

Tallósy Szabolcs Péter

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Reaktív hibrid nanokompozit felületek antibakteriális hatása

Témavezetők:

Dr. Dékány Imre

(egyetemi tanár, SZTE, AOK, Orvosi Vegytani Intézet, TTIK Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék)

Dr. Nagy Erzsébet

(egyetemi tanár, SZTE, AOK, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet)

Környezettudományi Doktori Iskola



**Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar,
Kémiai Tanszékcsoport**

Szeged

2016

1. Bevezetés és az értekezés célkitűzései

Fény hatására bizonyos félvezető fém-oxidok (pl TiO_2 , ZnO , SnO_2) fotooxidációs tulajdonságokat mutatnak, így megfelelően alkalmazhatók környezetünkben megtalálható szennyeződések eltávolítására, fertőző mikroorganizmusok inaktiválására. A titán-dioxid (TiO_2) napjaink egyik legjobban kutatott fotokatalizátora, gyakorlati alkalmazhatósága miatt számos szakterületen találkozhatunk vele. A félvezető fém-oxidoknak – így a TiO_2 -nak sem – önmagukban nincs negatív hatása a mikroorganizmusokra vagy a testi sejtekre, az antibakteriális funkciót csak fény által történő besugárzás esetén fejt ki. A TiO_2 gerjesztése során képződött szabadgyökök megfelelően nagy oxidációs potenciállal rendelkeznek ahhoz, hogy degradálják a baktériumok sejtfalát, majd így a sejtbe jutva reakcióba lépnek a sejtalkotókkal is. A fotokatalízis folyamata tehát gátolja a baktériumok anyagcseréjét és szaporodóképességét, ami a baktériumsejt teljes pusztulásához, fizikai és kémiai lebomlásához vezet. A fotokatalizátorok a fent felsorolt tulajdonságaik miatt alkalmasak arra, hogy az egészségügyi prevenciók stratégia fontos részévé váljanak.

A TiO_2 csak UV fényben ($\lambda \leq 388 \text{ nm}$) gerjeszthető, amely a természetes napsugárzás csupán öt százalékát teszi ki. Az alkalmazhatóság szempontjából célszerű, hogy látható régióban mutakozzon fényelnyelés, ezért a TiO_2 optikai tulajdonságait meg kell változtatni. A TiO_2 részecskék átmeneti fémekkel és nemfémes anyagokkal is módosíthatók. Az átmeneti fémekkel történő módosítások során a vezetési sávba került elektronok a deponált fémen történő csapdázódás folyamán fotokatalitikus hatékonyságot is növelhetnek. A fotokatalitikus hatás mindaddig tart, amíg a fotokatalitikus hatású réteg fénnel gerjesztődik.

A gyakorlati alkalmazás szempontjából nagyon fontos a katalizátor részecskék rögzítése a felületen, erre alkalmasak lehetnek különböző szerves, vagy szervetlen rögzítő anyagok. Ezzel a módszerrel olyan mechanikailag stabil, reaktív felületek hozhatóak létre, melyek felhasználhatóak a vízkezelésben, szennyvíztisztításban, vagy akár a különböző káros vegyületek és mikroorganizmusok lebontásában.

Munkám fő célja olyan mechanikailag stabil, megfelelő antibakteriális hatékonyságú felületek fejlesztése és minősítése volt, melyek a felületen megtalálható patogén baktériumokat teljes mértékben elpusztítják. A tesztek során különböző antibiotikum rezisztens és biofilm képzésre képes baktériumfajok csíraszám csökkenését is vizsgáltam azért, hogy a kifejlesztett rétegek, a fertőzés szempontjából magasan frekvenciált területeken (egészségügyi létesítmények) is alkalmazhatók legyenek. A fotokatalitikus felületek vizsgálata során a fotokatalizátor részecskék típusait és mennyiségét is szisztematikusan változtattam a hatékonyság növelése

érdekében, majd a részecskék immobilizálására különböző polimereket alkalmaztam és vizsgáltam, hogy a polimer jellege milyen hatással van a kidolgozott fotoreaktív rétegek fotokatalitikus tulajdonságaira.

A munkám másik célja volt a rétegek mikrobiológiai minősítési eljárásának optimalizálása, ennek tesztelésére többek között egy, a kórházakban gyakran előforduló baktériumfajt, a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus*-t választottam, amely baktérium sok esetben multirezisztenciával is rendelkezik. Speciális festési eljárásokkal fluorimetriás méréseket és mikroszkópos vizsgálatokat (fluoreszcens- és elektronmikroszkóp) végeztem a baktérium-fotokatalizátor kölcsönhatás kvalitatív és kvantitatív minősítésére.

2. Alkalmazott kísérleti anyagok

2.1 Reaktív hibrid nanokompozit filmek preparálása

Munkám során fotokatalizátor részecskékből és különböző hidrofób és hidrofil polimer hordozókból nanohibrid filmrétegeket preparáltam. A fotokatalizátorok közül a TiO₂-ot (Degussa P25) és ZnO (Nanox) fotokatalizátor részecskéket használtam. A funkcionizált fotokatalizátorok szintézise minden esetben fotoredukcióval történt. A fotokatalizátorok ezüsttel történő funkcionizálása során a prekursor ezüst-nitrát volt. A fotokatalizátorok üveglap hordozón történő immobilizálása során polimer rögzítő anyagként hidrofób tulajdonságú Epoxi gyantát (poli(Bisfenol A-ko-epiklórhidrin; Sigma Aldrich) és hidrofil tulajdonságú Plextol (poli(etil-akrilát-ko-metil-metakrilát; Pannoncolor Kft, Hungary) és hidrofil tulajdonságú Prolak (poli sztirol-ko-akrilátot; Profec Lc. Kft, Hungary) alkalmaztam.

