción bakteriosztatikus hatást tapasztaltak. Scanning és transzmissziós elektronmikroszkóp használatával elemezték a baktériumok morfológiai és sejttösszetételében történt változásokat, amely bizonyította a ZnO baktériumellenes hatékonyságát [71]. A ZnO baktériumellenes aktivitását később Sirelkhatim és mtsai. [72], valamint Lallo da Silva és mtsai. is megerősítették, erősebb fotokatalitikus aktivitást és jobb biokompatibilitást írtak le a TiO<sub>2</sub>-hoz képest [73]. TiO<sub>2</sub> és ZnO részecskék felhasználásával készült nanokompozit antibakteriális hatását Chakra és mtsai. *E. coli* és *S. aureus* baktériumon vizsgálták. A kifejezett baktériumellenes hatáson kívül, az eredmények azt mutatták, hogy a két vegyület részecskéi szinergista módon hatnak [74]. Happy és mtsai. zöld szintézis útján előállított átlagosan 60-80 nanométeres, gömb alakú ZnO nanorészecskék antibakteriális hatékonyságát tanulmányozták. A ZnO nanovegyület dózisfüggő antibakteriális hatást mutatott *E. coli* ellen, az IC<sub>50</sub> érték 20 µg/ml volt [75]. A többretegű kompozitokkal kapcsolatban Gunputh és mtsai. kísérletükben leírták, hogy ha TiO<sub>2</sub> nanocsöveket antimikrobiális hatású ZnO réteggel vontak be, akkor a hatás megtartott egy utolsó nano hydroxyapatit réteg felvétele után is. A *S. aureus* baktérium elleni hatékonyságot élő/halott sejt szám meghatározása alapján vizsgálták. Az eredmények ismeretében leírták, hogy a ZnO és cink-klorid (ZnCl<sub>2</sub>) önmagukban is mikróbaellenesek

voltak 90% feletti hatékonysággal, valamint ez a hatás a nanocsövekre történő felvitel után is 70%-os maradt, ugyanis a legutolsó nano hydroxyapatit réteg felvétele után is megmaradt a felület érdessége és nanoszerkezete, [76]. Az ökoszisztéma fenntartása érdekében fontos szempont a környezetbarát technológia. Növényi alapú zöld szintetizálással előállított ZnO nanorészecskék antibakteriális aktivitását *E. coli* és *S. aureus* baktériumok ellen Naseer és mtsai. vizsgálták. *S. aureus* esetében a standard antibiotikumok 4-13 mm széles gátlási zónájával szemben, a ZnO nanovegyület 14-37 mm átmérőt ért el [77]. A környezetbarát, növényi kivonat segítségével szintetizált TiO<sub>2</sub> nanorészecskék biofilmellenes hatást gyakoroltak *Staphylococcus epidermidis* és *P. aeruginosa* baktériumokkal szemben [78].

Fontos megjegyezni, hogy a nanorészecskék túlzott mértékű felhasználása növeli a környezetbe történő kibocsátásukat, mely káros lehet az ökoszisztémára. ZnO-ot tartalmazó táppal etetett sertések bélrendszerében Ciesinksi és mtsai. jelentős mennyiségben, 28,9-30,2%-ban találtak multirezisztens *E. coli*-t, a kontrollcsoport 5,8-14%-ához képest [79]. Ali és mtsai. marhatrágyából izolált multirezisztens *E. coli* törzset vizsgáltak, mely képes volt gátolni a TiO<sub>2</sub> és ZnO antibakteriális hatását. A nanoanyagok toxicitásának csökkenését az AcrAB-TolC efflux-pumpa, és annak regulációs génjeivel sikerült elérniük, így a képződő ROS vegyületek mennyisége lényegesen kevesebb volt ebben a törzsben [80].

## **2.5 Az ezüst fotokatalitikus aktiválódást befolyásoló hatása**

Az ezüst és TiO<sub>2</sub> kombinálása növeli a fotokatalitikus aktivitást, ugyanis elektron csapdázással hatékonyan képes megakadályozni az elektron-lyuk rekombinációt [81, 82]. Ezüst használatával lehetővé válik a fotokatalízist létrehozni a látható fény hullámhosszán is, azáltal, hogy az elektron transzfert hatékonyabbá teszi [83]. Mindazonáltal, nemcsak növeli a fotokatalízist, hanem önmagában is antimikrobiális hatással rendelkezik, melyet Kim és mtsai. kutattak. A mikrobaellenes hatást élesztőgombán, *E. coli*-n és *S. aureus*-on tanulmányozták. Müller-Hinton agart használtak, melyhez különböző koncentrációjú ezüst nanorészecskéket adtak. Az élesztőgomba és *E. coli* növekedése már alacsony koncentráción is szignifikánsan csökkent a MIC értékek tekintetében, a gentamicint tartalmazó kontroll mintához képest. Bizonyítást nyert, hogy a nanoezüst részecskék felületéről a szabadgyök felszabadítás is szerepet játszik az antimikrobiális aktivitásban [84]. Li és mtsai. kimutatták, hogy Müller-Hinton levesben 10<sup>7</sup> CFU/ml koncentrációjú baktérium növekedését a 10 µg/ml koncentrációjú nanokeverék képes teljesen mértékben gátolni. Továbbá megállapítást nyert, hogy az ezüstrészecskék növelték a sejtfal áteresztő képességét, valamint előidéztek a légzési lánc dehidrogenáz enzimjeinek inaktív formába kerülését. Miután 10 µg/ml

koncentrációjú nanokeverékkel kezelték a baktériumokat, a membrán vezikulák szétszóródtak és feloldódtak, a membránkomponensek pedig szétrendeződtek, eredeti sorrendjük felbomlott. 50 µg/ml koncentrációjú kezelés után transzmissziós és scanning elektronmikroszkóppal lyukakat és réseket detektáltak a sejt falon, valamint töredezett sejthártyát figyeltek meg, mely a baktériumsejt sérüléseit jelezte [85]. A különböző módon előállított ezüstformákat és hatékonyságukat Sintubin és mtsai. írták le, akik biogén nanoezüst keveréket hasonlítottak össze a kémiai úton előállított nanoezüsttel és ionos ezüsttel. Az eredmények azt mutatták, hogy a kémiai úton előállított ezüst sokkal magasabbak MIC értékkel (500 µg/ml) rendelkezett, az alkalmazás közbeni aggregációnak köszönhetően. A legfontosabb hatásmechanizmusnak az ezüst ionok leadását találták [86]. Az ionos ezüst leadásának horderejét Dong és mtsai. is megerősítették, miután az alkalmazott Ti és ezüst kombináció sikeresen gátolta az *E. coli* növekedését, 24 óra kezelési idő alatt 100%-os hatékonysággal. A hatásmechanizmus azzal magyarázható, hogy a fém ionok képesek áthatolni a baktériumba és további károsodást okoznak a sejt fal foszfor és kén tartalmú alkotórészeiben. Az ezüst elektromos kettős rétegének antibakteriális hatását is vizsgálták. Ez azt jelenti, hogy a folyékony és szilárd közötti határfelület egy elektromos kettős réteg, a szilárd felől egy finomrétegnyi pozitív töltés, a folyékony felől egy finomrétegnyi negatív töltés található. Amikor ez az ezüst borítású Ti érintkezik a baktérium tartalmú folyadékkal, akkor ionos ezüstit alakul [87]. Egy összehasonlító vizsgálat során Gupta és mtsai. a standard nanorészecskékből álló TiO<sub>2</sub>-t hasonlították össze az ezüstrészecskével kezelt TiO<sub>2</sub> antibakteriális hatásával. A hatékonyságvizsgálat kimutatta, hogy az ezüsttel kevert TiO<sub>2</sub> 60 mg/ml koncentráció esetén képes volt a szaporodást 0%-ra csökkenteni, 80 mg/30 ml koncentrációban pedig képes elpusztítani a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, valamint az *E. coli* törzseket. Az ezüsttel kombinált TiO<sub>2</sub> 40 mg/30 ml koncentrációban *P. aeruginosa* vitalitását nullára csökkentette, míg a kontrollban ez a szám 80 mg/ml volt [88]. Cheon és mtsai. leírták, hogy nem elhanyagolható szempont a részecskék morfológiája sem. Számos ezüst nanorészecske alakváltozatot szintetizáltak, melyeket transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltak. Az eltérő formájú nanovegyületek antimikrobiális aktivitását *E. coli*, *S. aureus* és *P. aeruginosa* baktériumok ellen tanulmányozták. Lemezdifúziós teszttel detektálták, hogy a nanoanyagok koncentrációja hogyan befolyásolja az *E. coli* növekedési rátáját. A nanoanyagok közül a gömb alak érte el a legjobb eredményt, 4,8 mm szélességű gátló zónával, majd a lemez és trianguláris forma következett. A magyarázatot az adja, hogy az eltérő alakoknak más a felülete és eltérő módon adnak le ezüst ionokat [89].



### 3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja a nanoezüst részecskékkel módosított TiO<sub>2</sub> és ZnO fotokatalizátorokat tartalmazó felületbevonó polimer hatékonyságának vizsgálata volt állati eredetű *E. coli* baktériumon. A fényben lévő fotonok energiája által elindított bomlás során elektronok és szabadgyökök képződnek, melyek a közegben lévő molekulákkal kölcsönhatásba lépve reaktív szabadgyök vegyületekké alakulnak. A TiO<sub>2</sub> aktiválódása UV-fényhullámhosszon következik be, viszont a nanoezüst részecskék az aktiváló hullámhossz tartományát eltolják a látható fény tartományába. A vizsgálataink során különböző teljesítményű LED fényforrásokat teszteltünk, melyek esetén a fotokatalitikus aktiválódás 405 nm-es hullámhosszon következik be. A fotokatalízis által a TiO<sub>2</sub> és ZnO képesek antimikrobiális hatást kiváltani.

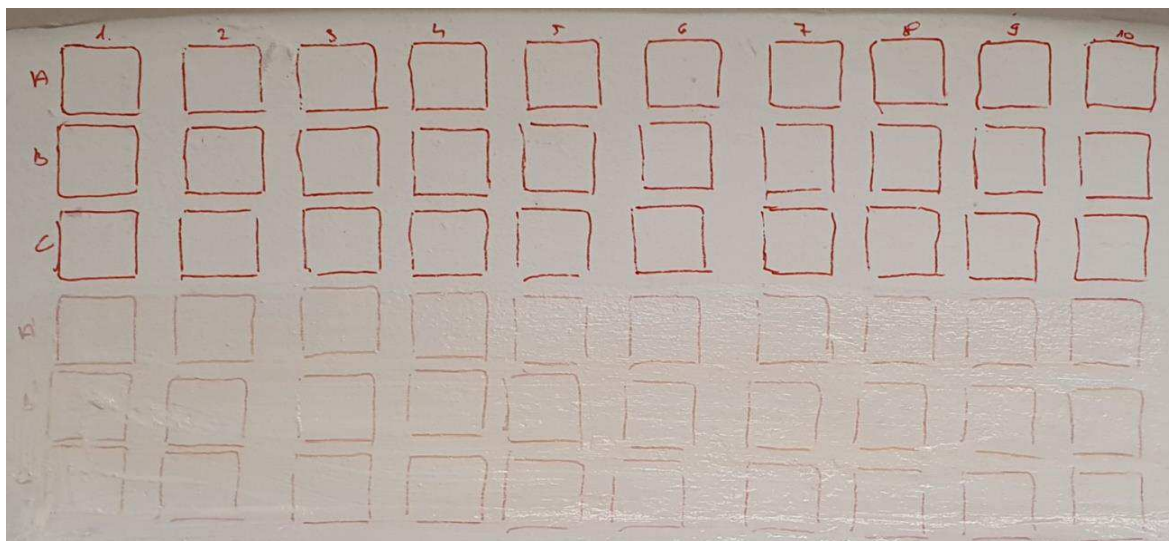
Tanulmányunk során különböző fényerősségű és távolságú beállításokat vizsgáltunk, annak felderítése érdekében, hogy az befolyásolja-e az antibakteriális hatékonyságot. Szerettük volna kideríteni, hogy a távolság és fényerő változtatása a polimer fotokatalitikus aktivitását módosítja-e, és ha igen, akkor milyen mértékben. A nullhipotézisünk az volt, hogy az egyes fényerősségek, valamint a távolságok baktérium redukáló képessége között nincs különbség. Ennek érdekében 36 beállítást teszteltünk, 6 eltérő fényerősségű izzót (4 W, 7 W, 9 W, 12 W, 18 W, 36W) 6 különböző távolságban (35 cm, 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm, 300 cm) kombinálva, minden egyes beállítás esetén 8 órán (480 perc) keresztüli behatási időt vizsgálva.

További célkitűzésünk volt, hogy megismerjük a szerves szennyezőanyagok, valamint a mechanikai tisztítás befolyásoló hatását a polimer antibakteriális hatékonyságára. Vizsgáltuk, hogy a polimerrel kezelt falfelületen a sertés bélsár – mint szerves szennyezőanyag, befolyásolja-e a polimer *E. coli*-val szembeni hatékonyságát. A nullhipotézisünk az volt, hogy a szerves szennyezőanyag nincs hatással a festék baktériumellenes aktivitására. A következő célkitűzés az volt, hogy megnézzük a vízszugárral és nagynyomású berendezéssel történő lemosás polimer működésére gyakorolt hatását. Ez esetben a nullhipotézis az volt, hogy sem a vízszugár, sem a nagynyomású lemosásnak nincs következménye a polimer kórokozóellenes hatékonyságára.

## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1 Előkészítés és mintavétel

A vizsgálatot a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék pincéjének két helyiségben végeztük, így minimalizálható volt az egyéb fényforrások vizsgálatot befolyásoló hatása. A helyiség meszelt falán az előzetes állapotfelmérés és makroszkópos szennyeződések (pókháló, törmelék) eltávolítása után alkalmasnak minősített 1x1 m-es területet jelöltünk ki, melyet vízszintesen kettéosztottunk. A mintavételhez szükséges 5x5 cm-es négyzeteket ezen belül rajzoltuk fel, alul és felül egyaránt 3-3 sorban (**1. ábra**). A felső 3 sort, mint kontroll felületet nem kezeltük polimerrel, ellenben az alsó 3 sort 50 ml szuszpenzió/felület/vizsgálat polimerrel kezeltük.



