

Reaktív hibrid nanokompozit felületek antibakteriális hatása

Doktori (Ph.D.) értekezés

Tallós Szabolcs Péter

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)



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

Környezettudományi Doktori Iskola

Szeged

2016

Rövidítések:

AFM – Atomic force microscopy - atomi erő mikroszkópia

ATCC – American Type Culture Collection -

c.e.p – Charge equivalence point - Töltés ekvivalencia pont

CFU – Colony forming unit - telepképző egység

DNS - Deoxyribonucleic acid - Dezoxiribonukleinsav

DRS – Diffuse reflectance spectroscopy - diffúz reflexiós spektroszkópia

ESBL - Extended spectrum beta-lactamase - Kiterjedt béta laktamáz enzimeket termelő

EtOH – Ethanol - etanol

GC – Gas chromatography - gázkromatográfia

GE – General Electric

HDPCl - Hexadecil-Piridinium-chloride - hexadecil-piridínium-klorid

LB – Luria - Bertani liquid medium – Luria - Bertani folyékony táptalaj

OD – Optical density – Optikai denzitás

p(EA-ko-MMA) – poli (etil akrilát co metil metakrilát) - Plextol

PBE- poli(biszfenol-a –ko – epiklórhidrin) - Epoxi gyanta

PI – Propidium iodide - propídium jodid

PSA - poli(sztírol-ko-akrilát) - Prolak

RLU – Relative light unit – Relatív fényegység

RNS – Ribonucleic acid - Ribonukleinsav

SDS – Sodium dodecile sulfate – nátrium-dodecil-szulfát

TCD – Thermal conductivity detector – Hővezetést mérő detektor

TEM – Transmission electron microscopy - transzmissziós elektronmikroszkópia

TOC – Total Organic Carbon – Teljes széntartalom

UV – Ultraviolet light – ultraibolya fény

VIS – Visible light - látható fény

XRD – X-ray diffraction – röntgendiffraktometria

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4
2. Célkitűzések	6
3. Irodalmi áttekintés	7
3.1. Felületfertőtlenítési eljárások	7
3.2. Nanorészecskék antibakteriális hatása	9
3.3. A fotokatalízis folyamata	12
3.4. A TiO ₂ jellemzése	13
3.5. TiO ₂ alapú módosított fotokatalizátorok	15
3.6. A cink-oxid jellemzése	15
3.7. A fotokatalizátorok immobilizálása	16
3.8. A fotokatalizátorok antimikrobás hatása	17
4. Anyagok és módszerek	20
4.1. Anyagok	20
4.1.1. Alkalmazott fotokatalizátorok	20
4.1.2. Fotokatalizátorok immobilizálásához alkalmazott polimerek	20
4.1.3. Ezüst disszociáció méréséhez alkalmazott anyagok	20
4.1.4. Felületi töltés meghatározásához alkalmazott anyagok	20
4.1.5. Mikroszkópos vizsgálatokhoz alkalmazott anyagok	21
4.1.6. Baktérium sejtfalból izolált peptidoglikán vizsgálatokhoz alkalmazott anyagok	21
4.1.7. Fotokatalizátorok antibakteriális vizsgálatához alkalmazott anyagok	21
4.1.8. Biolumineszcencia méréshez alkalmazott anyagok	21
4.2. Módszerek	22
4.2.1. Funkcionalizált fotokatalizátorok szintézise	22
4.2.2. Reaktív nanokompozit filmek preparálása	22
4.2.3. Reaktív nanokompozitok mechanikai stabilitásának mérése	24
4.2.4. UV/Vis spektrofotometria	27
4.2.5. Fotooxidációs hatékonyság meghatározása	28
4.2.6. Fotokatalizátorok felületén termelődő hidroxilgyök koncentráció mérése	29
4.2.7. A funkcionalizált fotokatalizátorok felületéről disszociált ezüst ionok koncentrációjának mérése	32
4.2.8. Baktériumok adhéziójának mérése a fotokatalizátorok felszínén	33
4.2.9. Ezüsttel funkcionalizált TiO ₂ fotokatalizátor hatására bekövetkező peptidoglikán réteg degradációjának vizsgálata	33
4.2.10. A reaktív nanokompozit filmek antibakteriális hatásának vizsgálata	35
4.2.11. Reaktív nanokompozitok toxicitásának mérése <i>Allovibrio fischeri</i> biolumineszcencia csökkenése alapján	37
4.2.12. Fotokatalizátorok antibakteriális hatásának vizsgálata fluoreszcens mikroszkóp alkalmazásával	38
5. Eredmények és kiértékelésük	40
5.1. A reaktív nanokompozitok optikai és mechanikai tulajdonságainak jellemzése	40
5.2. Fotooxidációs hatékonyság mérése	41
5.3. Reaktív nanokompozitok mechanikai stabilitásának növelése polimer kötőanyagok alkalmazásával	44
5.3.1. Hidrofil rögzítő anyag alkalmazása	44
5.3.2. Hidrofób rögzítő anyag alkalmazása	45