2.2 Antibakteriális hatások meghatározásához alkalmazott reagensek

A fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok során a sejtfal szerkezet stabilitásának meghatározásához LIVE/DEAD[®] BacLight Bacterial Viability kit L7007 fluoreszcens festék kitet (Life Technologies, Hungary) alkalmaztam, amely SYTO9 (1,67mM) és propidium-jodid (1,67mM) fluoreszcens festékeket tartalmazott DMSO-ban oldva.

A fotokatalizátorok-fény kölcsönhatása során képződő és az antibakteriális hatásért is felelős keletkező reaktív gyökök koncentrációjának méréséhez NaOH (1M) oldatot és Luminol-t (5-amino-1,2,3,4-tetrahydrophthalazine-1,4-dione) alkalmaztam. A fotokatalizátorok bakteriális biolumineszcenciára kifejtett hatásának vizsgálatát *Alloibrio fischerii* (Hach, Hungary) baktériumon teszteltem, a folyamat során a baktérium csökkenő anyagcseréjének mértékét luminometriásan követtem 2%-os NaCl oldatban.

2.3 Mikrobiológiai vizsgálatok során alkalmazott baktériumok

A mikrobiológiai minősítések során az ISO 27447:2009 szabványban foglaltak szerint jártam el, a méréseket több tesztbaktériumon is elvégeztem, amelyek között nemzetközi referenciatörzsek: *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 29522, , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és klinikai izolátumok: *Enterococcus faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* DH5 α is szerepeltek. A baktériumok tenyésztésére BHI-levest, agy és szív kivonatot tartalmazó táplevest (BHI-broth, Oxoid, Hampshire, UK) és Mueller-Hinton szilárd táptalajt (Bio-Rad, Budapest) alkalmaztam. A mikrobiológiai tesztek és mikroszkópos vizsgálatok során a baktériumok közege fiziológiás sóoldat (0,9%) volt.

3. Alkalmazott kísérleti módszerek

3.1. Reaktív nanokompozit vékonyrétegek szintézise

A mikrobiológiai minősítéseket kiindulási és funkcionizált ZnO és TiO₂ fotokatalizátor tartalmú felületek esetében végeztem. A fotokatalizátorok nanoméretű ezüsttel történő funkcionizálása fotoredukcióval történt.

3.2. Optikai tulajdonságok meghatározása

A fotokatalizátorok optikai tulajdonságait diffúz reflexiós (DR) vizsgálatokkal jellemeztem. A mérések során minden esetben a fotokatalizátor porok diffúz reflexiós spektrumait vettem fel CHEM 2000 UV-VIS spektrofotométer segítségével.

3.3. Fotooxidációs hatékonyság mérése

A nanokompozit filmek fotooxidációs hatékonyságát etanol tesztmolekula fotodegradációjának mérésével minősítettük szilárd/ gáz határfelületen. A reaktortérben az etanol-koncentrációt gáz kromatográffal (Shimadzu GC-14B) analizáltuk. A fotokatalitikus hatékonyság minősítése során használt fényforrás egy $\lambda=405$ nm-en emittáló LED-lámpa volt.

3.4. Disszociált ezüst ionok koncentrációjának meghatározása

A funkcionalizált fotokatalizátorok által disszociált Ag^+ (aq) ionok koncentrációjának meghatározását ezüst ion szelektív elektróddal, potenciometriás mérésekkel végeztem (Radelkis OP-Ag-0711 P elektród).

3.5. Szabadgyök koncentráció meghatározás

A reaktív gyökök keletkezése luminometriás mérésekkel bizonyítható, a kemilumineszcenciás méréseink alapját a luminol szabadgyökökkel való reakciója adja lúgos közegben. A fotokatalitikus reakciók során keletkező reaktív ágensek luminollal kölcsönhatásba lépve kék fényt bocsátanak ki, mely intenzitása a keletkező szerves gyökök számával arányos és luminométerrel detektálható.

3.6. Reaktív nanokompozitok mechanikai tulajdonságainak mérése

A vékonyrétegek stabilitás vizsgálatát EN ISO 2409 szabvány szerint végeztük el. A vizsgálatok során az Elcometer 107 típusú rácsvágó készülékkel egymásra merőleges karcolásokat ejtettünk a filmek felületén, majd a bemetszéseket tartalmazó felületre ragasztószalagot helyeztünk és kb. 60° -os szögben feltéptük. A módszerből kifolyólag minél inkább stabilabb a film, annál kevesebb anyag marad a feltéptett ragasztószalagon. A filmeket spektrofotometriásan is jellemeztük: a feltéptett ragasztószalagot (az eltávolított katalizátorréteggel együtt) egy üveglemezre ragasztottuk, majd egy USB-4000-es Ocean Optics spektrofotométerrel meghatároztuk a filmek abszorbancia értékeit $\lambda = 450$ nm-nél. A módszerből kifolyólag minél több katalizátor marad a ragasztó felületén, a film annál kevesebb fényt enged át, így annál nagyobb lesz a mért abszorbancia és annál instabilabb a katalizátor réteg.

3.7. Toxicitás tesztek

A biolumineszcencia, mint valamilyen élő rendszer általi lumineszcens fénykibocsátás, számos környezeti toxikológiai teszt alapja. A különböző nanokompozit rétegek toxicitásának mérését az ISO 11348-3:2007 biolumineszcencia gátlási teszt alapján végeztem el. A teszt során fotokatalízis által bekövetkezett akut toxicitást mértem luminometriás módszerrel *Allovibrio fischeri* biolumineszcens baktériumon. A baktérium által kibocsátott fény intenzitásának csökkenése a reaktív nanokompozitok felszínén arányos a toxicitás mértékével.