**1. ábra** Standard mintavételi felület 5x5 cm-es négyzetei, az A, B, C négyzetek a polimerrel nem kezelt, az A', B', C' négyzetek a polimerrel kezelt részek, mindkettő részre *E. coli* szuszpenziót kentünk. A mintavétel 10 időpontban történt, minden mintavétel 3+3 párhuzamos mintavételből állt (Készítette: Sasvári Mátyás)

A kedden, szerdán és csütörtökön végzett kísérletek esetén minden nap előtt délután történt a polimer festék felületre történő felvitele, így 15-16 óra telt el a kísérlet kezdetéig, ami alatt a diszperz festék a felületre kötött. A hétfőn végzett kísérlet esetén péntek délután vittük fel a festéket, ez esetben 68-69 óra telt el a kísérlet kezdetéig. A padlón a világításhoz szükséges távolságokat megfelelően lemértük és feliratoztuk. A megfelelő statisztikai elemzéshez szükséges mintaszám eléréséhez minden egyes mintavétel párhuzamosan három helyről történt. Minden polimerrel kezelt felületről vett párhuzamos három minta esetén a polimerrel nem kezelt felületről is párhuzamosan három mintát vettünk.

Az előzetes vizsgálatok elvégzéséhez referencia baktériumtörzsként ATCC *E. coli* baktériumtörzset (LGC ATCC-25922, FDA strain Seattle 1946 [DSM 1103, NCIB 12210],

Egyesült Királyság) használtunk. Az *E. coli* gazdasági használlataink esetén széles körben elterjedt és az egyik leggyakoribb megbetegedésekben szerepet játszó kórokozó, ezért a fényerősség és távolság, valamint mechanikai behatás vizsgálatok során baromfi eredetű *E. coli* törzssel dolgoztunk. A szerves szennyezőanyag hatásának vizsgálata során a baromfi eredetű *E. coli* réteget sertés eredetű bélsárral rétegeztük felül, mely a sertés természetes mikrobiomját tartalmazta.

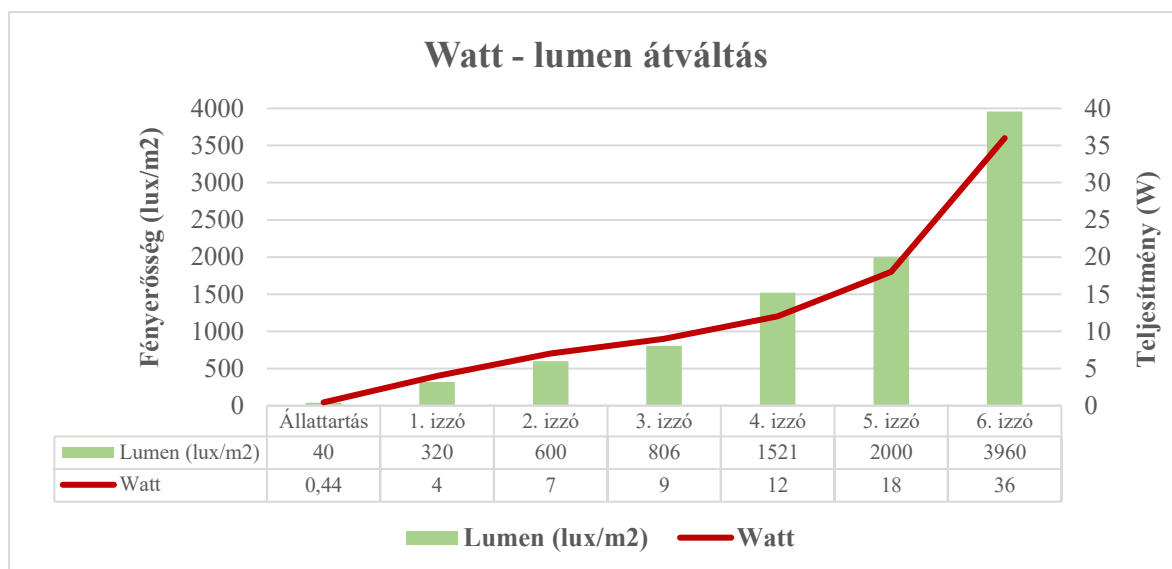
Az *E. coli* törzsoldat elkészítése a következő módon történt: az első alkalommal 400 ml tripton-szója (TSB) tápleveshez 3 db -80 °C-on *Microbank*<sup>TM</sup>-ban (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) tárolt *E. coli*t tartalmazó mikrogyöngyöt adtunk, majd 37 °C-on 18-24 órán át inkubáltuk termosztátban. A kedden, szerdán, csütörtökön végzett kísérlethez az előző napon megmaradt 100 ml szuszpenzióból 5 ml-t oltottunk át 400 ml TSB levesbe, majd 37 °C-on 18-24 órát inkubáltuk termosztátban. A hétfőn végzett kísérlethez a csütörtökön megmaradt 100 ml szuszpenzióból 3 ml-t oltottunk át 400 ml TSB levesbe, majd 37 °C-on 18-24 órát inkubáltuk termosztátban, ezt követően 2-8 °C-os hűtőhőmérsékleten tároltuk a hétfői napig. A törzsoldatból a polimerrel kezelt és nem kezelt felületre egyaránt 150 ml szuszpenzió/felület/vizsgálat mennyiséget vittünk fel. A két helyiségben a festék felvitelét normál lapos festőecsettel végeztük. Alaposan figyeltünk arra, hogy először mindig a kezeletlen felületet, majd azt követően a polimerrel kezeltet kenjük le, ezenfelül a két helyiség között az ecsetet folyóvíz alatt alaposan kimostuk, hogy megelőzzük a polimer rákerülését a nem kezelt részre.

Az előzetes vizsgálatok és tervezés során megállapítottuk, hogy legalább 480 percen (8 óra) keresztül érdemes mintát venni a falfelületről, ezalatt ugyanis a kontroll baktériumszám a legtöbb esetben nem csökkent jelentős mértékben. A mintavétel időpontjai és azok jelölése a következők voltak: *E. coli* felkenése előtt 00. perc, *E. coli* felkenését követően 0. perc, majd 15., 30., 60., 90., 120., 240., 360., 480. perc. A mintavételt COPAN (Copan Italia Spa, Brescia, Olaszország) steril mintavevő pálcával végeztük. A levett mintákat tripton-szója agart tartalmazó Petri-csészékre (90x14,2 mm, sugár sterilizált, bűtyök nélkül, Biolab Zrt., Budapest) oltottuk. A fényerősség és távolságok 36-féle kombinációja során összesen 2400 db mintavételt végeztünk egy hónap alatt. A mintákat 37 °C-os termosztátba helyeztük, majd a 18-24 óra inkubációs idő letelte után CFU számolást végeztünk. A CFU számolás során a következő módon jártunk el: 0-300 között megszámláltuk a pontos telepszámot, 300 felett pedig kétféle jelölést használtunk, amikor a Petri-csészében egész területre kiterjedő, szőnyegszerű (konfluens) növekedést

tapasztaltunk, akkor azt végtelennel ( $\infty$ ) jelöltük, ha pedig a baktérium a Petri-csészét nem teljesen, nötte be, akkor  $>300$  jelölést tüntettünk fel. Azért, hogy a statisztikai módszereknél számolni tudjunk a 300 feletti és konfluens értékekkel, és hogy grafikusán ábrázolni is lehessen az eredményeket, a  $>300$  jelölést egységesen 300 telepszámnak vettük, a  $\infty$  jelölést egységesen 1000 telepszámnak vettük.

## 4.2 Fényerősség és távolság vizsgálata

A kísérlet során szükséges világításhoz LED izzókat (V-TAC Innovative Led Lighting, Bulgária) használtunk. Mindkét helyiségben egy darab fényforrást helyeztünk el, majd a kísérlet kezdetétől számítva 8 órán keresztül világítottok meg a kijelölt felületet a megadott távolságból. A lámpatesteket normál hálózati feszültségű áramra (230 V) kapcsoltuk. A fényerősség kiválasztásánál a piacon elérhető választék meghatározó tényező volt. A vizsgálathoz 6 különböző teljesítményű izzót használtunk fel, melyek a következők voltak: 4 W, 7 W, 9 W, 12 W, 18 W és 36 W. Az izzók teljesítményét átváltottuk a fényáram mértékegységére, azaz lumenre ( $\text{lux}/\text{m}^2$ ). Az átváltást a  $\Phi_{\text{v(lm)}} = P_{\text{(W)}} \times \eta_{\text{(lm/W)}}$  képlettel végeztük, ahol P a teljesítmény, fényhatásfoknak pedig ( $\eta$ ) 90  $\text{lm}/\text{W}$  értéket vettük (**2. ábra**).



**2. ábra** A Watt–lumen mértékegységek átváltása különböző teljesítményű izzók esetén

A távolságok megválasztását arra alapoztuk, hogy az istállókban található fényforrások átlagosan az állattal érintkező felületek felett 2,5-3 méterrel helyezkednek el. Ezek alapján 6 különböző távolságot jelöltünk ki, a legkisebb 35 cm volt, majd 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm és végül 300 cm következett. A korábban leírtaknak megfelelően a padlón lemértük és jelöltük a távolságokat, hogy egyszerűen lehessen a kijelölt helyre mozgatni a lámpatestet tartó állványokat.

Mindegyik izzó és távolság használatakor külön figyelmet fordítottunk a falfelületre beeső fény legideálisabb beállítására, mely alapvető fontosságú a megfelelő kísérleti körülmények kialakításához. Ehhez a lámpatestek elhelyezkedésének magasságán és az lámpafej szögén kellett változtatni, hogy a felületre érkező fény beesési szöge közel azonos legyen. A kísérlet során összesen 36-féle beállítást vizsgáltunk.

### 4.3 Szerves szennyezőanyag vizsgálata

A kísérlet második részében került sor a szerves szennyezőanyag hatásának vizsgálatára. A vizsgálat célja az volt, hogy megállapítsuk, hogy a polimerrel kezelt falfelületen a sertés bélsár – mint szerves szennyezőanyag, befolyásolja-e a polimer *E. coli* ellenes hatékonyságát.

Szerves szennyezőanyagként friss sertés bélsarat (Szilfápusztai sertéstelep, Szilfás) használtunk. A beállítások kiválasztása során az istállókörülményekhez leginkább hasonló paraméterek voltak az elsődleges szempontok, ezért a két legkisebb teljesítményű izzó (4 W és 7 W) került kiválasztásra a legnagyobb távolságban (300 cm).



**3. ábra** A sertésbélsárral kezelt falfelület. Az ecseteket a polimerrel kezelt és nem kezelt részek között alaposan kimostuk (Készítette: Sasvári Mátyás)

A kísérletet megelőző nap délután friss sertés bélsarat hoztunk nagylétszámú sertéstelepről, majd azt éjszakára hűtőben (2-8 °C) tároltuk. Másnap délután az alsó polimeres falfelületet újrafestettük egy réteg polimer festékkal. A következő reggel felvittünk egy réteg *E. coli* szuszpenziót a törzsoldatból. Miután a baktérium szuszpenzió megszáradt, közepesen vastag rétegben felvittük a sertés bélsarat. Az egyenletes rétegvastagság érdekében ezt a folyamatot fokozott figyelemmel végeztük (**3. ábra**).

#### 4.4 Mechanikai behatás vizsgálata

A mechanikai behatás vizsgálat célja az volt, hogy megnézzük a diszperz festék stabilitását a falfelületen, tisztító behatásokat követően. A vizsgálat előtti nap délutánján felvittük a polimert a két helyiségben kijelölt területre, a megfelelő száradás idő elérésére érdekében. Másnap reggel az egyik helyiségben vízsugárral történő vízle mosást alkalmaztunk. A slagot a helyiségben lévő csapra rákötve, normál hálózati csapvíz-nyomással történt a felület lemosása, egyéb tisztító eszközt és vegyszert nem használtunk. A mechanikai behatás vizsgálat második részeként nagynyomású tisztító berendezés segítségével mostuk le a kijelölt festékekkel kezelt falrészletet. A lemosást követően, a falfelületek megszáradása után felvittük az *E. coli* szuszpenziót a felületekre.

Mindkét esetben csapvizet használtunk a lemosáshoz. A két módon történő mosást a felülettől azonos távolságból végeztük. A mechanikai behatás ideje a vízsugárral és nagynyomású berendezéssel végzett tisztításkor is kb. 15-20 másodperc volt. A vízsugárral történő lemosás hatását 7 Wattos izzóval, 300 cm-ről, a nagynyomású berendezéssel történő lemosás hatását pedig 4 Wattos izzóval, 300 cm-es távolságból vizsgáltuk.

#### 4.5 Statisztikai módszer

Az eredmények értékelése a sokféle változó miatt random forest módszerrel történt. A random forest egy olyan gépi tanulásban használt módszer, amely sok különböző döntési fát hoz létre. A numerikus változók esetén az eredmények átlagolásával kapjuk meg a végeredményt, a kategorikus változók esetén az algoritmus összeszámolja, hogy melyik eredmény volt a leggyakoribb. A döntési fák létrehozásához mindig csak a változók egy véletlenszerűen kiválasztott részét használja fel, így a különböző döntési fák eredményének kiátlagolásával pontosabb eredményt kapunk, mintha az összes változó felhasználásával hoznánk létre egy döntési fát. A változók fontosságáról is kapunk információt, amit az algoritmus úgy számol ki, hogy megnézi, hogy az adott változó elhagyásával milyen mértékben csökkenek a döntési fák találati arányai. Minél jobban csökken a találati arány egy változó elhagyásával, annál fontosabb az a változó.