5.4.	Reaktív gyök (OH•) koncentráció meghatározás a reaktív nanokompozitok felületén	47
5.5.	Fotokatalizátorok és polimerek toxicitásának mérése	49
5.5.1.	Nanokompozit filmek toxicitásának megállapítása <i>Allovibrio fisheri</i> biolumineszcencia csökkenése alapján	49
5.5.2.	Ag-TiO ₂ fotokatalizátorokról disszociált Ag ⁺ (aq) ion koncentráció mérése ...	52
5.6.	Baktériumok adhéziója a fotokatalizátorok felületén	54
5.6.1.	Baktériumok és fotokatalizátorok felületi töltésének meghatározása	54
5.6.2.	Baktériumok életképességének vizsgálata a reaktív nanokompozitok felületén ..	62
5.7.	Ag-TiO ₂ fotokatalizátor hatása a bakteriális sejtfalból izolált peptidoglikánra.....	70
5.8.	Reaktív nanokompozitok antibakteriális hatása	73
5.8.1.	Hidrofób rögzítő anyagba ágyazott fotokatalizátorok antibakteriális hatása ..	74
5.8.2.	Hidrofil rögzítő anyagba ágyazott fotokatalizátorok antibakteriális hatása	82
6.	Reaktív nanokompozitok alkalmazásának lehetőségei egészségügyi területen	102
6.1.	Reaktív nanokompozitok alkalmazása felületen	102
6.2.	Reaktív nanokompozitok alkalmazása a levegőtisztításban.....	105
7.	Összefoglalás.....	108
8.	Summary	113
9.	Publikációk az értekezés témájában.....	117
	Köszönetnyilvánítás	121
10.	Irodalomjegyzék	122

1. Bevezetés

Napjainkban a tudomány az interdiszciplináris tudományterületek irányában jelentős fejlődést mutat. Az évszázadok alatt a különböző diszciplínákban összegyűjtött tudást ma már kombinálni kell, és az eddigi kutatások eredményeit egyre jobban azoknak felhasználhatósága minősíti. A nanotechnológia és a biológia évszázadunk intenzíven fejlődő ága, ezen belül az orvostudomány területén egyre kiterjedtebb kutatási témák alakultak ki, amelyek bizonyos betegségek célzott gyógyítására, vagy éppen azok megelőzésére irányulnak. Az orvostudományban az újkortól napjainkig megtalálhatók azok az alapeszmék, amelyek a gyógyításra, vagy megőrzésre vonatkoznak és minden esetben egyetlen közös nevezőjük maga az ember, az emberi szervezet komplikált összetétele, működése és válaszai a környezeti hatásokra. Louis Pasteur 1857-ben felfedezte, hogy a humán megbetegedések jelentős hányadáért a baktériumok felelősek, nem sokkal később Robert Koch 1870-ben a bakteriális eredetű betegségeket írta le és rendszerezte. Amikor Alexander Fleming 1928-ban felfedezte a penicillint még nem is sejtettük, hogy közel száz év múlva több mint 60 féle antibiotikummal tudunk majd az aktuális patogén mikroorganizmusok ellen védekezni. Léteznek azonban olyan baktériumok is, amelyek az eddig felfedezett, kifejlesztett és módosított antibiotikumokkal szemben rezisztenciát alakítottak ki, így ezek az antibiotikumok a különböző rezisztencia mechanizmusokkal rendelkező baktériumokkal szemben hatástalanok. Az ilyen veleszületett vagy szerzett antibiotikum rezisztens baktériumok terjedésének egyik oka a nem megfelelően megválasztott antibiotikum használata. Antibiotikum rezisztens baktériumok okozta fertőzések terjedésének másik oka a feleslegesen (pl. vírusok okozta felső légúti infekciók esetében) használt antibiotikumoknak a normál flóra baktériumaira való szelektív hatás, de hasonló rezisztencia szelekció mehet végbe akkor is, ha a hatékony antibiotikumot a beteg nem megfelelő dózisban és nem megfelelő ideig alkalmazza. Különös jelentőséggel bír, hogy kórházi környezetben az antibiotikum rezisztens vagy multirezisztens baktériumok terjedésének számos lehetősége adott. Egyrészt az immunszupprimált betegek számának emelkedése a kórházi környezetben kevésbé ellenálló gazdaszervezetet jelent az környezeti baktériumok számára, másrészt maguk a környezetet szennyező multirezisztens baktériumok átvitele kórházi eszközökkel, a szennyezett felszínekkel, vagy akár a levegővel is megtörténhet. A megelőzés nem csak a felületeken, hanem a levegőben, ivóvízben megjelenő mikroorganizmusok (esetleg antibiotikum rezisztens baktériumok)

elpusztításával is lehetséges, erre lehetőség van különböző vegyszerekkel, hőkezeléssel illetve UV fényel történő kezeléssel. Természetesen olyan mikroorganizmusokat is ismerünk, amelyek még a fent leírt fertőtlenítési eljárásnak is ellenállnak és tovább szaporodva veszélyes betegségeket okoznak, mint a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus*, amely baktérium a kórházakban gyakran előfordul és sok esetben multirezisztenciával is rendelkezik. Manapság számos tanulmány szól egy innovatív fertőtlenítési módszerről, amelynek lényege, hogy egy felületaktív anyag a fény segítségével szabadgyököket képez a felületen, elpusztítva a mikroorganizmusok széles spektrumát. Ezek az anyagok a fotokatalizátorok, melyek különböző hullámhosszúságú fényel megvilágítva felbontják a vízmolekulát hidrogéngázra és hidroxilgyökre illetve szuper oxid anionra. Manapság a leggyakrabban kutatott titán-dioxid (TiO_2) vízbontásra alkalmas fotokatalitikus hatását Akira Fujishima és Kenichi Honda fedezte fel, amelyet 1972-ben a Nature folyóiratban a fotoszintézishez hasonlított [1]. A szakirodalomból számos más fotokatalizátor is ismert, amelyek segítségével számos antibiotikum rezisztens és szenzitív, toxintermelő és biofilm képző baktérium, illetve más humán patogén mikroorganizmus is elpusztítható.