3.8. Töltésmennyiség meghatározása

A baktériumok adhéziójának vizsgálatokor a fotokatalizátorok és baktériumok felületi töltését és a baktériumok adhézióját a fotokatalizátorok felületén MÜTEK PCD-04 töltéstitráló készülék segítségével határoztam meg. A töltéstitrálásos mérések során a vizsgált rendszer áramlási potenciálját mérjük, miközben ellentétes töltésű tenzid oldattal titráljuk azt. A fogyott tenzid oldat térfogatából, koncentrációjából és annak töltéséből a vizsgált rendszer töltése számítható.

3.9. Bakteriális sejtfalkomponens szerkezetvizsgálata transzmissziós elektronmikroszkóp alkalmazásával

A látható fényvel gerjesztett Ag-TiO₂ fotokatalizátor bakteriális sejtfalra gyakorolt hatását Philips CM 10 TEM transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltam *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* peptidoglikán rétegen.

3.10. Fotokatalizátorok antibakteriális hatásának mérése fluoreszcens mikroszkóppal és fluorimetriás mérésekkel

A nanokompozitok felszínén megtapadó baktériumok életképességét fluoreszcens festési eljárással határoztam meg. A baktériumok jelölésére Baclight LIVE/DEAD Bacterial Viability L7007 fluoreszcens festék kivetet használtam, amely két eltérő emissziós spektrummal rendelkező festéket tartalmaz (Syto 9 és propidium jodid). A SYTO 9 festék az élő és inaktivált sejteket jelölő sejtfal permeábilis festék. A propidium jodid ezzel szemben az intakt sejtfal számára átjárhatatlan, viszont ha a sejtfal külső kémiai vagy fizikai hatásra sérül, a festék bejut a sejt belsejébe és az ott megtalálható SYTO 9 festék intenzitását csökkenti. A festékek együttes alkalmazása esetén a módszer alkalmas az élő és inaktivált baktériumok vizuális megkülönböztetésére. A baktériumok adhézióját a fotokatalizátorok részecskék által alkotott aggregátumok és nanokompozitok felszínén, illetve a bakteriális sejtfal szerkezetének állapotát L5 és N2.1 szűrőrendszerrel és fáziskontraszt gyűrűkkel felszerelt Leica DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltam.

3.11. Antibakteriális hatás kvantitatív mérése telepszámlálós módszerrel

A fotokatalizátor/polimer nanokompozit filmek antibakteriális hatását a 27447:2009 ISO szabvány módosított változatával is mértem, a vizsgálati módszert a kísérleti körülményeknek megfelelően optimalizáltam. A kiindulási csíraszám a szabvány által meghatározott 1×10^5 - 5×10^5 CFU/ml volt. A különböző humán patogén baktériummal mesterségesen fertőzött reaktív nanokompozit filmeket 405 nm-es kék fényű LED fényforrással gerjesztettem és csíraszám csökkenést mértem az idő függvényében. A csíraszám csökkenés mértéke (%) mindig az adott időponthoz tartozó csíraszám (R) és kezdeti csíraszám értékének (R_0) hányadosából adódott: R/R_0 .

Új tudományos eredmények:

1. A nanokompozit rétegek reaktivitása

1.1. Etanol fotooxidációja a fotokatalizátor/polimer nanokompozitok felszínén [4]

A polimer tartalom jelentősen befolyásolta a reaktív nanokompozit rétegek stabilitását és fotooxidációs hatékonyságát. A mechanikai tulajdonság és fotooxidációs hatékonyság mérések eredményei alapján a nanokompozit rétegek 60/40% fotokatalizátor/polimer arány mellett mutattak megfelelő fotoreaktív hatást erőteljes tapadási értékek mellett. A reaktív rétegek fotooxidációs hatékonyságának gázkromatográfiás mérései során megállapítottam, hogy 30 perc alatt a legtöbb etanolt a 0,25 m/m%-1 m/m% ezüst koncentrációk közül a 0,5m/m% ezüstöt tartalmazó TiO₂ rétegek ($\Delta c_{\text{EtOH}} = 2,92 \text{ mmol/dm}^3/\text{g}$) és a 0,25m/m% ezüstöt tartalmazó ZnO ($\Delta c_{\text{EtOH}} = 1,96 \text{ mmol/dm}^3/\text{g}$) rétegek bontották el látható fényel történő bevilágítás mellett ($\lambda > 400\text{nm}$).

1.2. A nanokompozitok felszínén keletkező hidroxil gyök képződés eredményei [3]

A nanokompozit rétegek felületén képződő OH \cdot koncentráció lineáris összefüggést mutat a fotokatalizátor tartalom és a bevilágítási idő növekedésével. A nanokompozitok 30 perces bevilágítása esetén az Ag-TiO₂ tartalmú nanokompozitok felületén képződő hidroxilgyökök koncentrációja volt a legmagasabb ($c_{\text{OH}\cdot} = 0,365 \text{ mM}$). TiO₂ tartalom esetében ez az érték alacsonyabb volt ($c_{\text{OH}\cdot} = 0,294 \text{ mM}$), míg a ZnO és Ag-ZnO tartalmú nanokompozit rétegek esetében lényegesen kevesebbnek adódott (ZnO: $c_{\text{OH}\cdot} = 0,151 \text{ mM}$; Ag-ZnO: $c_{\text{OH}\cdot} = 0,178 \text{ mM}$). Mindkét fotokatalizátor példáján kitűnik, hogy az ezüst nanorészecskék ($d_{\text{DLS}} \sim 10\text{nm}$) jelenléte a katalizátor felszínén növeli az elektronok rekombinációs idejét, valamint azzal is számolhatunk, hogy a hidroxil gyök elektron kölcsönhatás szuperoxid gyököt hoz létre, amely szintén szerepet játszhat a felületi reaktivitás növekedésben (ld. disszertáció 30.old. 14. ábra).