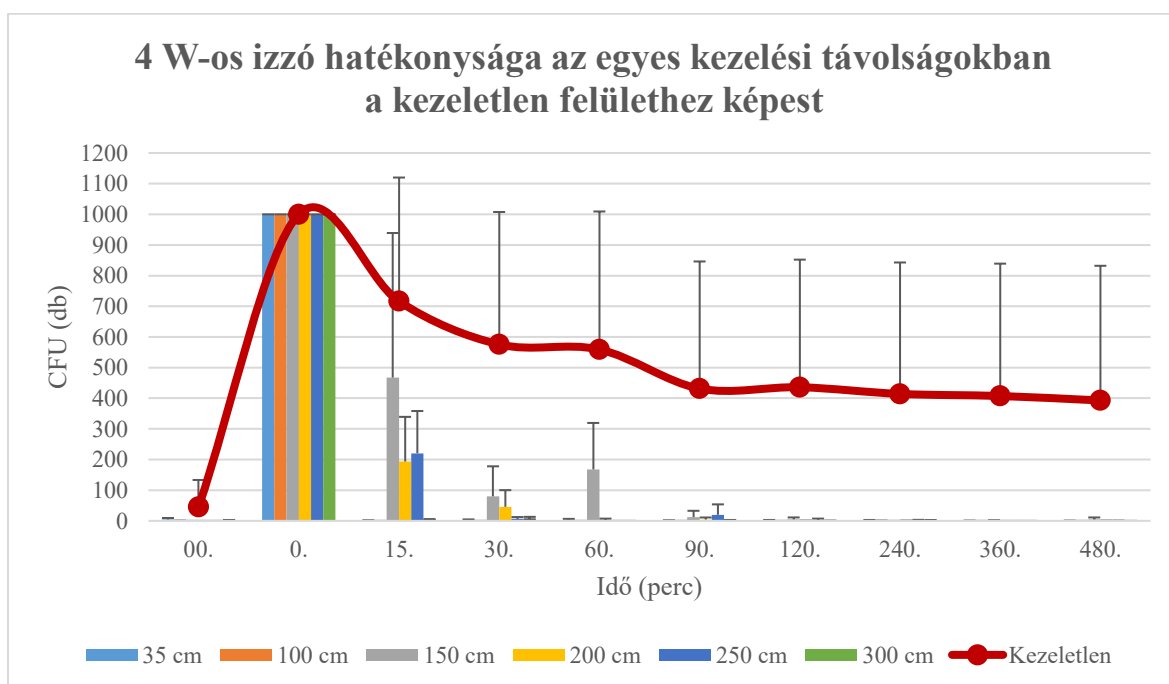
A találati arány azt mutatja meg, hogy milyen arányban sorolta be az adatokat helyes kategóriába a modell. A változókra vonatkozó p-értékeket a CART (klasszifikációs és regressziós fák) módszerrel állapítottuk meg, melyben az algoritmus döntési fát hoz létre a változók alapján. Az elemzéshez az R program 4.0.5 verzióját és a ggplot2, a partykit és a strucchange csomagokat használtuk. A statisztikai vizsgálatokat a Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék munkatársa, Abonyi-Tóth Zsolt végezte.

## 5. EREDMÉNYEK

### 5.1 Fényerősség és távolság vizsgálatának eredményei

#### 5.1.1 CFU eredmények

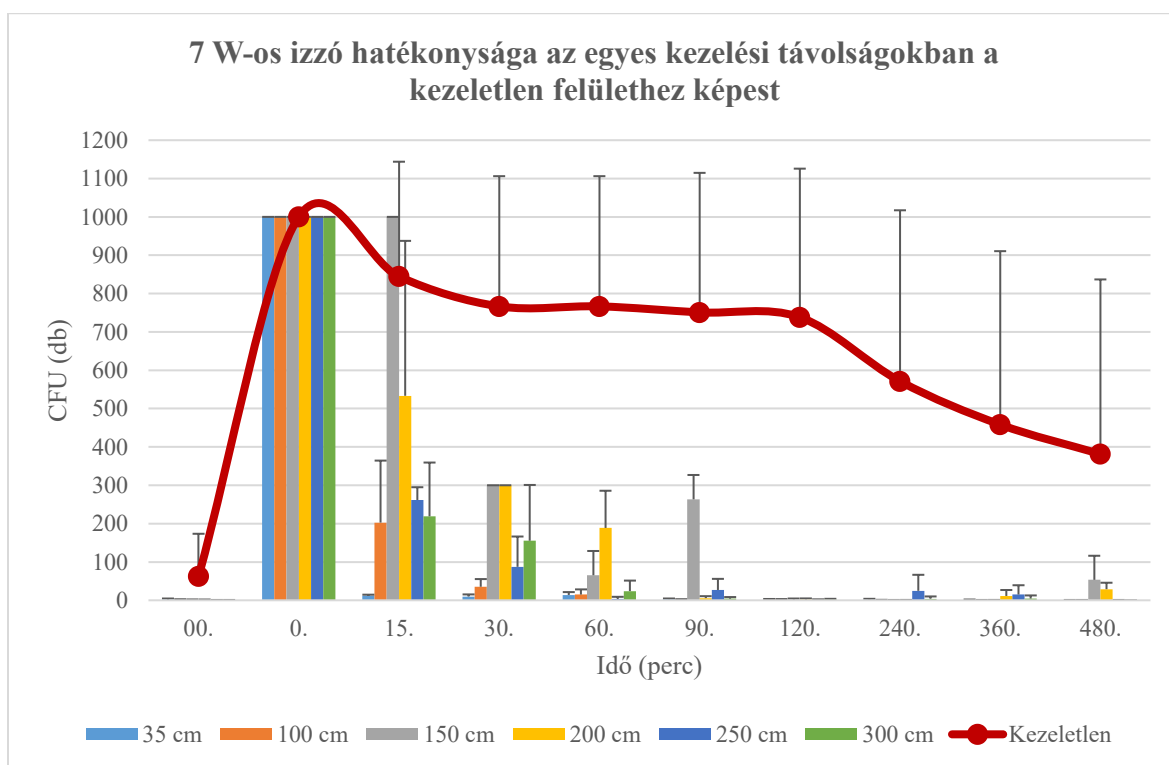
Mind a 36-féle beállítás során levett 2160 minta eredménye elemzésre került. Az *E. coli* felkenése előtti mintákból a CFU számlálás során láthatóan alacsony számú baktériumtelep nőtt. A polimerrel kezelt részen minden esetben jóval kevesebb CFU volt megfigyelhető, amiben közrejátszik az is, hogy minden beállítás után egy új réteg polimer került fel a falra. Az *E. coli* felkenését követően vett minták mindegyike konfluensen benőtte a Petri-csészét, ami bizonyította, hogy a felszaporított baktérium szuszpenzió életképes.



**4. ábra** A polimerrel kezelt felület CFU szám csökkenésének a mértéke az idő függvényében, különböző távolságokban, összehasonlítva a kezeletlen felületek CFU átlagával

A 4 wattos izzóval történt vizsgálat esetén jól látható, hogy a polimerrel kezelt részen átlagosan már a 15. perctől jelentősen csökkent a CFU szám, a 30. percen átlagosan 23 CFU volt, ami a kiindulási szám 2,3%-a. A 30-ik percig a leggyorsabb csökkenés 100 cm távolságban következett be. A 60. és 90. perc után a legmagasabb CFU szám 5 volt. A 120. perctől minden távolság esetén a baktériumok legalább 99,5%-át eliminálta a polimer. A polimerrel nem kezelt felületen 250 és 300 cm-es távolságnál konfluens növekedés volt a Petri-csészéken, és a többi esetben is alig csökkent 300 alá a CFU szám, kivételt képez ez alól a 35 és 100 cm-es távolság, aminek az oka az első vizsgálat során kevés tápanyagot tartalmazó tápleves volt (**4. ábra**).

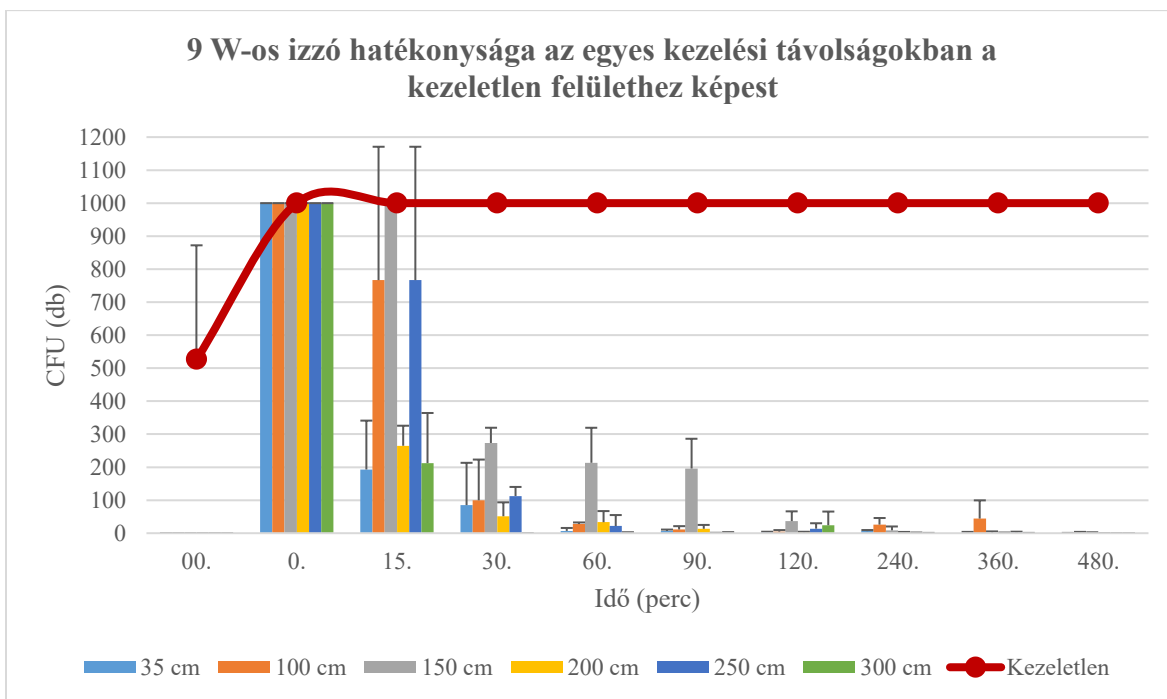
A 7 wattos izzónál az felkenést követő >1000 CFU után a polimerrel kezelt részen hasonló módon már 15 perc elteltével csökkent a baktériumszám, azonban jelentős csökkenés a 30. perctől következett be, ahol átlag 148, majd a 60. percben átlag 52 CFU volt, mely 94,8%-os csökkenést jelent. A leggyorsabb csökkenés 35 cm távolságnál történt. A 120. percben átlagosan 2 CFU-t számoltunk minden távolságban, ami 99,8%-os csökkenés. A polimerrel nem kezelt részen a >1000 CFU a 250 és 300 cm-es távolságon végig megtartott volt, 150 és 200 cm-es távolságban a 120. és 240. perc után csökkent 300 körüli értékre (5. ábra).



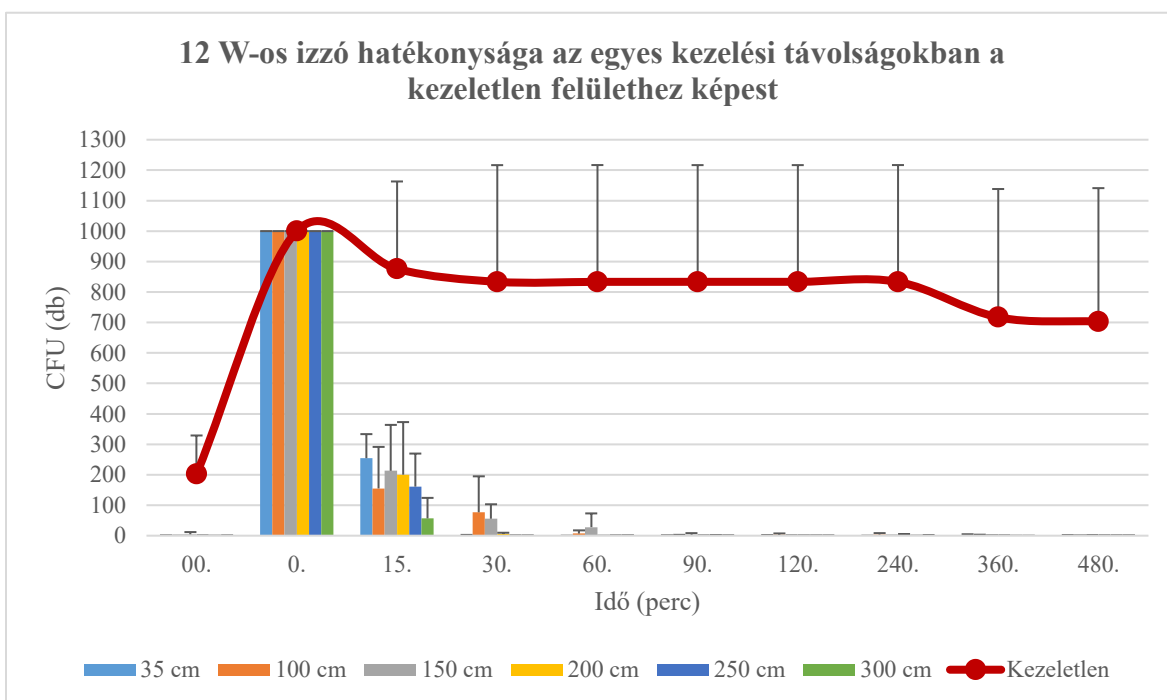
**5. ábra** A polimerrel kezelt felület CFU szám csökkenésének a mértéke az idő függvényében, különböző távolságokban, összehasonlítva a kezeletlen felületek CFU átlagával

A 9 wattos izzónál a CFU csökkenés 15 perc elteltével szintén megfigyelhető volt, azonban a 7 Wattos izzóhoz hasonlóan a 30. perctől történt a kiindulási >1000 CFU-hoz képest jelentős csökkenés, átlagosan 104 CFU-ra. A 60. percig 300 cm-nél volt a legnagyobb csökkenés (99,9%). A 120. percben levett minták esetében átlag 14 CFU, a 480. percben pedig <1 CFU volt, mely 99,9%-os baktériumszám csökkenést jelent. A kontroll, vagyis polimerrel nem kezelt felületen a felkent baktériumok száma 8 óra alatt, mindegyik távolságnál >1000 CFU számban megtartott maradt (6. ábra).