2. Célkitűzések

1. Antibakteriális hatású látható fény által gerjeszthető reaktív nanokompozitok szintézise hidrofób és hidrofil polimer kötőanyagba ágyazott, funkcionizált fotokatalizátorok segítségével
2. Szintetizált nanokompozitok optikai, fotooxidációs és diffúz reflexiós tulajdonságainak jellemzése
3. A fotokatalízis folyamatának az antibakteriális hatásban betöltött szerepének kvantitatív jellemzése ezüst disszociáció és toxikológiai mérésekkel
4. A fotokatalizátorok és baktériumok felületi töltésének mérése és az antibakteriális hatásban betöltött szerepének megállapítása
5. Ezüsttel funkcionizált TiO_2 részecskék hatásának képalkotó eljárással történő bemutatása Gram-pozitív és Gram-negatív baktérium sejtfalból izolált peptidoglikán rétegeken
6. Reaktív nanokompozitok felületén a baktériumok túlélésének bemutatása fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatokkal
7. A különböző fotokatalizátor összetételű és hidrofilitású, látható fénnel bevilágított reaktív nanokompozit felületeken túlélő baktériumok számának megállapítása telepszámlálós módszerrel
8. Reaktív nanokompozitok alkalmazásának kivitelezése az egészségügy területén

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Felületfertőtlenítési eljárások

A különböző humán patogén mikroorganizmusok és azok közül is a nozokomiális fertőzéseket okozó baktériumok évtizedek óta jelentős és egyre fokozódó közegészségügyi, terápiás és gazdasági problémát jelentenek. Ezek a humán patogén mikroorganizmusok egyes esetekben súlyos morbiditással és mortalitással járó betegségeket okoznak, és amennyiben megfelelő kezelés hiányában rezisztencia alakul ki az antibiotikumok és kezelési módszerek ellen a kórházi bennfekvéses idő növekszik az antibiotikum felhasználás és ellátás költségével együtt, nem beszélve a limitált kórházi ágyakról [2]. A kórházi környezet kedvez a multirezisztens baktériumok kialakulásának, szelektálódásának, terjedésük állandó forrása és rezervoárja [3]. A multirezisztens kórokozók által kiváltott fertőzések jelentősége igen nagy, tekintettel a súlyosabb kórformákra, a szűkülő terápiás lehetőségekre, a rosszabb gyógyulási esélyekre és a rendkívül költséges terápiás eljárásokra [4]. Az Európai Betegségmegelőzési és Járványügyi Központ (European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC) szakembereinek becslései szerint az Európai Unió 27 tagállama és 498 millió lakosa körében évente hozzávetőleg 4,5 millió nozokomiális fertőzés fordult elő, melyek éves halálozása 37000 körüli és további százezres nagyságrendű haláleset függ össze olyan betegségekkel, amelyet a páciensek egészségügyi intézményekben kaptak el [5]. Ezek a számok, illetve a kezelésekhöz tartozó gazdasági terhelés indokolja egy jól kialakított és megfontolt prevenció program kialakítását, amelybe beletartozik az orvosok és szakápolók felvilágosítása mellett a betegszobák, műtők és várók megfelelő fertőtlenítése. Ezen fertőtlenítési eljárások egyike a felületek tisztántartása és sterilizálása. A fent leírtakból következik, hogy az általános higiénia fenntartásához a felületek tisztántartása és fertőtlenítése az egyik legfontosabb intézkedés egészségügyi és oktatási intézményekben, ipari létesítményekben és nem utolsósorban otthonainkban is. A fertőtlenítési folyamatnak azonban rövid idő alatt kell végbemennie tekintve, hogy azok az épületek ahol az emberek nagy számban jelennek meg sokkal magasabb a fertőzésveszély [6]. A felületek fertőtlenítésére számos módszer alakult ki az utóbbi évtizedekben, ezek között szerepelnek a különböző vegyszerekkel illetve germicid lámpákkal történő fertőtlenítési módszerek [7]. A tisztítószerek alkalmazási területe a padlótól és falaktól a felületeken át az eszközökig és műszerekig terjed, a fertőtlenítő hatás mellett a tisztító