2. A TiO₂ és ZnO tartalmú kompozit rétegek toxicitásának meghatározása

2.1. Reaktív felületek hatása *Allovibrio fischeri* biolumineszcenciájára [2]

A fotokatalizátorok toxicitását *Allovibrio fischeri* biolumineszcens baktérium által kibocsátott fény intenzitásának luminometriás mérése alapján állapítottam meg. A baktériumok lumineszcenciája a különböző fotokatalizátort (TiO₂, Ag-TiO₂, ZnO, Ag-ZnO) tartalmazó nanohibrid filmekben eltérő mértékű volt. A biolumineszcencia intenzitása az Ag-TiO₂-t tartalmazó kompozit filmekben a kontrollhoz képest 95,86%-ot csökkent 120 perces bevilágítást követően, míg a sötétkontroll esetében csak 29,52%-ot. Ezért megállapíthatjuk, hogy a biolumineszcenciás intenzitás csökkenés a látható fénnel bevilágított 60/40 Ag-TiO₂/polimer összetételű reaktív nanokompozit tartalomnak köszönhető.

1. táblázat *Allovibrio fischeri* biolumineszcencia változása 30 perc látható fénnel történő bevilágítás hatására különböző fotokatalizátort tartalmazó reaktív nanokompozitok esetében

	polimer tartalom (40 m/m%)	Nanokompozit filmek fotokatalizátor tartalma (60 m/m%)				
		polimer	TiO ₂	Ag-TiO ₂	ZnO	Ag-ZnO
Biolumineszcencia csökkenés (Δ RLU%)	bevilágított	7,09	16,03	22,1	54,17	82,96
	sötétkontroll	2,5	4,07	10,44	32,91	58,68

A ZnO fotokatalizátort tartalmazó nanohibrid filmek esetében a biolumineszcencia csökkenés fény hiányában is jelentős volt, az eredmények a ZnO felületéről disszociált Zn⁺ (aq) ionok toxikus tulajdonságával magyarázhatók.

Az Ag-ZnO tartalmazó nanohibrid filmeknél 30 perc után a sötétkontroll esetében is 58,68%-os biolumineszcencia csökkenés történt (**1. táblázat**), így a kémiai és mikrobiológiai minősítések eredményeivel összevetve (**2. táblázat**) kijelenthetjük, hogy ezek a rétegek rendelkeznek a legerősebb toxicitással a vizsgált nanohibrid filmek között.

2. táblázat A nanokompozitok reaktivitásának vizsgálata különböző fotokatalizátorok alkalmazásakor

Minősítések fajtái/Fotokatalizátor tartalom	polimer	TiO₂	Ag-TiO₂	ZnO	Ag-ZnO
30 perc alatt különböző fotokatalizátor tartalmú nanokompozit rétegek felszínén képződő OH• koncentráció (mM)	0,043	0,294	0,365	0,151	0,178
30 perc alatt különböző fotokatalizátor tartalmú nanokompozit rétegek felszínén elbontott etanol mennyisége (mM/dm ³ /g)	0,003	1,52	2,92	0,84	1,96
30 perc alatt a nanokompozitok felszínén életben maradt baktériumok biolumineszcencia értéke a kiindulási biolumineszcenciához képest [RLU% =(RLU/RLU ₀)×100]	2,5	4,07	10,44	32,91	58,68
A nanokompozitok felszínén 30 perc alatt bekövetkező csíraszám csökkenés a kiindulási csíraszám értékekhez képest R% = R/R ₀	0,55	17,03	88,46	29,43	22,37

2.2. A nanohibrid filmek által disszociált ezüst ionok szerepe az antibakteriális hatás kialakításában [2]

Az immerziós/ kioldódási méréseink alapján adott felületű és Ag⁰ tartalmú nanohibrid film felületéről az oldatba disszociált Ag⁺ (aq) ionok koncentrációja 0,14 ppm-nek adódott desztillált vízben 1 hét alatt. Ezzel szemben a szakirodalomban feltüntetett antibakteriális ezüst koncentráció minimuma: 0,22 ppm. Mikrobiológiai mérésekkel igazoltam, hogy a poliakrilát hordozóba ágyazott ezüst a fenti alacsony koncentrációnak köszönhetően önmagában nem okoz antibakteriális hatást, ugyanis 120 perc kontaktidő után a kezdeti csíraszám értékhez (0 perc) viszonyított csíraszám csökkenés mindössze R/R₀= 4,74±4,51% volt.