**6. ábra** A polimerrel kezelt felület CFU szám csökkenésének a mértéke az idő függvényében, különböző távolságokban, összehasonlítva a kezeletlen felületek CFU átlagával

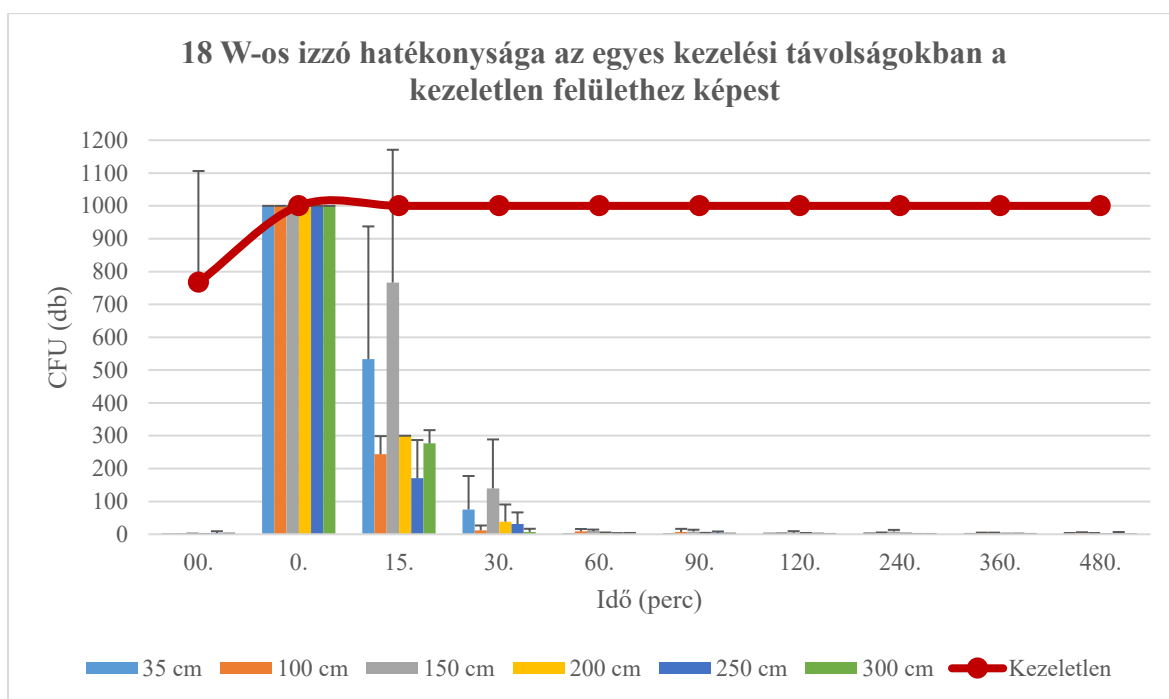


**7. ábra** A polimerrel kezelt felület CFU szám csökkenésének a mértéke az idő függvényében, különböző távolságokban, összehasonlítva a kezeletlen felületek CFU átlagával

A 12 wattos izzó használatakor a felkenés utáni >1000 CFU szám csökkenése az előző izzókhöz hasonlóan 15 perc elteltével következett be, átlag 173 CFU mennyiségre. A

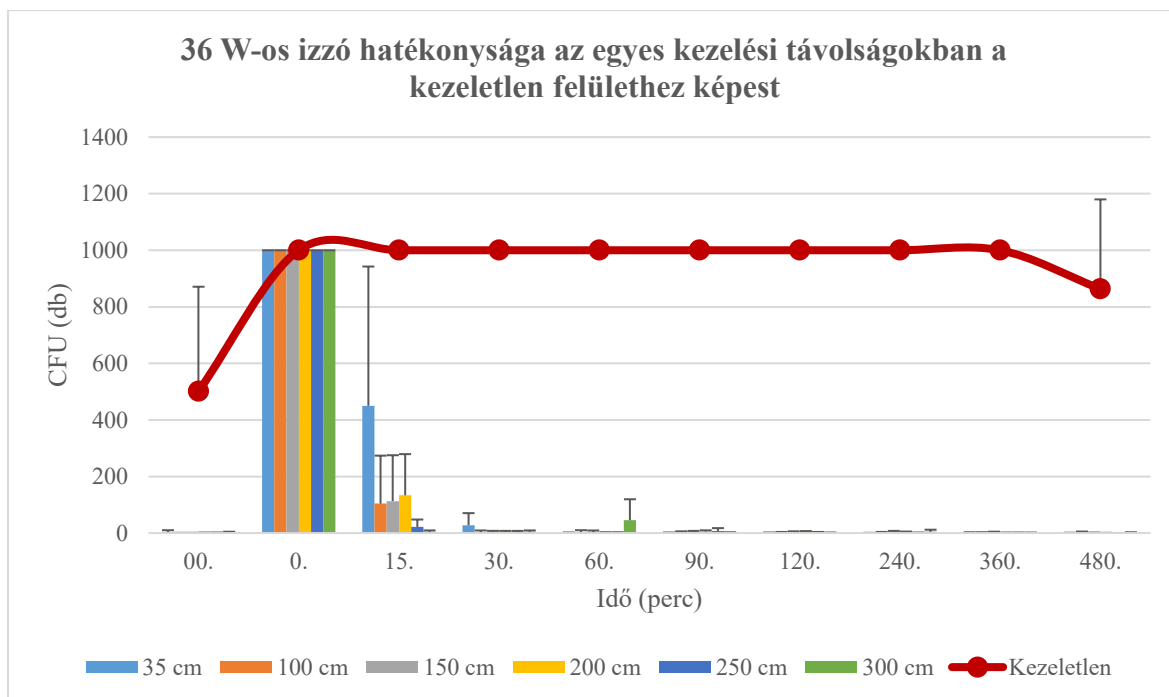
30. percben átlagosan 23 CFU volt, továbbá két esetben 0 CFU-t jegyeztünk fel 250 és 300 cm távolságnál. A 60. percben vett mintáknál átlag 6 CFU nőtt ki, amely 99,4%-os csökkenést jelent. A 480. percnél az átlagos CFU szám <1 volt, azaz a polimer 99,9%-ban eliminálta a baktériumokat. A kontroll felületen a baktérium szuszpenzió felkenését követő >1000 CFU 8 óra alatt változatlanul megtartott maradt mindegyik távolságnál (7. ábra).

A 18 wattos izzónál szintén a 15. perctől csökkent a CFU szám, a 30. percnél átlagosan 45 CFU-t számoltunk, ami 95,5%-os csökkenés. A leggyorsabban a 300 cm-es távolságnál csökkent a mikrobaszám. 1 óra elteltével átlag 12 CFU-t számoltunk, ami 98,8%-os csökkenést jelent. A levett minták átlaga a 480. percben már <2 volt, így 99,8%-ban redukálódott a kezdeti >1000 CFU, mely a kontroll felületen a vizsgálat teljes ideje alatt mind a 6 távolságnál változatlan maradt (8. ábra).



**8. ábra** A polimerrel kezelt felület CFU szám csökkenésének a mértéke az idő függvényében, különböző távolságokban, összehasonlítva a kezeletlen felületek CFU átlagával

A 36 wattos izzó 15 perc elteltével a legnagyobb mértékben 250 cm távolságnál csökkentette az *E. coli* mennyiségét. 30 perc elteltével a legmagasabb CFU szám 38 volt, az átlagos telepszám pedig 15 volt, azaz fél óra elteltével minden távolságnál átlagosan 98,5%-kal csökkent a felvitt *E. coli* száma. A 60. percben, minden távolságot figyelembe véve összesen 17 telep nőtt ki, tehát az átlag CFU <3 volt (99,7% csökkenés). Az értékek a 480. percig tovább csökkentek, az átlagos érték <1 volt. Az utolsó mért időpontban a 200 cm, 250 cm és 300 cm távolságok esetén a levett mintából már nem nőtt ki egy telep sem (9. ábra).



**9. ábra** A polimerrel kezelt felület CFU szám csökkenésének a mértéke az idő függvényében, különböző távolságokban, összehasonlítva a kezeletlen felületek CFU átlagával

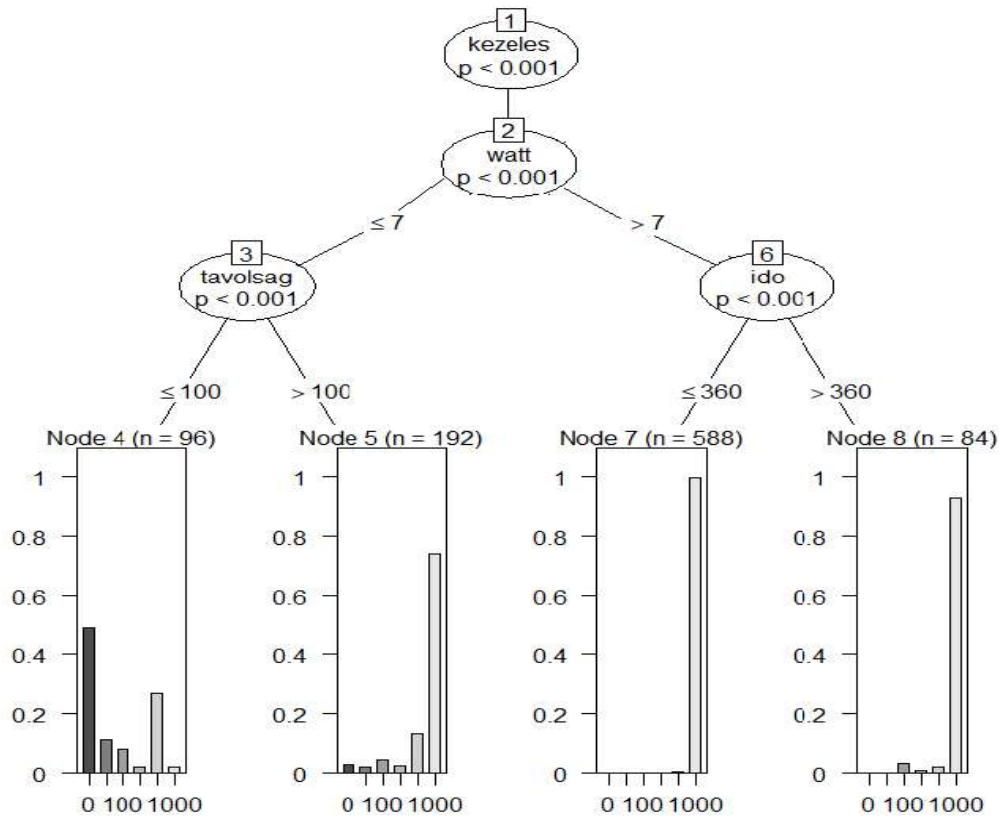
### 5.1.2 Statisztikai elemzés

Célunk az volt, hogy kiderítsük a polimerrel kezelt felület baktériumszám csökkentésének hatékonyságát. A párhuzamosan vizsgált kezelt és kezeletlen falfelület esetében történt 3-3 mintavétel a polimer réteg felkenése előtt (00), majd utána 0, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360 és 480 perccel történt. A kísérlet során a falat megvilágítás is érte különböző távolságokban (35 cm, 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm és 300 cm), különböző teljesítményű izzókkal (4 W, 7 W, 9 W, 12 W, 18 W, 37 W).

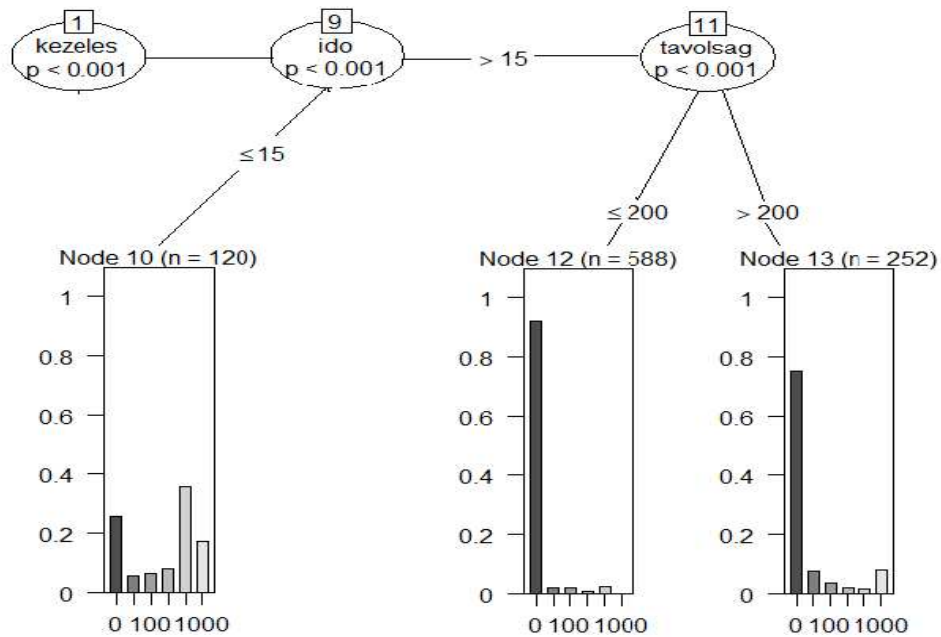
A fényerősséget és távolságot vizsgálva a random forest módszer első elágazásánál minden változó p-értéke kisebb volt, mint 0.001, de összességében a kezeléshez képest a watt, a távolság és az idő hatása mérsékeltebb volt a modell találati arányára (**10. ábra**).

A változók (kezelés, távolság, watt, idő) fontosságát vizsgálva, a kezelés értéke lett a legmagasabb (3,3416). A többi változó esetében jelentősen kisebb számokat kaptunk, sorrendben a watt (0,5265), a távolság (0,2328), végül az idő (0,1638) következik. Ez szintén a kezelés hatékonyságát támasztja alá, hiszen a kezelés elhagyása esetén nem fogunk tapasztalni semmi hatást.