képesség és az környezetvédelmi szempontok is fontos szerepet játszanak. A fertőtlenítő eljárások történhetnek fizikai úton, kémiai úton vagy ezek kombinálásával. Fizikai fertőtlenítés történhet főzéssel, gőzöléssel, vagy az UV tartományban emittáló fényforrás segítségével. Kémiai fertőtlenítés körébe tartoznak a vegyszerrel történő fertőtlenítési módszerek, illetve fertőtleníthetünk még gázzal és különböző aerosolokkal is. A felületek fertőtlenítése fertőzés szempontjából frekvenciált területen leggyakrabban vegyszerekkel és UV-fénnyel történik, ezek előnyei a gyors antimikrobás hatás, viszont a leárnyékolt területeken a mikroorganizmusok tovább képesek szaporodni [8]. Ma már tudjuk, hogy a vegyszerekkel történő fertőtlenítés káros a környezetre és az emberre egyaránt, az UV-fény pedig szövetkárosító hatású, így ártalmas az emberi szervezetre is [9]. A fertőtlenítő szerekkel kapcsolatos követelmények között szerepel a gyors fertőtlenítő hatás, tehát rövid hatásidő, a mikroorganizmusok széles skálájára gyakorolt hatás, ami kiterjed a multi rezisztens törzsekre is. Fontos még, hogy az eljárás során a sterilizált felület ne károsodjon, ne változzon meg a szerkezete és nem utolsósorban ne legyen káros az emberi szervezetre sem. A fent említett felülettisztítási eljárások közé tartozik még egy innovatív eljárás is, amelynek lényege, hogy a felületeket egy új módszerrel, a nanotechnológiával módosítják, ezáltal a felületek új tulajdonságokat kapnak. A nanotechnológia korunk egyik leggyorsabban fejlődő tudományága [10]. A nanokémia nanoméretű anyagok különböző módszerekkel történő előállítását és kémiai módszerekkel történő minősítését jelenti. A reaktív nanorészecskékkel kezelt felületek teljesen új tulajdonságokat mutatnak, ezért azok számos új felhasználási lehetőségeket nyújtanak például a felületek tisztítása, páramentesítése területén. [11].

Nanométeres mérettartományba sorolható anyagok a természetben is gyakran előfordulnak és ma már mesterségesen is előállíthatók viszonylag egyszerű módszerekkel [12]. A nanotechnológia teljesen új felhasználási lehetőségeket nyújt például az üvegtechnikában páramentesítő hatást lehet vele kialakítani, az építőipar is alkalmazza felületek tisztítása céljából és nem utolsósorban már az orvostudomány is komolyan foglalkozik különböző nanotechnológiai eljárásokkal, mint terápiás lehetőséggel, célzott betegségek gyógyítására [13].

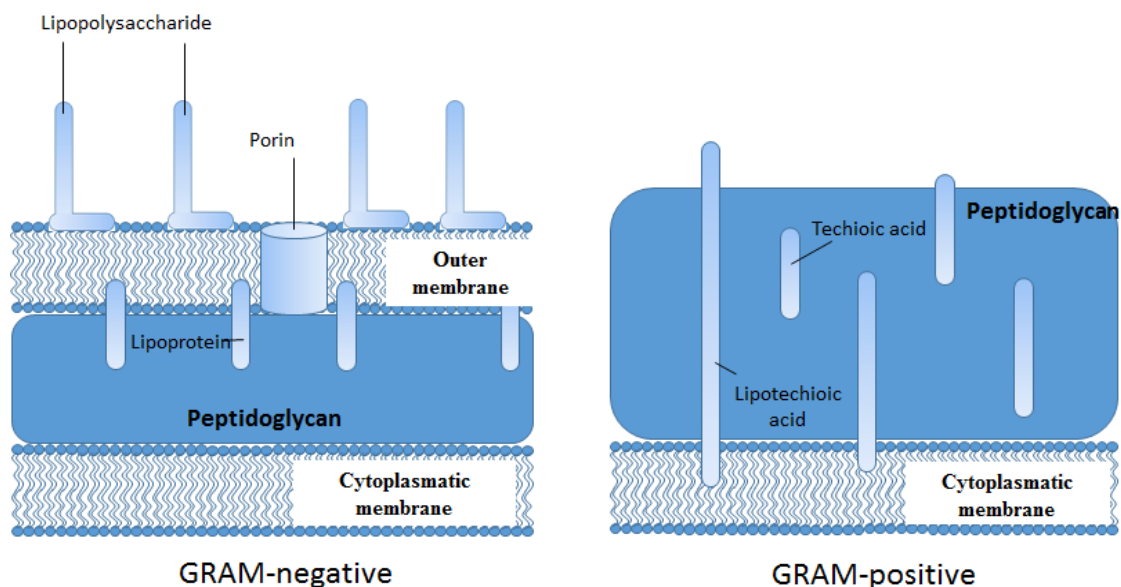
A munkám egyik legfontosabb célja a fenti szempontoknak megfelelően egy új, stabil és költséghatékony fertőtlenítési eljárás illetve felület fejlesztése és optimalizálása illetve tesztelése különböző mikroorganizmusok esetében. Az új eljárással a korábban használt,

egészségre káros vegyszereket és szövetkárosodást okozó germicid lámpákat helyettesíthetjük, illetve az új módszer könnyű alkalmazása miatt a korábbi hosszadalmas sterilizálási eljárásokból fakadó munka akadályoztatása is megszűnhet.