3. Ezüsttel funkcionizált TiO₂ fotodestruktív hatása a Gram-pozitív és Gram-negatív baktérium sejtfal izolált peptidoglikán rétegére [3]

A fotokatalizátorok baktériumokra gyakorolt destruktív hatását megvizsgáltuk a bakteriális sejtfalat alkotó és a sejtfal stabilitásáért jelentős mértékben felelős peptidoglikán (murein) réteg esetében. A baktérium sejtfal izolált peptidoglikán rétege esetében egy új módszert alkalmaztam a fotokatalizátorok hatásának vizsgálatára. A teszteket elvégeztem *Escherichia coli* (Gram-negatív) és *Staphylococcus aureus* (Gram-pozitív) izolált peptidoglikán rétegeken is. A bakteriális sejtfalkomponens degradációját Ag-TiO₂ fotokatalizátor hatására transzmissziós elektronmikroszkóp felvételekkel mutattam be 60 és 120 perc bevilágítás után,

13500x nagyítás mellett. Méréseinkkel bizonyítottam, hogy a fotokatalízis folyamán képződött szabadgyökök jelentős mértékben degradálják a sejtfal legjelentősebb védelmi rendszerét, már 60 perc után is mindkét típusú bakteriális sejtfalkomponens esetében. Megállapítottam, hogy *Escherichia coli* sacculusok esetében erősebb a destruktív hatás a Gram-negatív baktériumokra jellemző vékonyabb peptidoglikán réteg miatt.

4. Baktériumok felületi adhéziójának szerepe az antibakteriális hatás kialakulásában

4.1. Az adhéziós viszonyok kvantitatív jellemzése [1]

A TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátorok és baktériumok között kialakuló elektrosztatikus kölcsönhatásokat – a szakirodalomban elsőként - töltéstitrálásos módszerrel jellemeztem az *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktériumok esetében (3. táblázat). Az eredményeink szerint a baktériumok felületi töltése negatív, amelyek értéke *Escherichia coli* esetében -1,33 µeq/10⁹ CFU, *Pseudomonas aeruginosa* esetében -3,19 µeq/10⁹ CFU és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* esetében -0,89 µeq/10⁹ CFU volt (3. táblázat). A baktériumok esetében mért negatív töltéseket kompenzálja a TiO₂, amelynek ekvivalens töltése +0,123 meq/g, és ezáltal a pozitív töltésű TiO₂ nanorészecskék képesek beborítani a baktériumok felületét.

3. táblázat A baktériumok felületi töltése HDPCI tenziddel és TiO₂ fotokatalizátorral szemben történő titrálás esetében

Baktérium (10 ⁹ CFU)	HDPCI	TiO ₂
	µeq/10 ⁹ CFU	g TiO ₂ / 10 ⁹ CFU
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522 (Gram-negatív)	-1,33	0,65
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (Gram-negatív)	-3,19	2,07
methicillin rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (Gram-pozitív)	-0,89	2,47

Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a fotokatalizátorok és baktériumok kölcsönhatásában az elektrosztatikus vonzás mellett szerepet játszik a sejtfal felületén bekövetkező aggregáció és a Gram-pozitív methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* sejtfal specifikus szerkezete is. A TiO₂ részecskék erősebben kapcsolódnak a Gram-pozitív baktériumok sejtfalához, mint a Gram-negatív baktériumok esetében, ez a peptidoglikán struktúra sejtfalban lévő elhelyezkedésének köszönhető. Gram-negatív baktériumok esetében

a TiO₂ részecskék és az általuk produkált szabadgyökök nem a peptidoglikán rétegre fejtik ki közvetlen destruktív hatásukat, itt csak egy vékony lipopoliszachharid réteg védi a sejtet a külső hatásoktól. A Gram-pozitív baktériumok esetében viszont a destruktív hatások a sejtfalat alkotó vastag peptidoglikán réteget érik, ezáltal a sejt a külső hatásokkal szemben jobban védett.

4.2. A felületi reaktivitás szerepe a baktériumok sejtfelszerkezetére [1]

A reaktív felületek antibakteriális hatását fluoreszcens festékekkel bizonyítottam, amelyekkel az élő és inaktivált baktériumok megkülönböztethetők. A fluorimetriás mérések eredményeinek kiértékelése során minden esetben az élő baktériumokhoz tartozó SYTO 9 fluo festék emissziós csúcs intenzitáscsökkenésének százalékos eredményeit számoltam, mivel a rendszerben csak a Syto 9 emissziója változott. *Pseudomonas aeruginosa* baktérium esetében a vizsgálat kezdetén is láthatunk sérült membránnal rendelkező baktériumokat az Ag-TiO₂ fotokatalizátorok felszínére kötődve, ami összhangban van a töltés meghatározások eredményeivel. *Escherichia coli* esetében az intenzitás csökkenése 81,36% volt. Hasonló eredményeket kaptunk *Pseudomonas aeruginosa* esetében 85,65% és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* esetében 89,5%, amely megegyezik az ISO 27447:2009 szabvány szerint végzett kvantitatív telepszámlálásos vizsgálatok eredményeivel, miszerint a fotokatalízis folyamatára legérzékenyebb baktérium Ag-TiO₂ esetében a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* volt ($R_{60}/R_0 = 42,83\%$). A fenti mérésorozatból kiderült, hogy az egymástól független mikrobiológiai mérési technikák eredményei egymással összeegyeztethetők, az eredmények konzekvensek.