## Polimer nélküli kezelés



## Polimeres kezelés



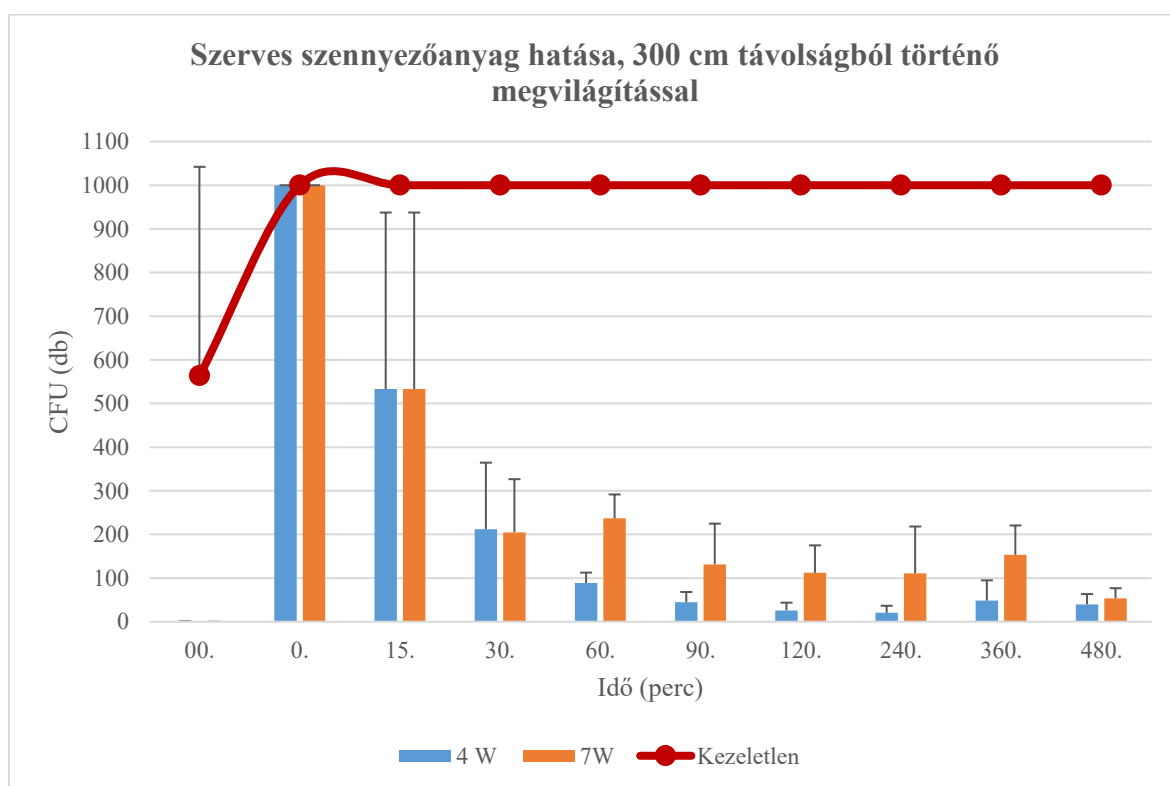
10. ábra A kontroll és kezelt felületek random forest módszerrel történő összehasonlítása a fényerősség és a megvilágítás távolságának függvényében (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)

## 5.2 Szerves szennyezőanyag vizsgálatának eredményei

### 5.2.1 CFU eredmények

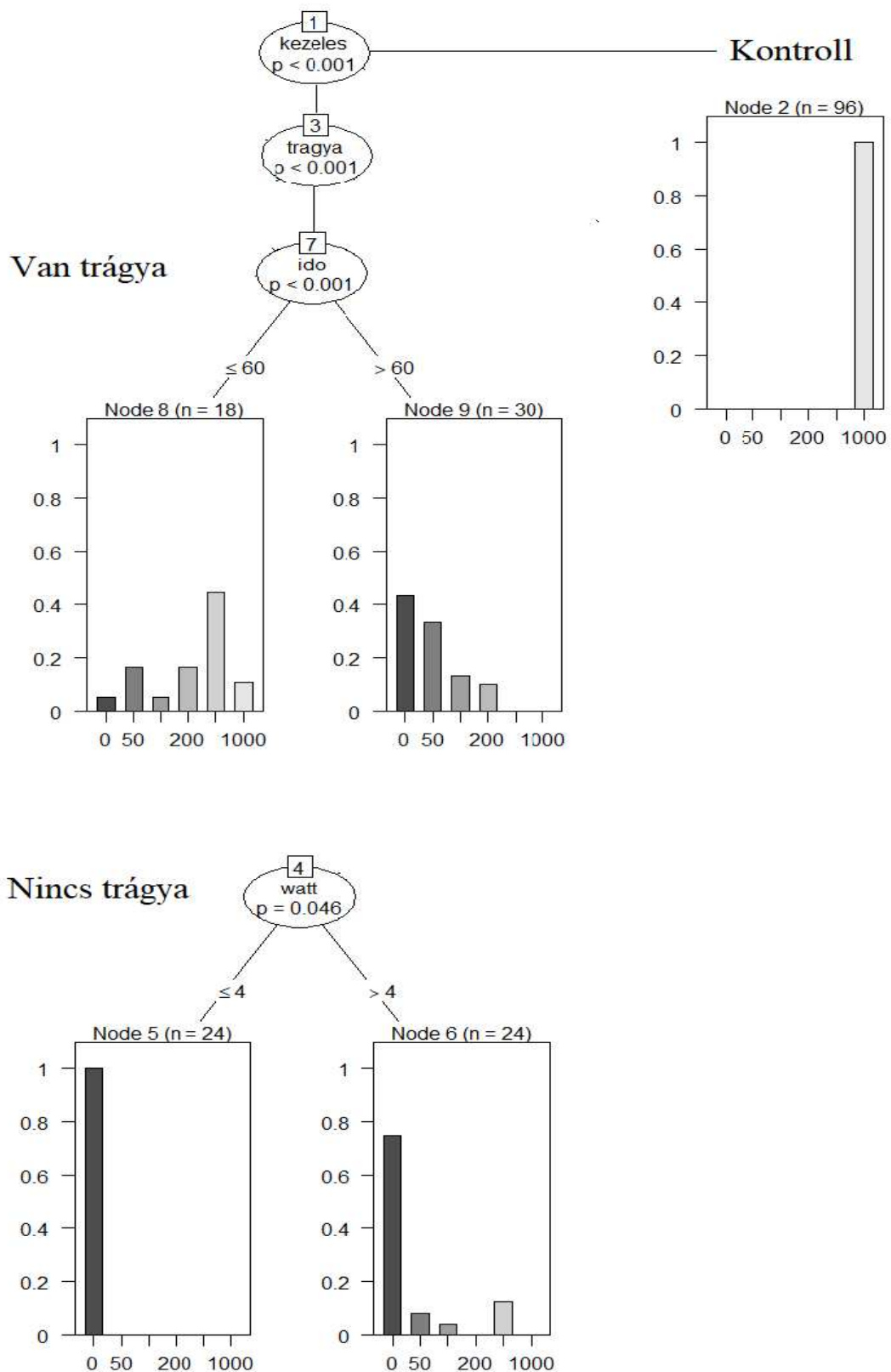
A szerves szennyeződés és *E. coli* felvitele előtt a polimerrel kezelt felületen nem mutattunk ki telepeket, ellenben a kontroll felületen 127 (4 W) és 1000 (7 W) CFU-t számoltunk. Az baktérium szuszpenzió és sertéstrágya felkenése után közvetlenül levett mintákon minden esetben >1000 volt a CFU. A polimerrel nem kezelt felületről levett összes minta esetében megtartott volt a >1000 CFU szám.

A festékekkel kezelt területről, 4 wattos izzó esetében a 15. perc után vett mintáknál még nem volt jelentős CFU csökkenés, de a 30. percnél már a polimer 78,8%-os hatékonyságot mutatott. Ettől kezdve a számolható CFU mennyisége folyamatosan csökkent, a 60. percben 89, a 90. percben 45, a 480. percben pedig 40 volt. Tehát a 300 cm-ről 4 wattos izzóval világított sertéstrágyával le kent polimer összességében 96%-ban pusztította el a baktériumokat. A 7 wattos izzó használatakor a 30. percnél 205 CFU-t számoltunk, vagyis ez esetben a baktériumok 79,5%-a elpusztult. A 120. percnél 112 CFU-t, a 480. percnél 54 CFU-t jegyeztünk fel. Tehát 300 cm-es távolságon, a 7 wattos izzó alkalmazásakor a polimer összességében 94,6%-os hatékonyságot mutatott (11. ábra).



11. ábra A szerves szennyezőanyag befolyásoló hatása a polimerrel kezelt és kezeletlen felületre 300 cm-es távolságból 4 W-os és 7 W-os izzóval történő megvilágítás során

## 5.2.2 Statisztikai elemzés



**12. ábra** A kontroll és kezelt felületek random forest módszerrel történő összehasonlítása a szerves szennyezőanyag függvényében (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)

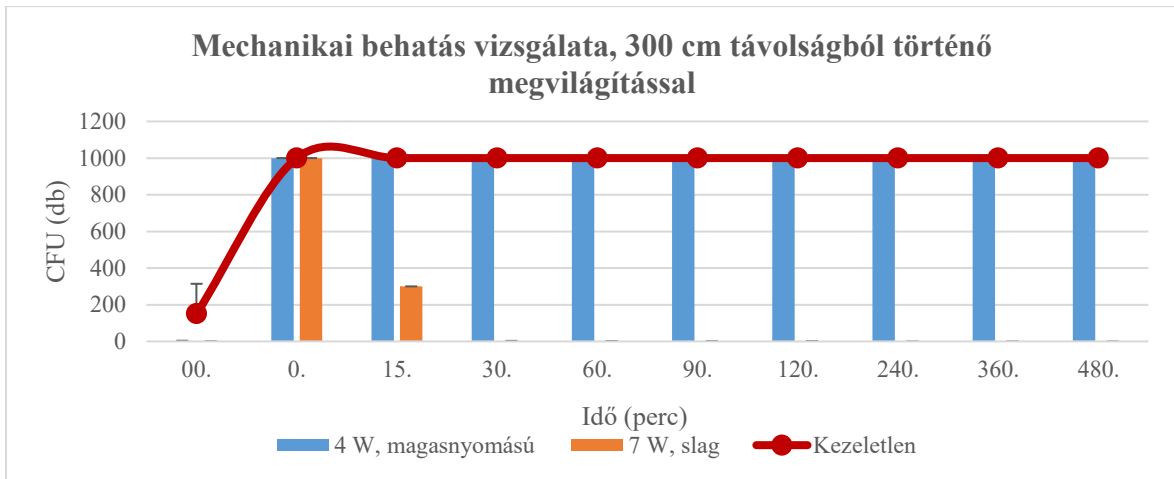
A statisztikai vizsgálat során a szerves szennyezőanyag felkenése utáni eredményeket és az első vizsgálatunk során kapott fényerősség-távolság kísérlet eredményeit hasonlítottuk össze. A korábban ismertetett random forest módszerrel elemeztük az értékeket, ahol az első vizsgálatunknak csak a 4 watt és 7 watt, 300 cm távolságban végzett kísérleti eredményeit használtuk fel. A kapott CFU értékeket a könnyebb statisztikai elemzés érdekében csoportokba osztottuk, majd vizsgáltuk, hogy milyen tényezők befolyásolják azt, hogy melyik kategóriába esik az adott baktériumszám. Az általunk választott csoport számok mindig a legalacsonyabb értéket jelölik (pl. 50 jelöli a legalább 50, de kisebb, mint 100 értékeket). A kísérletben a kezelést ( $p < 0.0001$ ) leszámítva a változók hatása elhanyagolható volt (**12. ábra**). A változók fontosságát nézve (kezelés, szerves szennyezőanyag, idő és watt), itt is a kezelés bír a legnagyobb jelentőséggel (6,6135), a szerves szennyezőanyag (0,7262), az idő (0,4894) és a watt (0,2927) befolyásoló hatása elhanyagolható. Tehát itt is igaz az, ha a kezelést elhagyjuk, akkor nem várható hatékony baktériumszám csökkenés.

### 5.3 Mechanikai behatás vizsgálatának eredményei

#### 5.3.1 CFU eredmények

A vízszugárral lemosott felület vizsgálata során, az *E. coli* felkenése előtt a kontroll minták esetén 300 CFU-t számoltunk, a polimerrel kezelt esetében pedig nem nőtt ki telep. A baktérium szuszpenzió felkenése után mindkét részről levett mintákon  $>1000$  CFU volt. A kontroll területen a további időpontokban sem változott ez a szám, így a 480. percnél is  $>1000$  CFU-t tapasztaltunk. A festékkel kezelt terület esetében a 15. percnél már csak 300 CFU-t számoltunk, ami a 30. percig tovább csökkent 1 CFU-ra. Ez az érték egészen a 120. percig megtartott volt, a 240. percnél levett mintán azonban már egy CFU-t sem találtunk. Innentől kezdve a 240., 360. és 480. percnél is 0 CFU volt, azaz teljes mértékben (100%) eliminálódott az *E. coli* a vizsgált felületről.

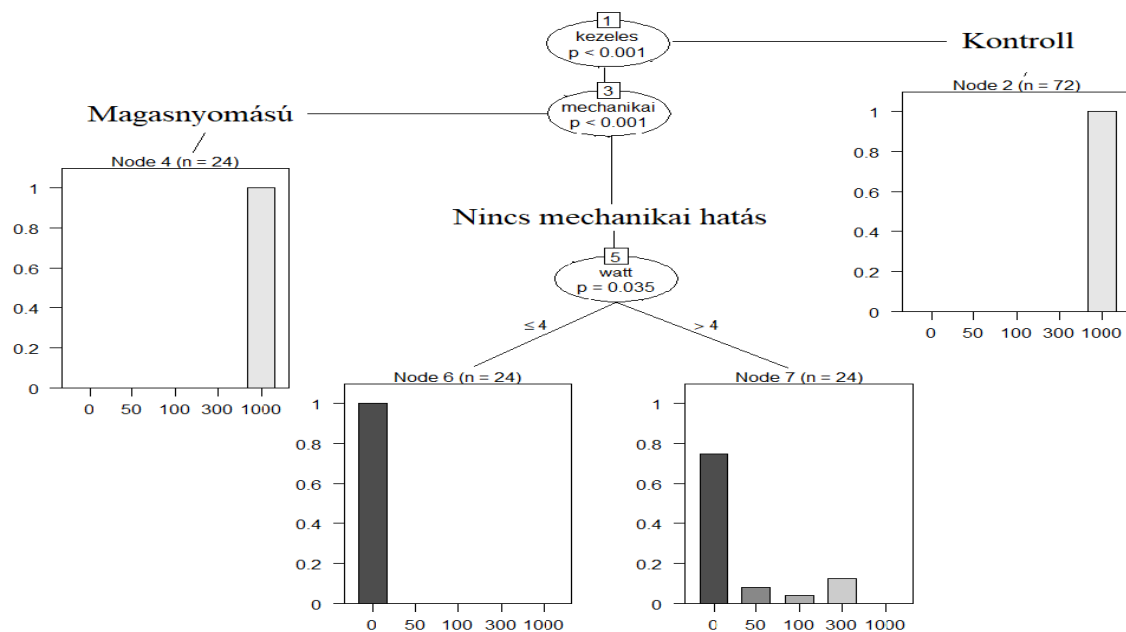
A nagynyomású berendezéssel történő lemosást követően, a baktérium szuszpenzió felkenése előtt alacsony CFU értékeket kaptunk, a kontroll esetében 1, még a polimerrel kezeltnél 2 CFU volt. Az *E. coli* felvitele után mindegyik mintán  $>1000$  CFU-t tapasztaltunk. A kezeletlen, kontroll felületen ez az érték egészen a 480. percig megtartott volt. Azonban itt a polimerrel kezelt felületről vett mintáknál sem következett be CFU csökkenés, a 480. percben is  $>1000$  CFU volt a levett mintákban (**13. ábra**).



13. ábra Mechanikai behatás vizsgálat a polimerrel kezelt és kezeletlen felületen

### 5.3.2 Statisztikai elemzés

A harmadik kísérletnél először a nagynyomású és vízsugaras lemosást hasonlítottuk össze, utána pedig a mechanikai behatás után mért eredményeket a mechanikai behatás nélküli eredményekkel. A vízsugaras és a nagynyomású tisztítás közötti különbség jelentős ( $p < 0.0001$ ), ahogy a watt is ( $p < 0.0001$ ), az idő hatása elhanyagolható. A kontrollal összehasonlítva az eredmények azt mutatják, hogy a nagynyomású lemosásnak jelentős hatása van (14. ábra) a baktériumszámra ( $p < 0.0001$ ), míg a normál vízszó hatás elhanyagolható ( $p = 0.9998$ ). A változók közül a kezelés a legfontosabb itt is (5,1756), viszont magának a mechanikai behatásnak is nagy a jelentősége (3,2573), a watt (0,6328) és az idő (0,1387) hatása pedig elhanyagolható.