3.2. Nanorészecskék antibakteriális hatása

Az antibakteriális szerek ma már az egész világon elterjedtek azzal a céllal, hogy a mikroorganizmusok szaporodását és terjedését meggátolják, megakadályozva ezzel a fertőzések és nagyobb járványok kialakulását. A fent felsorolt számos módszer mellett ma már új technológiákat is használnak annak érdekében, hogy a fertőtlenítés folyamata sokkal hatékonyabb legyen azon felül, hogy az emberi szervezetre nincs káros hatással [14]. Az egyik ilyen innovatív megoldás a reaktív nanorészecskékkel illetve nanotechnológiával történő tisztítás illetve fertőtlenítés. A nanorészecskékkel történő fertőtlenítés lényege, hogy az antimikrobás hatású részecskék a méretüknél fogva kapcsolatba kerülnek a mikroorganizmusokkal, vagy behatolnak a mikroorganizmusok sejt falán, sejtmembránján keresztül és ott kifejtve hatásukat elpusztítják a baktériumok, vírusok és gombák széles spektrumát [15]. A nanorészecskék adhéziója a különböző baktériumok sejt falára többnyire elektrosztatikus kölcsönhatásokon keresztül megy végbe. A kitapadás után a nanorészecskék a sejt falszerkezet integritásának megszűnését okozzák, a folyamat többféleképpen zajlik. A sejt falban okozott szerkezetváltozás történhet a nanorészecskék okozta oxidatív stressz, bizonyos folyamatok révén keletkező szabadgyökök által [16]. A nanorészecskék antimikrobás hatása sok esetben egyedi megoldásokkal zajlik, nagy részben a nanorészecskék fizikai kémiai tulajdonságának megfelelően. Egyes esetekben TiO_2 és ZnO nanorészecskék esetében bizonyos mutagén hatást is megemlítenek *Salmonella typhimurium* (TA98 és TA1537) esetében, a folyamat részletes leírása még nem ismert [17]. A nanorészecskék antibakteriális hatása Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok esetében lényegében nem különbözik, a két sejt falszerkezetből adódó különbségek nem vonzzák maguk után a hatásmechanizmusok különbségeit. A sejt falszerkezet különbségének annyi következménye viszont van, hogy a nanorészecskék más sejt falkomponensekhez kötődnek első lépésben, a Gram-pozitív baktériumok esetében a teicholsavakhoz és a lipoteicholsavakhoz, mivel ezek a struktúrák felelősek a Gram-pozitív baktériumok sejtmembránjának negatív felületi töltéséért (**1. ábra**) [18]. A Gram-negatív baktériumok

esetében ezek a struktúrák a lipopoliszaharidok. A fent említett negatív töltést hordozó bakteriális felületi struktúrákhoz nagy affinitással kapcsolódnak a pozitív töltést hordozó nanorészecskék, köztük a TiO_2 , ZnO és ezek funkcionizált formái, ennek bizonyítása is szerepel a disszertációm tézisei között [19].



1. ábra Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumok sejtfallszerkezete

Felvetődik a kérdés, hogy ha a mikroorganizmusok sejtmembránján képesek áthatolni ezek a hasznos nanorészecskék, vajon nem tudnak-e a bőrön keresztül bejutni az emberi szervezetbe és ott káros folyamatokat elindítani. Nagyon sok publikáció foglalkozik a kérdéssel és sok esetben még ma sem tisztázott a nanorészecskék veszélyessége az emberi szervezetre nézve, de ma már számos vizsgálattal illetve immobilizálási technológiával a nanorészecskék mozgásteret lecsökkenthető illetve bizonyítható az emberi szervezetre történő semleges hatása [20]. A fertőtlenítés szempontjából a nanorészecskék körében is megkülönböztetünk bakterio-, fungosztatikus hatású nanorészecskéket, amelyek a baktériumokat és gombákat nem pusztítják el, csak a további szaporodásukban gátolják [21]. Megkülönböztetünk továbbá baktericid, fungicid, virucid és egyes esetekben sporocid nanorészecskéket, amelyek a baktériumokat, gombákat, vírusokat és a mikroorganizmusok által létrehozott szaporító képleteket, a spórákat is képesek degradálni, elpusztítani [22]. A

nanorészecskékkel történő sterilizálási illetve fertőtlenítési folyamatok fontosságát mutatja a korábban már említett antibiotikum rezisztens illetve hőre kémiai hatásokra és egyes esetekben az összes létező antibiotikumra rezisztens, ún. multirezisztens törzsek megléte és további ellenálló fajok kialakulása [23]. A hosszú küzdelem a beteg életben tartásáért, a költséges és sok esetben át nem gondolt, ráadásul hasztalan kezelések hosszú sora bizonyítja egy megfelelően átgondolt prevenciós stratégia kialakításának és fejlesztésének fontosságát. A nanotechnológia megoldást adhat erre a problémára, hiszen a nanorészecskék körében megtalálható számos variáns és egy típuson belüli mérettel összefüggő tulajdonságváltozások sora még számtalan hasznos alkalmazást adhat a kezünkbe eszközként egy egészségesebb jövő eléréseért [24]. A korábban használt szerek és gyógyszerek ellen szól még az is, hogy számos mellékhatással és toxikus tulajdonsággal rendelkeznek, nem beszélve a környezetre gyakorolt hatásokról [25]. Az antibiotikum esetében további probléma, hogy adott esetben még hatásos lehet a meglévő betegséggel szemben, viszont nem jut el a beteg területre, szövethez vagy sejtekhez, így képtelen kifejteni gyógyító hatását. Ma már olyan nanorészecskékkel is találkozunk, amelyek a rég felfedezett gyógyszerek megfelelő helyekre történő elszállításában segídeknek, megszüntetve ezáltal számos mellékhatást és biztosítva a beteg szerv, szövet vagy sejtek működését [26].