4. Táblázat Különböző fotokatalizátorokhoz (fotokatalizátor: polimer tartalom: 60m/m%:40m/m%) tartozó kémiai és mikrobiológiai minősítések összesítő táblázata

Fotokatalizátorok		polimer	TiO ₂	Ag-TiO ₂	ZnO	Ag-ZnO
Fotooxidációs bontások (mM _{etanol} /dm ³ /g fotokatalizátor)		0,00	1,51	2,92	0,84	1,96
Toxicitás _{sötét} [(RLU/RLU ₀)×100]		7,9	10,62	29,52	89,94	95,85
Antibakteriális hatás (R/R ₀ t = 120 perc	Plextol hidrofil	17,41	98,65	99,99	97,10	86,23
	Prolak hidrofil	74,88	99,99	100,00	94,00	99,80
	Epoxi gyanta hidrofób	89,83	99,53	99,86	100,00	100,00

5. A reaktív nanokompozitok antibakteriális hatásának összehasonlító vizsgálata [3]

A mikrobiológiai vizsgálatok során a különböző poliakrilát hordozóba ágyazott fotokatalizátor (TiO₂, Ag-TiO₂, ZnO, Ag-ZnO) tartalmú nanohibrid filmek eltérő antibakteriális tulajdonságot mutattak rövid kontaktidejű (0-120 perc) összehasonlító vizsgálatok esetében. A polimer hordozók közül a legkisebb toxicitást a hidrofil Plextol tartalmú nanohibrid filmek eredményezték ($R_{120}/R_0=17,4\%$), ezek közül a legjobb fotokatalitikus hatékonyságot pedig azok a rétegek, amelyek Ag-TiO₂ fotokatalizátort tartalmaztak ($R_{120}/R_0 = 99,99\%$) (**4. táblázat**).

Hidrofób Epoxi gyanta és hidrofil Prolak hordozók esetében a hordozón sötétben mért antibakteriális kontrollvizsgálatok is $R/R_0 = 74,88\% - 89,83\%$ -os (**4. táblázat**) csíraszám csökkenést eredményeztek, így ezek a rétegek nem alkalmasak a polimerekbe ágyazott fotokatalizátorok csíraszám csökkentő hatásának bizonyítására, ui. maga a polimer réteg is jelentős csíraszám csökkentő hatással bír. A ZnO tartalmú filmek esetében Epoxi gyanta és Prolak hordozón az antibakteriális hatás a hordozók toxicitása, a Zn²⁺ (aq) - ionok toxicitása és a fotokatalízis szinergikus hatásának köszönhető (**4. táblázat**). A vizsgálatok során megállapítottam, hogy az Ag-ZnO tartalmú nanokompozit filmek kisebb mértékű antibakteriális hatást mutattak, mint a kiindulási ZnO-ot tartalmazó filmek. A szintetizált és kifejlesztett rétegek jó baktériumölő hatást mutattak, mechanikailag stabilak és a környezetre nem ártalmasak, ezért az egészségügyben egy prevenció stratégiai irányelv főszereplői lehetnek.

6. Reaktív nanokompozit rétegek alkalmazása az egészségügy területén

6.1. Nanokompozit tartalmú diszperziós festék alkalmazása

Az ezüst tartalmú reaktív nanokompozit rétegeket sikeresen alkalmaztam a Szegedi Tudományegyetem Gyermekklinika Újszülött Osztályának engedéllyel elkülönített szobájában, ahol a helyiség falait Ag-TiO₂ fotokatalizátort tartalmazó diszperziós festékkel (szabadalmi ügyiratszám: P1200745) kezeltem és csíraszám csökkenést mértem 0, 24 és 48 órás kontaktidő függvényében, az eredményeket telepszámlálásos módszerrel értékeltem ki. Az elő kísérletekben methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* és extended spectrum beta-lactamase-t termelő *Enterobacter cloacae* törzsek esetében teszteltem a reaktív rétegek antibakteriális hatását 0,25 mg/cm² – 1 mg/cm² felületi fotokatalizátor tartalom esetében ISO 27447:2009 szabvány alkalmazásával. A tesztek eredményei megfelelő csíraszám csökkenést

(5 log) mutattak már 120 perc kontaktidő alatt ($R_{120}/R_0=100\%$) 60 és 80 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett ($0,6 - 0,8 \text{ mg/cm}^2$), ezért a mechanikai stabilitást is figyelembe véve a szobát 60 m/m%-os fotokatalizátor tartalmú réteggel kezeltem. A vizsgálat végén megállapítottam, hogy a kezdeti csíraszám értékek 99,9%-al csökkentek 48 óra eltelte után a kontroll mintákhoz viszonyítva (R_{48}/R_0). A reaktív réteg egy egészségügyi intézmény helyiségében képes inaktiválni a falfelületeken előforduló mikroorganizmusokat 48 órás kontaktidő után. Az eredményeket a Global Medical Discovery folyóiratban, a világ egyik vezető orvosi kutatásokkal foglalkozó folyóiratában is publikáltam.

6.2. Reaktív felületek alkalmazása levegőtisztításra [3]

Ezüsttel funkcionizált fotokatalizátor réteget sikeresen alkalmaztunk levegőtisztításra laboratóriumi körülmények között egy a General Electric Hungary Kft. által szabadalmaztatott (szabadalmi ügyiratszám: US 2013/00942204) lámpatest belső rétegeként. A reaktív lámpa normál funkciója mellett képes a levegőben megtalálható mikroorganizmusok inaktiválására 24 és 48 órás kontaktidő után a lámpatest belsejében lévő Ag-TiO₂ réteg és a réteget aktiváló belső LED-fényforrás segítségével. A levegőben lévő mikroorganizmusok elpusztulnak 24 és 48 óra működés után, ezáltal biztosítva a folyamatos levegőtisztítást. A laboratóriumi tesztek során különböző időpontokban vett csíraszám csökkenést mértem: $R_{24h} = 74 \pm 2,45\%$; $R_{48h} = 98 \pm 1,9\%$.