14. ábra A nagynyomású lemosás hatása a kontrollhoz képest (Készítette: Abonyi-Tóth Zsolt)



## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

A vizsgált polimer vegyület ( $\text{TiO}_2$ , ZnO és nanoezüst) fotokatalikus aktiválódása hatékonynak bizonyult – amit Tallósy és Tobaldi [1, 15] szintén leírtak – eredményeink a kontroll és kezelt felületek között szignifikáns különbséget mutattak ( $p < 0,001$ ), minden egyes vizsgálat során a kezelés volt a legfontosabb statisztikai változó.

Kutatásunk során rávilágítottunk arra, hogy a polimer hatékonyságára az általunk vizsgált teljesítményű izzók (4 W, 7 W, 9 W, 12 W, 18 W és 36 W) különböző távolságban (35 cm, 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm, 300 cm) elhelyezett kombináció a hatékonyság tekintetében nem mutatnak szignifikáns különbséget ( $p < 0,001$ ). Ilyen jellegű összehasonlító vizsgálatot más még nem publikált. Rizzo és mtsai. vizsgálataik során 250 W teljesítményű izzó esetén írták le, hogy a  $\text{TiO}_2$  tartalmú polimer 10 perc alatt képes az *E. coli* baktériumot teljes mértékben eliminálni [22], ez az eredmény a mi vizsgálatainkhoz képest időben sokkal jobb hatékonyságra utal, azonban mi 10 perces mintavételt nem végeztünk. A különbséget valószínűleg az eltérő  $\text{TiO}_2$  vegyület és koncentráció okozta, illetve a hatékonyságot nem felületen vizsgálták, hanem folyadékban (szennyvíz). Ez alapján érdemes lenne egyrészt nagyobb teljesítményű izzók hatását is vizsgálni, valamint rövidebb idő intervallumonként mintákat venni a CFU számoláshoz.

Az *E. coli* ellenes hatékonyság tekintetében azt találtuk, hogy jelentős mértékű CFU szám csökkenés a 15. perctől figyelhető meg, a kezdeti CFU-hoz képest 30 perc alatt átlagosan 97%-kal, 60 perc alatt 98%-kal, 120 perc alatt 99%-kal, 480 perc alatt pedig 99,9%-kal csökkent a baktériumszám. Baek és mtsai. ZnO-ot vizsgálva azonban 6 óra megvilágítást alatt csak 72%-os csökkenést tapasztaltak [21], Wu és mtsai. ezzel szemben  $\text{TiO}_2$  vizsgálata során 5 perc alatt 20%-os, 30 perc alatt 90%-os, 90 perc alatt 100%-os baktériumszám csökkenést írtak le – azonban a  $\text{TiO}_2$ -ot palládiummal módosították [48], ugyanakkor Chen és mtsai. finomítatlan vízben 30 perc alatt 92,6%-os, izozmotikus vízben ugyanennyi idő alatt 100%-os eradikációt tapasztaltak [54]. Ibrahim és mtsai. azonban 30 perc alatt csak 16%-os, 90 perc alatt 67%-os, 120 perc alatt 80%-os és 180 perc alatt 97%-os baktériumszám csökkenést figyeltek meg [56]. Ehhez képest mi gyorsabb és nagyobb hatékonysággal történő baktériumellenes hatást tapasztaltunk, 30 perc alatt átlagosan 97%-ban. Janus és mtsai. már 60 perc alatt 100%-os eradikációt tapasztaltak [59], Liao és mtsai. szintén ugyanezt tapasztalták [60]. Ezzel szemben Dong és mtsai. a 100%-os eradikációt 24 óra behatási idő után írták le [87]. Nakano és mtsai.  $\text{TiO}_2$ -ot üveglapon vizsgálva a kiindulási

$1,5 \times 10^5$  CFU/ml baktérium mennyiségnek 2 óra alatt a  $1,5 \times 10^4$  értékre, 4 óra alatt  $1,5 \times 10^3$  értékre, 8 óra alatt  $1 \times 10^2$  értékre való csökkenését írták le [55]. Ezzel szemben Alotaibi és mtsai. rézzel dópolt  $\text{TiO}_2$  esetén a kezdeti  $1 \times 10^8$  CFU/ml értékhez képest 2 óra alatt  $1,5 \times 10^5$  értékre, 4 óra alatt  $1 \times 10^3$  értékre való baktériumszám csökkenést találtak [17]. Ki kell azonban emelnünk, hogy a mi vizsgálataink során más koncentrációkkal és fényerőséggel dolgoztak. A publikált eredmények alapján arra következtethetünk, hogy a fényerősségnek és távolságnak valóban nincs szignifikánsan befolyásoló hatása a  $\text{TiO}_2$  fotokatalitikus antibakteriális hatékonyságára.

Szerves szennyezőanyag vizsgálatunk során a sertéstrágya csökkentette a hatékonyságot, azonban ez nem szignifikáns ( $p < 0,001$ ). Hasonló tapasztalatokról számoltak be Chen és mtsai., akik finomítatlan és izozmotikus vízben vizsgálták a  $\text{TiO}_2$  által történő *E. coli* inaktiválását [54], azonban ők nem felületi szennyezést vizsgáltak. Rizzo és mtsai. kutatásukat azonban már szennyvízzel végezték, melyben az *E. coli* baktérium 250 W megvilágítás mellett 10 perc alatt, napfényel történő megvilágítás mellett azonban csak 60 perc alatt eradikálódott teljes mértékben [22]. Azonban korábban nem írtak le olyan vizsgálatot, melyben fotokatalitikumot tartalmazó felület szerves trágyával történő szennyezésének befolyásoló hatását nézték. Arra következtethetünk, hogy a polimer képes megtartani az antibakteriális aktivitását, viszont a hatás kialakulásához több időre van szükség.

A mechanikai behatási kísérletek eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy a vízszugárnak alig van hatása, míg a nagyomású berendezés teljesen eltávolította a falról a polimert. A fotokatalitikus vegyület stabilitásával kapcsolatban Mori és mtsai. leírták, hogy a fotokatalitikumot érdemes rögzíteni egy szubsztáthoz, hogy az ne károsodjon a bekövetkező reakciók miatt [2]. Esetünkben a nanorészecskés vegyület nem tartalmazott ilyen szubsztrátot. A vizsgálatainkból következik, hogy a kezelt felületek enyhe behatással tisztíthatók, viszont a fertőtlenítések során is használt erős behatások teljes mértékben eltávolítják a polimert, ezért ilyenkor annak újbóli felhordása szükséges.

Mindent összevetve, arra következtethetünk, hogy a polimer antibakteriális aktivitása nem függ sem a távolságtól, sem a fényerősségtől. A szerves anyaggal történő szennyeződés során kismértékben csökken a hatékonyság, azonban a különbség csak a szükséges idő hosszában mutatkozik. A vízszugárral történő lemosásnak a polimer ellenáll, a nagynyomású kezelések viszont eltávolítják azt.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

A 21. század egyik legjelentősebb problémája az antibiotikum rezisztencia terjedése. A COVID-19 járvány felértékelte a fertőtlenítőszer, a felületkezelő és öntisztuló anyagok szerepét. Ezek használatával az állattenyésztésben jelentős patogén kórokozók előfordulása is hatékonyan csökkenthető, így mérsékelve az antibiotikumok felhasználását is. A  $\text{TiO}_2$  egy sokat vizsgált fotokatalitikus vegyület. Működésének lényege, hogy fotokatalitikus aktivációja következtében keletkező ROS vegyületek a sejtmembrán károsítása révén pusztítják el a kórokozókat. Az  $\text{TiO}_2$ -dal végzett korábbi vizsgálatok elsősorban a humán egészségügyben és emberi patogén kórokozókra történtek, állatorvosi vonalon szegényes szakirodalom áll rendelkezésre a vegyülettel kapcsolatban.

Magyarországon először vizsgáltuk nanoezüst részecskékkel módosított  $\text{TiO}_2$  és ZnO tartalmú polimer vegyület hatékonyságát, állati eredetű *E. coli*-val szemben. *Ex vivo* vizsgálataink során kimutattuk, hogy a kontrollhoz képest a polimer jelentős mértékű kórokozósám csökkenést okoz ( $p < 0,001$ ). A kontroll baktériummal konfluensen benőtt felületéhez képest a kezelt területről a vizsgált *E. coli* törzs baktériumszáma a 30. percig átlagosan 94%-kal csökkent. A kísérlet során hat különböző teljesítményű izzót használtunk (4W, 7W, 9W, 12W, 18W, 36W), 35 cm, 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm és 300 cm távolságban. A 36-féle beállítás során levett 2160 minta elemzése után, a távolságok és fényerőségek között szignifikáns különbséget nem tudtunk kimutatni a hatékonyság tekintetében, 30-60 perc alatt a mikróbák jelentős része elpusztult. Vizsgáltuk szerves szennyeződés (sertéstrágya) befolyásoló hatását 300 cm távolságból 4 és 7 wattos izzók használatával, amely esetekben az eredmények alapján megállapítható volt, hogy a kontrollhoz képest a hatékonyság csökkent, de továbbra is jól működött ( $p < 0,0001$ ), azonban ehhez legalább 60 percnél kellett eltelnie. Néztük továbbá a mechanikai behatások felületi stabilitásra gyakorolt hatását vízszugárral és nagynyomású berendezéssel való lemosás után. Megállapítottuk, hogy előbbi hatása csekély ( $p = 0,9998$ ), utóbbi viszont szignifikánsan csökkentette az antibakteriális potenciált ( $p < 0,0001$ ).

Összességében elmondható, hogy az állati eredetű kórokozók esetén a polimer hatékonysága megfelelő. A fényerősség és távolság megválasztása nem befolyásolja, a szerves szennyezőanyag jelenléte viszont csökkenti a hatékonyságot. A kezelt felületek enyhe behatással tisztíthatók, viszont a fertőtlenítések során is használt erős behatások teljes mértékben eltávolítják azt, ezért annak újbóli felhordása szükséges.

## 8. SUMMARY

Spread of antimicrobial resistance is one of the most significant problems of the 21st century. COVID-19 pandemic highlighted the role of disinfectant agents, surface treating and self-cleaning materials. Usage of these substances in the animal husbandry can effectively decrease incidence of pathogenic agents, and therefore to reduced consumption of antibiotics as well.  $\text{TiO}_2$  is a well-known compound which is capable of photocatalysis. The essence of its functioning is that reactive oxygen species (ROS), produced as a consequence of its photocatalytic activation destroy pathogens via damaging the cell-membrane. Previous studies were conducted mainly in human health care on pathogenic agents, while in the veterinary field only a few publications are available about  $\text{TiO}_2$ .

In Hungary, our study was the first that investigated the efficiency of a  $\text{TiO}_2$  and ZnO containing polymer modified with nanosilver particles against *E. coli* of animal origin. In our *ex vivo* examinations we demonstrated that the polymer causes significant ( $p < 0.001$ ) reduction in number of pathogens compared to the control. Compared to the confluent ingrown control surface, *E. coli* disappeared from the treated area including an average 94% bacterial number lowering by the 30th minute. During the experiments we used bulbs with six different power (4W, 7W, 9W, 12W, 18W, 36W), in six distances (35 cm, 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm, 300 cm). In the course of 36 settings, we took 2160 samples, but their analysis could not reveal any significant difference between the tested luminous intensity and distance settings in terms of efficiency. We have also examined influencing effect of organic pollutant (manure from porcine) from 300 cm distance applied with 4 and 7 W bulbs. According to the results, it is statable that the efficiency of the polymer decreased compared to the control, but it still functioned efficiently. Furthermore, we have observed the effect of mechanical impacts to surface stability by washing with water-jet and high-pressure device. We ascertained that the former had slight impact ( $p = 0,9998$ ) on the number of bacteria, but the latter had completely removed the polymer from the surface, which significantly ( $p < 0,0001$ ) diminished the antibacterial potential.