3.3. A fotokatalízis folyamata

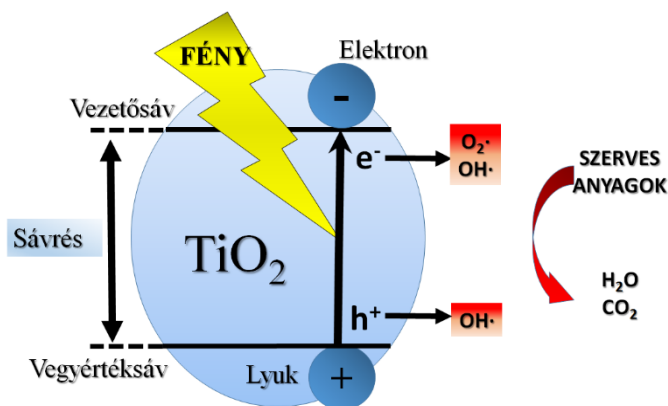
A katalizátorok a kémiában olyan anyagok, amelyek egy kémiai reakciót úgy módosítanak, hogy közben maga a katalizátor szerkezete nem alakul át, kémiai tulajdonsága nem változik a kémiai reakció végén. A katalizátorokra jellemző, hogy gyakran egy kis mennyiség is elegendő belőlük ahhoz, hogy egy anyag átalakuljon, vagy a kémiai reakció felgyorsuljon, így a reakció alacsonyabb aktiválási energiájú részfolyamatokon keresztül játszódik le. Amennyiben az egymással reagáló anyagok azonos fázisban vannak homogén katalízisről beszélünk, viszont ha más az anyagok halmazállapota heterogén katalízisről. A katalizátorok egy reakció sebességét növelik, és mint a „fotokatalizátor” szóban láthatjuk, a „foto” szó arra utal, hogy a reakció módosítása, illetve gyorsítása fény közvetítésével, úgynevezett katalizálásával jön létre. A napfény hatására számos félvezető fém-oxid (pl TiO_2 , ZnO , SnO_2) vizes közegben diszpergálva ún. fotooxidációs tulajdonságokat mutat, ami azt jelenti, hogy felhasználhatók a környezetünk tisztán tartására [27]. Előnyös a tisztítási folyamatban az is, hogy a fotooxidációs lebontási folyamatban a napfény energiáját használjuk. Az félvezető fotokatalizátorok működésének lényege, hogy megfelelő energiájú fotonok elnyelése a részecskék vegyértéksávjából egy elektront a vezetési sávba gerjeszt, miközben egy pozitív töltés (lyuk) marad vissza a félvezető vegyértéksávjában [28]. A TiO_2 fotokatalitikus tulajdonságait egy japán kutató, Akira Fujishima (**2. ábra**) fedezte fel 1967-ben, a fotokatalizátor felszínén lejátszódó folyamatot pedig Honda-Fujishima hatásnak nevezte el [1].



2. ábra Akira Fujishima (az ábrán balra) és Kenichi Honda (az ábrán jobbra) a fotokatalízis folyamatának felfedezői

A vezetési sáv elektronjának a redukciós, a vegyértéksávban maradt lyuknak pedig az oxidációs potenciálja nagy. A TiO_2 felületén kialakuló pozitív töltésű lyukak alkalmasak a

víz oxidációjára, míg a vezetési sávba került elektronok az oldott oxigén redukciónak (3. ábra) [1].

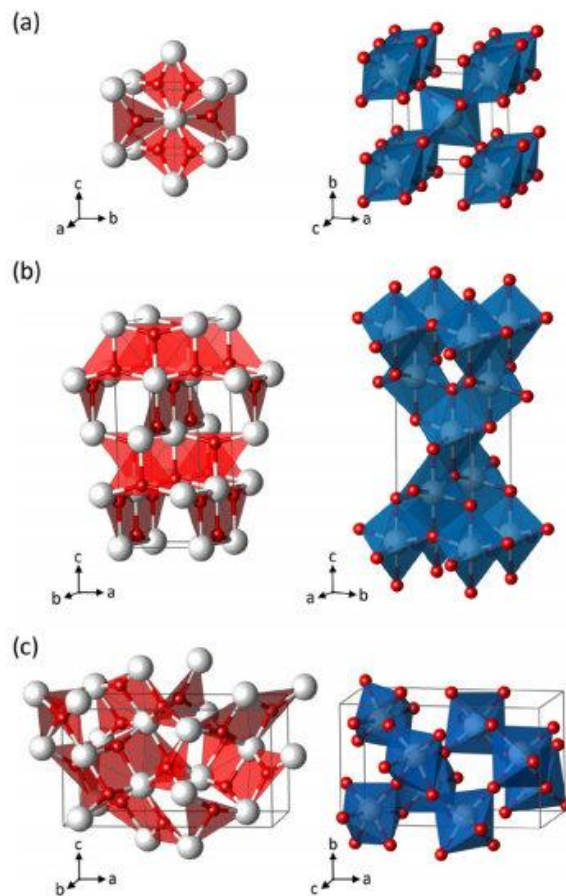


3. ábra A fotokatalízis folyamata

Mindkét folyamatban erőteljesen oxidáló reagensek, pl. hidroxilgyök (•OH) és szuper-oxidion (•O²⁻), valamint hidrogén peroxid (H₂O₂) képződik. Ez a ciklus addig folytatódik, amíg fény van jelen. A fotooxidációs folyamatban a katalizátor is öntisztuló tulajdonsággal rendelkezik, ezért használata az eddigi kísérletek szerint tartósnak bizonyult [28].