Publikációk az értekezés témájában

- [1.]Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Elisabeth Nagy, Ágota Deák, Ádám Juhász, Edit Csapó, Norbert Buzás, Imre Dékány: Adhesion and inactivation of Gram-negative and Gram-positive bacteria on photoreactive TiO₂/polymer and Ag-TiO₂/polymer nanohybrid films. Applied Surface Science 371:139-150 (2016) **(IF: 2,711)**
- [2.]Szabolcs Péter Tallósy , László Janovák, Judit Ménesi, Elisabeth Nagy, Ádám Juhász, László Balázs, István Deme, Norbert Buzás, Imre Dékány: Investigation of the antibacterial effects of silver-modified TiO₂ and ZnO plasmonic photocatalysts embedded in polymer thin films. Environmental Science and Pollution Research 21:1155-1167 (2014) **(IF=2.83)**
- [3.]Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Judit Ménesi, Elisabeth Nagy, Ádám Juhász and Imre Dékány: LED-light activated antibacterial surfaces using silver-modified TiO₂ embedded in polymer matrix. Journal of Advanced Oxidation Technologies 17:9-16 (2014) **(IF = 0.99)**
- [4.]Ágnes Veres, László Janovák, Tamás Bujdosó, Tamás Rica, Eleonóra Fodor, Szabolcs Péter Tallósy, Norbert Buzás, Elisabeth Nagy, Imre Dékány: Silver and Phosphate Functionalized Reactive TiO₂/Polymer Composite Films for Destructions of Resistant Bacteria Using Visible Light. Journal of Advanced Oxidation Technologies, 15:205-216 (2012) **(IF = 0.99)**

Σ_{IF} = 7,521

Egyéb közlemények:

- [5.]Ágota Deák, László László Janovák, Szabolcs Péter Tallósy, Tamás Bitó, Dániel Sebők, Norbert Buzás, István Pálinkó, Imre Dékány. Spherical LDH-Ag^o-montmorillonite heterocoagulated system with a pH-dependent sol-gel structure for controlled accessibility of AgNPs immobilized on the clay lamellae. Langmuir. 31:2019-2027 (2015) (IF = 4,457)
- [6.]László Janovák, Szabolcs Péter Tallósy, Mihály Sztakó, Ágota Deák, Tamás Bitó, Norbert Buzás, György Bártfai, Imre Dékány. Synthesis of pH-sensitive copolymer thin solid films embedded with silver nanoparticles for controlled release and their fungicide properties Journal of Drug Delivery Science and Technology 24:628-636 (2014) (IF = 0,734)
- [7.]Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Judit Ménesi, Elisabeth Nagy, Ádám Juhász, László Balázs, István Deme, Norbert Buzás, Imre Dékány. Investigation of the antibacterial effects of silver-modified TiO₂ and ZnO plasmonic photocatalysts embedded in polymer thin films. Global Medical Discovery <https://globalmedicaldiscovery.com/key-scientific-articles/investigation-antibacterial-effects-silver-modified-tio2-zno-plasmonic-photocatalysts-embedded-polymer-thin-films/>
- [8.]Dékány Imre, Janovák László, Nagy Erzsébet, Buzás Norbert, Tallósy Szabolcs Péter: A napenergia hasznosítása; A környezetre veszélyes anyagok lebontása egészségünk védelme céljából – Innovatív megoldások a vegyszermentes fertőtlenítés területén; Magyar Tudomány 10:1181-1188 (2013)

Σ_{IF} = 12.712

Könyvfejezetek:

- [9.]Dékány Imre, Janovák László, Tallósy Szabolcs Péter: A napfény energiájának hasznosítása különböző szennyezett felületek, vizek és talajok tisztítására, Környezetipar, újraiparosítás és regionalitás Magyarországon, Szerkesztették: Baranyi Béla és Fodor István, oldal: 295-306; (2013)

Előadások:

1. Tallósy Szabolcs Péter: Reaktív hibrid nanokompozit felületek antibakteriális hatásának vizsgálata; MTA kolloidkémiai munkabizottsági ülés 2014.május 23. Velence
2. Tallósy Szabolcs Péter: Reaktív hibrid nanokompozit felületek antibakteriális hatásának vizsgálata; Anyagtudományi előadássorozat, Szegedi Akadémiai Bizottság Székháza 2014. április 1.
3. Tallósy Szabolcs Péter: Fény hatására aktiválható nanohibrid kompozitok antibakteriális hatása; az MTA Szegedi Területi Bizottság által szervezett „A nanotechnológia alkalmazási lehetősége a környezet- és egészségiparban című” rendezvénye; Szeged, 2012. november 22.
4. Dékány Imre, Tallósy Szabolcs Péter: Reaktív hibrid nano kompozit felületek öntisztuló és antibakteriális hatása; II. Nano fórum, Budapest, Kutatás-Fejlesztés-Innováció-Alkalmazástechnika BKIK Kézműipari Tagozat IX. Épülettisztító Szabadegyetem 2013. április 17.
5. László Janovák, Szabolcs Péter Tallósy, Norbert Buzás, Imre Dékány. Intelligent drug releasing system for the treatment of female genital infection. Scientific meeting organized by the Reproductive Health Group, Szeged Committee of Hungarian Academy of Sciences; Szeged, 2013. november 28.
6. Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Norbert Buzás, Imre Dékány. Antifungal properties of silver and copper nanoparticles against *Candida albicans*. Scientific meeting organized by the Reproductive Health Group, Szeged Committee of Hungarian Academy of Sciences; Szeged, 2013. november 28.