The conclusion of our findings is that in case of pathogens from animal origin, efficacy of the polymer is appropriate. The choice of luminous intensity and distance do not, but the presence of organic pollutant do cut down its efficiency. Treated surfaces can be cleaned with moderate impact, but more powerful decontaminating processes can fully remove it; therefore it is necessary to reiterate surface treatment in these cases.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Tallósy SP, Janovák L, Ménesi J, Nagy E, Juhász Á, Balázs L, Deme I, Buzás N, Dékány I (2014) Investigation of the antibacterial effects of silver-modified TiO<sub>2</sub> and ZnO plasmonic photocatalysts embedded in polymer thin films. *Environ Sci Pollut Res Int* 21:11155–11167 . <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2568-6>
2. Mori K (2005) Photo-Functionalized Materials Using Nanoparticles: Photocatalysis [Translated]†. *KONA Powder and Particle Journal* 23:205–214 . <https://doi.org/10.14356/kona.2005023>
3. Fresno F, Portela R, Suárez S, Coronado JM (2014) Photocatalytic materials: recent achievements and near future trends. *J Mater Chem A* 2:2863–2884 . <https://doi.org/10.1039/C3TA13793G>
4. Minella M, Minero C (2019) Quantification of the Photocatalytic Self-Cleaning Ability of Non-Transparent Materials. *Materials (Basel)* 12: . <https://doi.org/10.3390/ma12030508>
5. Pakdel E, Wang J, Kashi S, Sun L, Wang X (2020) Advances in photocatalytic self-cleaning, superhydrophobic and electromagnetic interference shielding textile treatments. *Advances in Colloid and Interface Science* 277:102116 . <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102116>
6. Jalvo B, Faraldos M, Bahamonde A, Rosal R (2017) Antimicrobial and antibiofilm efficacy of self-cleaning surfaces functionalized by TiO<sub>2</sub> photocatalytic nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas putida*. *J Hazard Mater* 340:160–170 . <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.005>
7. Valenzuela L, Iglesias A, Faraldos M, Bahamonde A, Rosal R (2019) Antimicrobial surfaces with self-cleaning properties functionalized by photocatalytic ZnO electrospayed coatings. *Journal of Hazardous Materials* 369:665–673 . <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.073>
8. Zhang X, Liu S, Salim A, Seeger S (2019) Hierarchical Structured Multifunctional Self-Cleaning Material with Durable Superhydrophobicity and Photocatalytic Functionalities. *Small* 15:e1901822 . <https://doi.org/10.1002/sml.201901822>
9. Gao Y, Lin X, Zhao Y, Xu S, Lai C, Guo Z, Wu W, Ding X, Jia F, Zhou L, Liu Y (2020) The Cleaning Effect of the Photocatalysis of TiO<sub>2</sub>-B@anatase Nanowires on Biological Activity on a Titanium Surface. *Int J Nanomedicine* 15:9639–9655 . <https://doi.org/10.2147/IJN.S275373>
10. Piaskowski K, Zarzycki PK (2020) Carbon-Based Nanomaterials as Promising Material for Wastewater Treatment Processes. *Int J Environ Res Public Health* 17:E5862 . <https://doi.org/10.3390/ijerph17165862>
11. Lee M, Koziel JA, Murphy W, Jenks WS, Fonken B, Storjohann R, Chen B, Li P, Banik C, Wahe L, Ahn H (2021) Design and Testing of Mobile Laboratory for Mitigation of Gaseous Emissions from Livestock Agriculture with Photocatalysis. *Int J Environ Res Public Health* 18:1523 . <https://doi.org/10.3390/ijerph18041523>
12. Asahi R, Morikawa T, Ohwaki T, Aoki K, Taga Y (2001) Visible-light photocatalysis in nitrogen-doped titanium oxides. *Science* 293:269–271 . <https://doi.org/10.1126/science.1061051>
13. Tahmasebizad N, Hamedani MT, Shaban Ghazani M, Pazhuhfar Y (2020) Photocatalytic activity and antibacterial behavior of TiO<sub>2</sub> coatings co-doped with copper and nitrogen via sol-gel method. *J Solgel Sci Technol* 93:570–578 . <https://doi.org/10.1007/s10971-019-05085-1>
14. Li L, Yan J, Wang T, Zhao Z-J, Zhang J, Gong J, Guan N (2015) Sub-10 nm rutile titanium dioxide nanoparticles for efficient visible-light-driven photocatalytic hydrogen production. *Nat Commun* 6:5881 . <https://doi.org/10.1038/ncomms6881>
15. Tobaldi DM, Hortigüela Gallo MJ, Otero-Irurueta G, Singh MK, Pullar RC, Seabra MP, Labrincha JA (2017) Purely Visible-Light-Induced Photochromism in Ag-TiO<sub>2</sub> Nanoheterostructures. *Langmuir* 33:4890–4902 . <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b04474>
16. Magalhães P, Andrade L, Nunes OC, Mendes A (2017) Titanium dioxide photocatalysis: Fundamentals and application on photoinactivation. *Reviews on Advanced Materials Science* 51:91–129
17. Alotaibi AM, Williamson BAD, Sathasivam S, Kafizas A, Alqahtani M, Sotelo-Vazquez C, Buckeridge J, Wu J, Nair SP, Scanlon DO, Parkin IP (2020) Enhanced Photocatalytic and Antibacterial Ability of Cu-Doped Anatase TiO<sub>2</sub> Thin Films: Theory and Experiment. *ACS Appl Mater Interfaces* 12:15348–15361 . <https://doi.org/10.1021/acsami.9b22056>
18. Faure B, Salazar-Alvarez G, Ahniyaz A, Villaluenga I, Berriozabal G, De Miguel YR, Bergström L (2013) Dispersion and surface functionalization of oxide nanoparticles for transparent photocatalytic and

- UV-protecting coatings and sunscreens. *Sci Technol Adv Mater* 14:023001 .  
<https://doi.org/10.1088/1468-6996/14/2/023001>
19. Obregón S, Amor G, Vázquez A (2019) Electrophoretic deposition of photocatalytic materials. *Adv Colloid Interface Sci* 269:236–255 . <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.05.003>
  20. Synnott DW, Seery MK, Hinder SJ, Michlits G, Pillai SC (2013) Anti-bacterial activity of indoor-light activated photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental* 130–131:106–111 .  
<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.10.020>
  21. Baek S, Joo SH, Su C, Toborek M (2019) Antibacterial effects of graphene- and carbon-nanotube-based nanohybrids on *Escherichia coli*: Implications for treating multidrug-resistant bacteria. *J Environ Manage* 247:214–223 . <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.077>
  22. Rizzo L, Della Sala A, Fiorentino A, Li Puma G (2014) Disinfection of urban wastewater by solar driven and UV lamp - TiO<sub>2</sub> photocatalysis: effect on a multi drug resistant *Escherichia coli* strain. *Water Res* 53:145–152 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.020>
  23. Anand U, Reddy B, Singh VK, Singh AK, Kesari KK, Tripathi P, Kumar P, Tripathi V, Simal-Gandara J (2021) Potential Environmental and Human Health Risks Caused by Antibiotic-Resistant Bacteria (ARB), Antibiotic Resistance Genes (ARGs) and Emerging Contaminants (ECs) from Municipal Solid Waste (MSW) Landfill. *Antibiotics (Basel)* 10:374 . <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040374>
  24. Dikshit PK, Kumar J, Das AK, Sadhu S, Sharma S, Singh S, Gupta PK, Kim BS (2021) Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications and Limitations. *Catalysts* 11:902 .  
<https://doi.org/10.3390/catal11080902>
  25. Bono N, Ponti F, Punta C, Candiani G (2021) Effect of UV Irradiation and TiO<sub>2</sub>-Photocatalysis on Airborne Bacteria and Viruses: An Overview. *Materials* 14:1075 . <https://doi.org/10.3390/ma14051075>
  26. Kumar N, Chauhan NS, Mittal A, Sharma S (2018) TiO<sub>2</sub> and its composites as promising biomaterials: a review. *Biometals* 31:147–159 . <https://doi.org/10.1007/s10534-018-0078-6>
  27. Jafari S, Mahyad B, Hashemzadeh H, Janfaza S, Gholikhani T, Tayebi L (2020) <p>Biomedical Applications of TiO<sub>2</sub> Nanostructures: Recent Advances<p>. *IJN* 15:3447–3470 .  
<https://doi.org/10.2147/IJN.S249441>
  28. Gogniat G, Dukan S (2007) TiO<sub>2</sub> Photocatalysis Causes DNA Damage via Fenton Reaction-Generated Hydroxyl Radicals during the Recovery Period. *Applied and Environmental Microbiology* 73:7740–7743 .  
<https://doi.org/10.1128/AEM.01079-07>
  29. Pradhan P, Alonso J, Bizarro M (2012) Photocatalytic Performance of ZnO: Al Films under Different Light Sources. *International Journal of Photoenergy* 2012: . <https://doi.org/10.1155/2012/780462>
  30. Joe A, Park S-H, Shim K-D, Kim D-J, Jhee K-H, Lee H-W, Heo C-H, Kim H-M, Jang E-S (2016) Antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles under dark conditions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 45: . <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.10.013>
  31. Bak T, Nowotny J, Rekas M, Sorrell C (2002) Photo-Electrochemical Hydrogen Generation From Water Using Solar Energy. *Materials-Related Aspects. International Journal of Hydrogen Energy* 27:991–1022 .  
[https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00022-8](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00022-8)
  32. Barthes J, Ciftci S, Ponzio F, Knopf-Marques H, Pelyhe L, Gudima A, Kientzl I, Bognár E, Weszl M, Kzhyshkowska J, Vrana NE (2018) Review: the potential impact of surface crystalline states of titanium for biomedical applications. *Crit Rev Biotechnol* 38:423–437 .  
<https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1363707>
  33. Fujishima A, Honda K (1972) Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature* 238:37–38 . <https://doi.org/10.1038/238037a0>
  34. Nosaka Y, Nishikawa M, Nosaka AY (2014) Spectroscopic investigation of the mechanism of photocatalysis. *Molecules* 19:18248–18267 . <https://doi.org/10.3390/molecules191118248>
  35. Diamantopoulos NC, Barnasas A, Garoufalos CS, Anyfantis DI, Bouropoulos N, Pouloupoulos P, Baskoutas S (2020) Band Gap Measurements of Nano-Meter Sized Rutile Thin Films. *Nanomaterials (Basel)* 10:E2379 . <https://doi.org/10.3390/nano10122379>
  36. Rehman S, Ullah R, Butt AM, Gohar ND (2009) Strategies of making TiO<sub>2</sub> and ZnO visible light active. *J Hazard Mater* 170:560–569 . <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.05.064>
  37. Zaleska-Medynska A (2008) Doped-TiO<sub>2</sub>: a review. *Recent Patents on Engineering* 2:157–164 .  
<https://doi.org/10.2174/187221208786306289>

38. Liu D, Wang J, Zhou J, Xi Q, Li X, Nie E, Piao X, Sun Z (2019) Fabricating I doped TiO<sub>2</sub> photoelectrode for the degradation of diclofenac: Performance and mechanism study. *Chem Eng J* 369:968–978 . <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.03.140>
39. Perović K, dela Rosa FM, Kovačić M, Kušić H, Štangar UL, Fresno F, Dionysiou DD, Lončarić Božić A (2020) Recent Achievements in Development of TiO<sub>2</sub>-Based Composite Photocatalytic Materials for Solar Driven Water Purification and Water Splitting. *Materials* 13:1338 . <https://doi.org/10.3390/ma13061338>
40. Yan Y, Shi W, Peng W, Lin Y, Zhang C, Li L, Sun Y, Ju H, Zhu J, Ma W, Zhao J (2019) Proton-free electron-trapping feature of titanium dioxide nanoparticles without the characteristic blue color. *Commun Chem* 2:1–7 . <https://doi.org/10.1038/s42004-019-0191-7>
41. Wu X, Huang Y-Y, Kushida Y, Bhayana B, Hamblin MR (2016) Broad-spectrum antimicrobial photocatalysis mediated by titanium dioxide and UVA is potentiated by addition of bromide ion via formation of hypobromite. *Free Radic Biol Med* 95:74–81 . <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.012>
42. Rodríguez-González V, Obregón S, Patrón-Soberano OA, Terashima C, Fujishima A (2020) An approach to the photocatalytic mechanism in the TiO<sub>2</sub>-nanomaterials microorganism interface for the control of infectious processes. *Applied Catalysis B: Environmental* 270:118853 . <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.118853>
43. Li Y-F, Aschauer U, Chen J, Selloni A (2014) Adsorption and reactions of O<sub>2</sub> on anatase TiO<sub>2</sub>. *Acc Chem Res* 47:3361–3368 . <https://doi.org/10.1021/ar400312t>
44. Nosaka Y, Nosaka AY (2017) Generation and Detection of Reactive Oxygen Species in Photocatalysis. *Chem Rev* 117:11302–11336 . <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00161>
45. Zhang J, Zhou P, Liu J, Yu J (2014) New understanding of the difference of photocatalytic activity among anatase, rutile and brookite TiO<sub>2</sub>. *Phys Chem Chem Phys* 16:20382–20386 . <https://doi.org/10.1039/c4cp02201g>
46. Kakuma Y, Nosaka AY, Nosaka Y (2015) Difference in TiO<sub>2</sub> photocatalytic mechanism between rutile and anatase studied by the detection of active oxygen and surface species in water. *Phys Chem Chem Phys* 17:18691–18698 . <https://doi.org/10.1039/c5cp02004b>
47. Gogniat G, Thyssen M, Denis M, Pulgarin C, Dukan S (2006) The bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> photocatalysis involves adsorption onto catalyst and the loss of membrane integrity. *FEMS Microbiol Lett* 258:18–24 . <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00190.x>
48. Wu P, Imlay JA, Shang JK (2010) Mechanism of Escherichia coli inactivation on palladium-modified nitrogen-doped titanium dioxide. *Biomaterials* 31:7526–7533 . <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.06.032>
49. Carré G, Hamon E, Ennahar S, Estner M, Lett M-C, Horvatovich P, Gies J-P, Keller V, Keller N, Andre P (2014) TiO<sub>2</sub> photocatalysis damages lipids and proteins in Escherichia coli. *Appl Environ Microbiol* 80:2573–2581 . <https://doi.org/10.1128/AEM.03995-13>
50. Khan ST, Ahmad J, Ahamed M, Musarrat J, Al-Khedhairy AA (2016) Zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress, inhibit growth, and attenuate biofilm formation activity of Streptococcus mitis. *J Biol Inorg Chem* 21:295–303 . <https://doi.org/10.1007/s00775-016-1339-x>
51. Siddiqi KS, Ur Rahman A, Tajuddin null, Husen A (2018) Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes. *Nanoscale Res Lett* 13:141 . <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2532-3>
52. Sydor MJ, Anderson DS, Steele HBB, Ross JBA, Holian A (2020) Effects of titanium dioxide and zinc oxide nano-materials on lipid order in model membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1862:183313 . <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2020.183313>
53. Takao A, Suzuki T (2020) The Effects of Peptidoglycan on the Photocatalytic Bactericidal Activity of Titanium Dioxide. *Biocontrol Sci* 25:167–171 . <https://doi.org/10.4265/bio.25.167>
54. Chen C-Y, Wu L-C, Chen H-Y, Chung Y-C (2010) Inactivation of Staphylococcus aureus and Escherichia coli in Water Using Photocatalysis with Fixed TiO<sub>2</sub>. *Water Air Soil Pollut* 212:231–238 . <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0335-y>
55. Nakano R, Hara M, Ishiguro H, Yao Y, Ochiai T, Nakata K, Murakami T, Kajioka J, Sunada K, Hashimoto K, Fujishima A, Kubota Y (2013) Broad Spectrum Microbicidal Activity of Photocatalysis by TiO<sub>2</sub>. *Catalysts* 3:310–323 . <https://doi.org/10.3390/catal3010310>