3.4. A TiO₂ jellemzése

A TiO₂ a titán egyik fehér színű atomrácsos szerkezettel jellemezhető, vízben oldhatatlan oxigénvegyülete. Napjaink egyik legjobban kutatott fotokatalizátora, gyakorlati alkalmazhatósága miatt számos szakterületen találkozhatunk vele. A TiO₂ megtalálható napelemekben, fogkrémekben, naptejekben, valamint a VIII. magyar gyógyszerkönyvben Titanii oxidum néven ismeretes (E171). Alkalmazzák még korrózió gátlóként, gáz szenzorokban és különböző hidrogéngyártási technológiákban. A TiO₂ ellenáll a hőnek, a fénynek és a savnak, nem mérgező, olcsó és könnyen hozzáférhető. Három allotrópjja, amelyek a természetben is előfordulnak, a brookit, az anatóz és a rutil [29], amelyek közül az anatóz és a brookit viszonylag ritkán fordulnak elő (4. ábra).



4. ábra A TiO_2 három kristály módosulatának szerkezete: Rutil (a), anatáz (b) és brookit (c); [30]

A három módosulat közül a brookit előállítása a legnehezebb, ezért költséghatékonyság céljából fotokémiai vizsgálatokban főleg a rutilt és az anatázt használják. A mikronizált TiO_2 a legelterjedtebb fehér színezőanyag, mivel magas a törésmutatója ($n = 2,4$) fotostabil és erős fényszórással rendelkezik. Az élelmiszeriparban is nagymértékben alkalmazzák fehér színezőanyagként mivel nem, illetve nagyon nehezen oldódik, a kémiai összetétele nem változik, tehát emésztetlen formában ürül a szervezetből. A TiO_2 kristály módosulatai közül az anatáz esetében a tiltott sáv szélessége 3,2 eV (387 nm), a rutil esetében 3,02 eV (410 nm). Másik fontos előnye, hogy fotokatalitikus aktivitását hosszú távon megőrzi, ezért évtizedek óta számos kutatási és ipari projekt alapját adja. A rutil a termodinamikailag legstabilabb forma, amit az is bizonyít, hogy a másik két megemlített kristálymódosulat hevítés hatására rutillá alakul át. A rutil másik előnye, hogy kisebb tiltott sáv szélessége

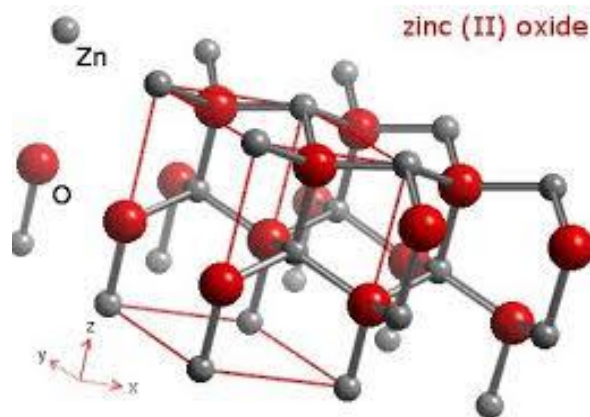
miatt nem csak az UV tartományban emittáló fényforrással gerjeszthető, az aktiválásához szükséges fény hullámhossza átível a látható fény hullámhossz régiójába [31].

3.5. TiO₂ alapú módosított fotokatalizátorok

Előnyös tulajdonságainak köszönhetően a TiO₂ az elmúlt évtizedek egyik legtöbbet kutatott fotokatalizátora [32]. Az irodalmi adatok alapján tudjuk, hogy csak UV fényben ($\lambda \leq 380$ nm) gerjeszthető, amely a természetes napsugárzás csupán öt százalékát teszi ki. A fotokatalizátor felhasználását, alkalmazását tekintve fontos, hogy a fotokatalitikus aktivitás minél nagyobb legyen látható fény hatására is, ezáltal lényegesen nagyobb hatékonysággal lebonthatók, vagy átalakíthatók a szerves szennyeződések. Ez utóbbi arra ösztönözte a szakembereket, hogy a TiO₂ optikai tulajdonságait megváltoztassák oly módon, hogy a látható régióban mutakozzon fényelnyelés [33]. A TiO₂ optikai tulajdonságainak megváltoztatására számos módszer létezik, egyes esetekben átmeneti fémekkel módosították a TiO₂ részecskéket (Cu, Co, Ni, Cr, Mn, Mo, Nb, V, Fe, Ru, Au, Ag, Pt). [34]. Egy másik lehetséges módszer, ha nemfémes anyagokkal (N, S, C, B, P, I, F) végezzük a TiO₂ adalékolását [35]. Láthattunk olyan kísérleteket is, ahol a TiO₂ részecskéket különböző festékekkel jelölték annak megállapítására, hogy milyen módon történik a sejtekben történő akkumulálódása [36].

3.6. A cink-oxid jellemzése

A cink oxid (ZnO) a cink oxigénnel alkotott vegyülete (**5. ábra**), vízben oldhatatlan fehér színű por enyhe sárgás árnyalattal. Savakban és erős bázisokban oldható, fotostabil és a természetben is előfordul vörös cinkérc vagy cinkit ásványként. Jó fedőképessége miatt különböző olajfestékekben használják színezőként, illetve jelentős még a felhasználása metanol gyártási technológiákban, gumigyártásban. Az anyagtudomány is széleskörűen alkalmazza nagy törésmutatója, jó hővezető képessége miatt [37]. Fotokatalizátorként is viselkedik, ezért felhasználják még az UV-sugárzás elleni védelemben [38] és jelentős antibakteriális tulajdonsága is [39].