Poszterek:

7. Ádám Juhász, Szabolcs Péter Tallósy, Ágnes Veres, László Janovák, Norbert Buzás, Imre Dékány. Adhesion and Inactivation of G(+) and G(-) Bacteria on Photocatalyst/Polymer Hybrid Surfaces. The 3rd International Conference on Photocatalytic and Advanced Oxidation Technologies for the Treatment of Water, Air, Soil and Surfaces 2015.szeptember 1-4.
8. László Janovák, Szabolcs Péter Tallósy , Ágnes Veres , Ádám Juhász , Norbert Buzás, Imre Dékány. Development of Photocatalyst Particle Containing Polymer Hybrid Films for the Inactivation of Bacteria by Visible Light; The 3rd International Conference on Photocatalytic and Advanced Oxidation Technologies for the Treatment of Water, Air, Soil and Surfaces 2015.szeptember 1-4.
9. Szabolcs Péter Tallósy, Elisabeth Nagy, Eleonóra Fodor, László Janovák, Judit Ménesi, Norbert Buzás, Imre Dékány: Antimicrobial activity of plasmonic photocatalysts in polymer nanohybrid layers against nosocomial pathogens Workshop „Functionalized Surfaces and Nanocomposites, Joint meeting of WG2 – WG4, COST action CM1101-Szeged-2013;
10. László Janovák, Szabolcs Péter Tallósy, Norbert Buzás, Imre Dékány: Antibacterial and antifungal effect of pH- sensitive hydrogels with embedded nanoparticles; Workshop „Functionalized Surfaces and Nanocomposites, Joint meeting of WG2 – WG4, COST action CM1101-Szeged-2013;
11. Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Judit Ménesi, József Sóki, Elisabeth Nagy, Norbert Buzás, Ádám Juhász, Imre Dékány: Investigation of antibacterial effect of non-harmful, visible-light-activated photocatalysts; 113th General Meeting, American Society for Microbiology, May 18-21, 2013, Denver, Colorado
12. Janovák László, Tallósy Szabolcs Péter, Bitó Tamás, Buzás Norbert, Bártfai György, Dékány Imre: Hidrogél nanokompozit alapú hatóanyag leadó rendszerek antifungális hatása A „Nők Egészsége, Családok Egészsége- Védőnők és Orvosok az Egészségesebb Európai Polgárokért” Konferencia, Szeged, 2013. március 22.
13. Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Elisabeth Nagy, Norbert Buzás, Ádám Juhász, Imre Dékány, László Balázs, István Deme: Antimicrobial effect of silver functionalized TiO₂ coated lamp surface in indoor air sample using LED light sources; 5th Szeged International Workshop on Advances in Nanoscience, 24-27, October, 2012, Szeged

14. Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Elisabeth Nagy, Norbert Buzás, Ádám Juhász, Imre Dékány, László Balázs, István Deme: Silver functionalized TiO₂ coated lamp activated with LED light source has an antimicrobial effect in indoor air sample; A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2012. évi Nagygyűlése, 2012. október 24-26., Keszthely
15. Sóki József, Tallósy Szabolcs Péter, Nagy Erzsébet, Janovák László, Dékány Imre: Ezüsttel funkcionizált TiO₂ nano partikulumok hatása DNS-re; A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2012. évi Nagygyűlése, 2012. október 24-26., Keszthely
16. Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Judit Ménesi, Elisabeth Nagy, Norbert Buzás, Ádám Juhász, Imre Dékány; Antimicrobial activity of plasmonic photocatalysts in polymer nanohybrid layers against nosocomial pathogens; 3rd European Symposium on Photocatalysis 2013 szeptember 25 – 27. Portoroz
17. Szabolcs Péter Tallósy, László Janovák, Judit Ménesi, Elisabeth Nagy, Norbert Buzás, Ádám Juhász, Imre Dékány; Adhesion and inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria on different photocatalysts; 8th European Meeting On Solar Chemistry and Photocatalysis: Environmental Application 2014.06.24-28. Greece; Thessaloniki

Szabadalmak:

18. Dékány Imre, Buzás Norbert, Janovák László, Juhász Ádám, Tallósy Szabolcs Péter; *Eljárás antibakteriális festékrétegek felvitelére különböző falfelületeken* Magyar Szabadalom, bejelentés ideje: 2012., Ügyiratszám: **P1200745**
19. Sebők Dániel, Tallósy Szabolcs Péter, Janovák László, Dékány Imre, Mészáros Antal, Onderó Béla: *Eljárás baktériumok helyszíni detektálására, valamint eljárás antibakteriális anyag hatékonyságának kimutatására helyben izolált baktériumok detektálásával* Magyar Szabadalom, bejelentés ideje: 2016., Ügyiratszám: **P1600068**

Megjelent dolgozatok száma: **8**
 Összesített hatástényező: **12,712**
 Független hivatkozások száma: **11**

ebből az értekezés témájában: 4
ebből az értekezés témájában: 7,521
ebből az értekezés témájában: 10

Társszerzői lemondó nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy Tallósy Szabolcs Péter Jelölt téziseit ismerem, meghatározó szerepét a tézisekben foglalt tudományos eredményekhez elismerem, az eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használtam fel, s tudomásul veszem, hogy azokat ilyen célból a jövőben sem használhatom fel.

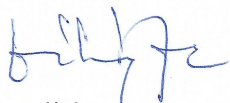
Szeged, 2016. május 06.

Első szerző:

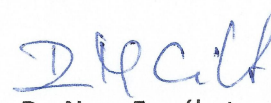


Dr. Veres Ágnes

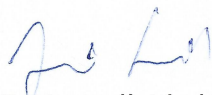
Társszerzők:



Dr. Dékány Imre



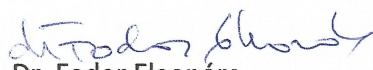
Dr. Nagy Erzsébet



Dr. Janovák László



Dr. Buzás Norbert



Dr. Fodor Eleonóra



Dr. Ricza Tamás



Bujdosó Tamás