56. Ibrahim HMM (2015) Photocatalytic degradation of methylene blue and inactivation of pathogenic bacteria using silver nanoparticles modified titanium dioxide thin films. *World J Microbiol Biotechnol* 31:1049–1060 . <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1855-9>
57. Mohl M, Dombovari A, Tuchina ES, Petrov PO, Bibikova OA, Skovorodkin I, Popov AP, Rautio A-R, Sarkar A, Mikkola J-P, Huuhtanen M, Vainio S, Keiski RL, Prilepsky A, Kukovec A, Konya Z, Tuchin VV, Kordas K (2014) Titania nanofibers in gypsum composites: an antibacterial and cytotoxicology study. *J Mater Chem B* 2:1307–1316 . <https://doi.org/10.1039/c3tb21644f>
58. Shimizu Y, Ateia M, Wang M, Awfa D, Yoshimura C (2019) Disinfection mechanism of E. coli by CNT-TiO<sub>2</sub> composites: Photocatalytic inactivation vs. physical separation. *Chemosphere* 235:1041–1049 . <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.006>
59. Janus M, Kusiak-Nejman E, Rokicka-Konieczna P, Markowska-Szczupak A, Zajac K, Morawski AW (2019) Bacterial Inactivation on Concrete Plates Loaded with Modified TiO<sub>2</sub> Photocatalysts under Visible Light Irradiation. *Molecules* 24:E3026 . <https://doi.org/10.3390/molecules24173026>
60. Liao C, Li Y, Tjong SC (2020) Visible-Light Active Titanium Dioxide Nanomaterials with Bactericidal Properties. *Nanomaterials (Basel)* 10:124 . <https://doi.org/10.3390/nano10010124>
61. Zafar N, Uzair B, Niazi MBK, Sajjad S, Samin G, Arshed MJ, Rafiq S (2020) Fabrication & Characterization of Chitosan Coated Biologically Synthesized TiO<sub>2</sub> Nanoparticles against PDR E. coli of Veterinary Origin. *Adv Polym Technol* 2020:8456024 . <https://doi.org/10.1155/2020/8456024>
62. Li Y, Leung P, Yao L, Song QW, Newton E (2006) Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles. *J Hosp Infect* 62:58–63 . <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.04.015>
63. Kumaravel V, Nair KM, Mathew S, Bartlett J, Kennedy JE, Manning HG, Whelan BJ, Leyland NS, Pillai SC (2021) Antimicrobial TiO<sub>2</sub> nanocomposite coatings for surfaces, dental and orthopaedic implants. *Chemical Engineering Journal* 416:129071 . <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129071>
64. Chorianopoulos NG, Tsoukleris DS, Panagou EZ, Falaras P, Nychas G-JE (2011) Use of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) photocatalysts as alternative means for *Listeria monocytogenes* biofilm disinfection in food processing. *Food Microbiol* 28:164–170 . <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.025>
65. Barthomeuf M, Castel X, Le Gendre L, Louis J, Denis M, Pissavin C (2018) Effect of Titanium Dioxide Film Thickness on Photocatalytic and Bactericidal Activities Against *Listeria monocytogenes*. *Photochemistry and Photobiology* 95: . <https://doi.org/10.1111/php.13078>
66. Azizi-Lalabadi M, Ehsani A, Divband B, Alizadeh-Sani M (2019) Antimicrobial activity of Titanium dioxide and Zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic. *Sci Rep* 9:17439 . <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54025-0>
67. Sun D-S, Kau J-H, Huang H-H, Tseng Y-H, Wu W-S, Chang H-H (2016) Antibacterial Properties of Visible-Light-Responsive Carbon-Containing Titanium Dioxide Photocatalytic Nanoparticles against Anthrax. *Nanomaterials (Basel)* 6:E237 . <https://doi.org/10.3390/nano6120237>
68. Kaminski A, Edwards C, Chrapusta-Srebrny E, Lawton LA (2021) Anatoxin-a degradation by using titanium dioxide. *Science of The Total Environment* 756:143590 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143590>
69. K K, A T, Np M, D H, A P, W W-A, T D (2021) Inhibitory Effects of Erythrosine/Curcumin Derivatives/Nano-Titanium Dioxide-Mediated Photodynamic Therapy on *Candida albicans*. *Molecules (Basel, Switzerland)* 26: . <https://doi.org/10.3390/molecules26092405>
70. Ahmadpour Kermani S, Salari S, Ghasemi Nejad Almani P (2021) Comparison of antifungal and cytotoxicity activities of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles with amphotericin B against different *Candida* species: In vitro evaluation. *J Clin Lab Anal* 35:e23577 . <https://doi.org/10.1002/jcla.23577>
71. Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ, Lin M (2009) Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. *J Appl Microbiol* 107:1193–1201 . <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04303.x>
72. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, Hasan H, Mohamad D (2015) Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nanomicro Lett* 7:219–242 . <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
73. Lallo da Silva B, Abuçafy MP, Berbel Manaia E, Oshiro Junior JA, Chiari-Andréo BG, Pietro RCR, Chiavacci LA (2019) Relationship Between Structure And Antimicrobial Activity Of Zinc Oxide Nanoparticles: An Overview. *Int J Nanomedicine* 14:9395–9410 . <https://doi.org/10.2147/IJN.S216204>



74. Chakra CHS, Rajendar V, Rao KV, Kumar M (2017) Enhanced antimicrobial and anticancer properties of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanocomposites. *3 Biotech* 7:89 . <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0731-8>
75. Happy A, Soumya M, Venkat Kumar S, Rajeshkumar S, Sheba RD, Lakshmi T, Deepak Nallaswamy V (2019) Phyto-assisted synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Cassia alata* and its antibacterial activity against *Escherichia coli*. *Biochemistry and Biophysics Reports* 17:208–211 . <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2019.01.002>
76. Gunputh UF, Le H, Besinis A, Tredwin C, Handy RD (2019) Multilayered composite coatings of titanium dioxide nanotubes decorated with zinc oxide and hydroxyapatite nanoparticles: controlled release of Zn and antimicrobial properties against *Staphylococcus aureus*. *Int J Nanomedicine* 14:3583–3600 . <https://doi.org/10.2147/IJN.S199219>
77. Naseer M, Aslam U, Khalid B, Chen B (2020) Green route to synthesize Zinc Oxide Nanoparticles using leaf extracts of *Cassia fistula* and *Melia azadarach* and their antibacterial potential. *Sci Rep* 10:9055 . <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65949-3>
78. Mahendran, Kishor P, Geetha N, Manish T, Sahi S, Perumal V (2021) Efficient antibacterial/biofilm, anti-cancer and photocatalytic potential of titanium dioxide nanocatalysts green synthesised using *Gloriosa superba* rhizome extract. *Journal of Experimental Nanoscience* 16:11–31 . <https://doi.org/10.1080/17458080.2021.1872781>
79. Ciesinski L, Guenther S, Pieper R, Kalisch M, Bednorz C, Wieler LH (2018) High dietary zinc feeding promotes persistence of multi-resistant *E. coli* in the swine gut. *PLoS One* 13:e0191660 . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191660>
80. Ali SS, Sonbol F, Sun J, Hussein MA, Hafez A-EE, Abdelkarim EA, Kornaros M, Ali A, Azab M (2020) Molecular characterization of virulence and drug resistance genes-producing *Escherichia coli* isolated from chicken meat: Metal oxide nanoparticles as novel antibacterial agents. *Microb Pathog* 143:104164 . <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104164>
81. Herrmann J-M, Tahiri H, Ait-Ichou Y, Lassaletta G, González-Elipse AR, Fernández A (1997) Characterization and photocatalytic activity in aqueous medium of TiO<sub>2</sub> and Ag-TiO<sub>2</sub> coatings on quartz. *Applied Catalysis B: Environmental* 13:219–228 . [https://doi.org/10.1016/S0926-3373\(96\)00107-5](https://doi.org/10.1016/S0926-3373(96)00107-5)
82. Gamage McEvoy J, Zhang Z (2014) Antimicrobial and photocatalytic disinfection mechanisms in silver-modified photocatalysts under dark and light conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 19:62–75 . <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2014.01.001>
83. Diesen V, Dunnill CW, Österberg E, Parkin IP, Jonsson M (2014) Silver enhanced TiO<sub>2</sub> thin films: photocatalytic characterization using aqueous solutions of tris(hydroxymethyl)aminomethane. *Dalton Trans* 43:344–351 . <https://doi.org/10.1039/c3dt52270a>
84. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim J-H, Park SJ, Lee HJ, Kim SH, Park YK, Park YH, Hwang C-Y, Kim Y-K, Lee Y-S, Jeong DH, Cho M-H (2007) Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 3:95–101 . <https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.12.001>
85. Li W-R, Xie X-B, Shi Q-S, Zeng H-Y, Ou-Yang Y-S, Chen Y-B (2010) Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 85:1115–1122 . <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2159-5>
86. Sintubin L, De Gusseme B, Van der Meeren P, Pycke BFG, Verstraete W, Boon N (2011) The antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action. *Appl Microbiol Biotechnol* 91:153–162 . <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3225-3>
87. Dong W, Zhu Y, Zhang J, Lu L, Zhao C, Qin L, Li Y (2013) Investigation on the antibacterial micro-porous titanium with silver nano-particles. *J Nanosci Nanotechnol* 13:6782–6786 . <https://doi.org/10.1166/jnn.2013.7757>
88. Gupta K, Singh RP, Pandey A, Pandey A (2013) Photocatalytic antibacterial performance of TiO<sub>2</sub> and Ag-doped TiO<sub>2</sub> against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. *Beilstein J Nanotechnol* 4:345–351 . <https://doi.org/10.3762/bjnano.4.40>
89. Cheon JY, Kim SJ, Rhee YH, Kwon OH, Park WH (2019) Shape-dependent antimicrobial activities of silver nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 14:2773–2780 . <https://doi.org/10.2147/IJN.S196472>

## 10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

TDK dolgozatom megvalósítása során nyújtott segítségéért köszönettel tartozom témavezetőmnek, dr. Kerek Ádámnak, aki szakmai irányításával lehetővé tette a kutatás létrejöttét, útmutatást és ötleteket adva a munka elkészüléséhez.

Szeretnék köszönetet mondani dr. Jerzsele Ákos rektorhelyettes Úrnak, a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének, aki kutatási témámat befogadta és szakmai tanácsokkal látott el; valamint rendelkezésemre bocsátotta a kísérlet helyszínéül szolgáló helyiségek és a tanszék laboratóriumának használatát.

Köszönöm a Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék munkatársának, Abonyi-Tóth Zsoltnak a statisztikai adatok értékelésében nyújtott önzetlen segítségét.



HuVetA

## ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\*

Név: Sasvári Mátyás.....  
Elérhetőség (e-mail cím): matyisasvari@gmail.com.....  
A feltöltendő mű címe: Felületkezelő polimer festék antimikrobiális hatékonyságának vizsgálata.....  
A mű megjelenési adatai: Diplomamunka 2022 .....  
Az átadott fájlok száma: 1 db.....

---

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,



- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

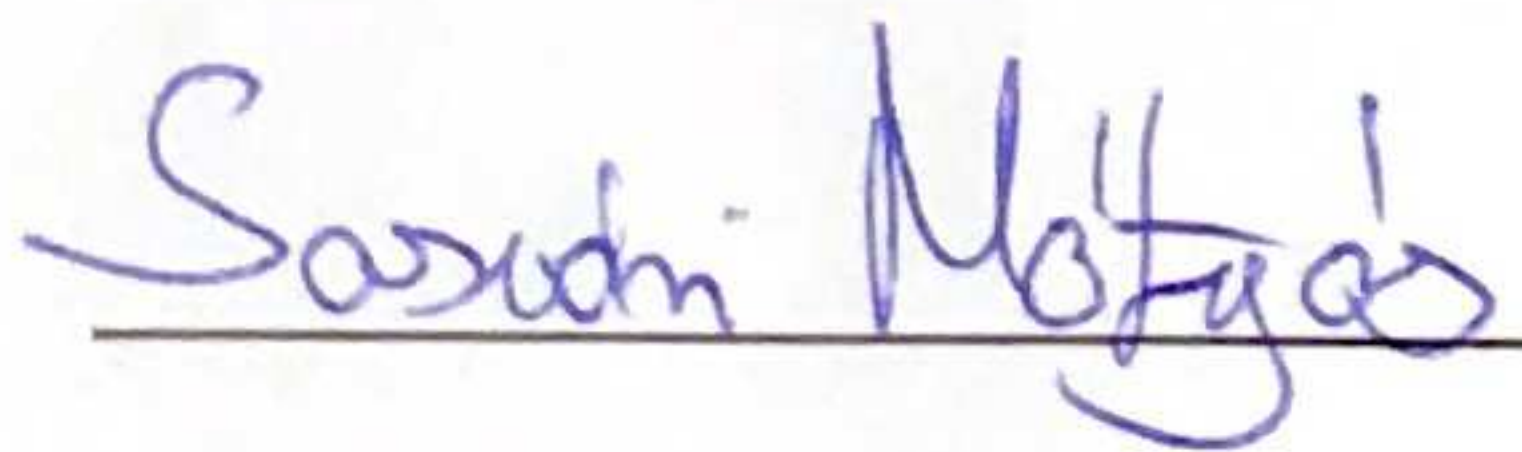
Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:

- Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2022. év november hó 8. nap



aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa



egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

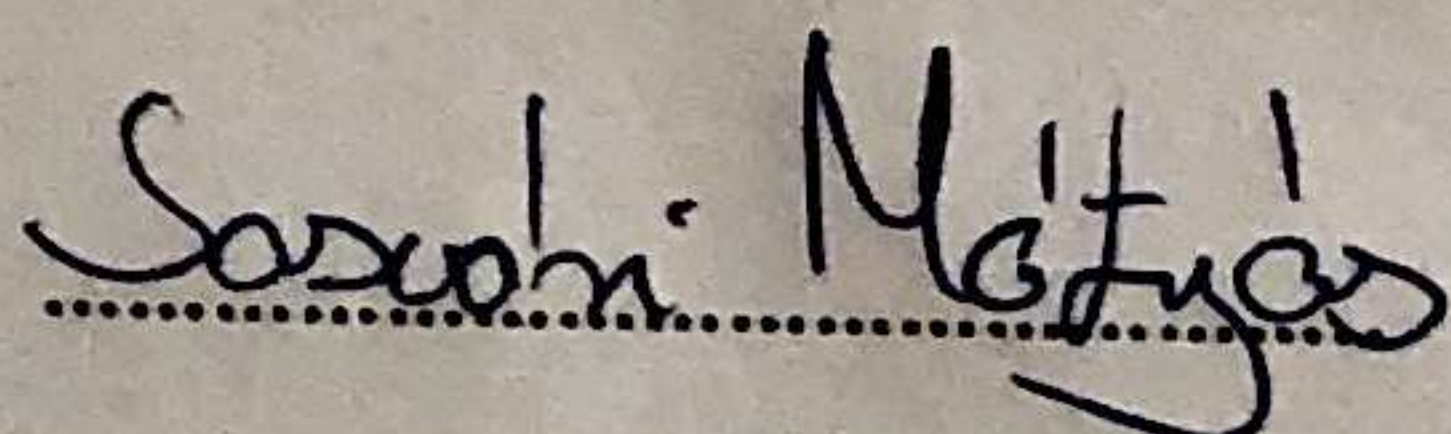
- a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;
- a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;
- az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;
- a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,
- a nyílt hozzáférés támogatása.



## NYILATKOZAT

Alulírott **Sasvári Mátyás** nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe ***Felületkezelő polimer festék antimikrobiális hatékonyságának vizsgálata*** tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a **2021.** évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2022.11.07

A handwritten signature in black ink that reads "Sasvári Mátyás". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal dotted line.

Sasvári Mátyás