5. ábra A ZnO szerkezete [40]

A fent említett tulajdonságok miatt adalékanyagként is alkalmazzák festékekben, kenőcsökben, ragasztókban, különböző tömítőanyagokban, betongyártásban, égésgátlókban, de alkalmazza az élelmiszeripar is ételfestékként és az orvosi gyakorlatban is antibakteriális tulajdonsága miatt [41].

3.7. A fotokatalizátorok immobilizálása

A gyakorlati alkalmazás szempontjából nagyon fontos a felületen rögzíteni a katalizátor-részecskéket, hogy ezáltal azok alkalmazását minél inkább elősegítsük. Erre alkalmasak lehetnek különböző szerves, vagy szervetlen rögzítő anyagok [40, 42]. Ezzel a módszerrel olyan reaktív felületek hozhatóak létre, melyek felhasználhatóak például a vízkezelésben, szennyvíztisztításban [43, 44], illetve a levegőben található különböző káros vegyületek és mikroorganizmusok lebontásában, illetve eliminálásában. A fotokatalizátorokat általában valamilyen polimer alapú rétegben rögzítik, ezáltal olyan hibrid felületek alakíthatók ki, amelyek mechanikailag stabilak és fotokatalitikusan aktívak [45]. Több tanulmány említi a TiO_2 nanorészecskék egészségre káros hatását, viszont ha a nanorészecskék különböző polimer rétegben stabilizálva kerülnek alkalmazásra, úgy ez a kockázat is megszűnik [46, 47].

3.8. A fotokatalizátorok antimikrobás hatása

A félvezető fém-oxidoknak – így a TiO_2 -nak sem - önmagukban nincs mérgező hatása a mikroorganizmusokra vagy a sejtekre. Az antibakteriális funkciót csak fény által történő besugárzás esetén teljesíti [48]. Fény jelenlétében a TiO_2 erős oxidációs ereje el tudja pusztítani a baktériumok sejtfalát és membránját, reakcióba lép a sejtalkotóval, ami gátolja a baktériumok aktivitását és végül azok pusztulásához és kémiai lebomlásához, ún. mineralizációhoz vezet [49]. Kolloid diszperz rendszerekben (szolokban és szuszpenziókban), a TiO_2 részecskék megkötődnek a mikroszkopikus állati sejtek felületén vagy a sejtek elnyelik őket [50]. A fentiek alapján a TiO_2 hatékonyan el tudja pusztítani az *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, *Bacillus sp.* és más baktériumokat is [51-51]. Gátolni tudja, illetve képes megelőzni a rosszindulatú sejtek növekedését [52]. Az erős sterilizációs és sejtburjánzás megelőző funkciónak köszönhetően a TiO_2 belső antiszepszisre és sterilizálásra, vízkezelésre, vízszennyezés átfogó megoldására és fotodinamikai terápiára is használható [55, 56]. A fentebb leírt folyamat különböző mikroorganizmusokra történő hatása különösen fontos az egészségügyben és más területeken ahol a fertőzésveszély kockázata magasabb [57, 58]. Az elmúlt évek során az egészségügyi intézményekben gyorsan szaporodó, antibiotikum rezisztenciákkal rendelkező baktériumfajok jelentek meg, amelyek által okozott fertőzések egyre nehezebben kezelhető infekciókat okoznak [57]. A fotokatalízis megoldást nyújthat erre az egyre jobban súlyosbodó problémára [60–62]. A kórházi eredetű fertőzéseket vírusok, baktériumok és gombák okozzák, és csak az USA-ban megközelítőleg évente többszázezer halálesetet és megközelítőleg 17 milliárd USD többletköltséget eredményeznek az egészségügyi intézményeknek. Számos fotokatalizátor antibakteriális hatásáról szólnak publikációk, a kutatók az évek során elsősorban TiO_2 és dópolt formáinak antibakteriális hatását vizsgálták különböző baktériumfajok esetében, de más fotokatalizátorok antibakteriális hatását is kimutatták [61]. Egyes esetekben sikerült olyan fotokatalizátorokat szintetizálni, amelyek gerjesztéséhez látható fény szükséges [62]–[68]. Ilyenek voltak például az ezüsttel vagy nitrogénnel módosított fotokatalizátorok, amelyek segítségével a fotooxidációs hatás kiváltásához már nem szükséges szövetkárosító UV lámpát használni [71–75].

Magyarországon 2007-ben a specifikus nozokomiális járványok közül 13 (43,3%) kórokozója methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* volt és a mai napig több ezren

hálnak meg évente különböző kórházi eredetű fertőzések következtében. A fertőzések kialakulásának megakadályozására egy olyan prevenciós program kialakítására lenne szükség, amely nem csak a baktérium megtelepedését, hanem szétterjedését is meggátolná a különböző osztályok között. Ebbe beletartoznak a falfestékek, különböző bevonatok cseréje, a különböző műtéti eszközök megfelelő bevonása, katéterek, nőgyógyászati eszközök és más műtéti eszközök megfelelő bevonattal történő kezelése [76–79]. Az orvosi műszerek és szobák mellett olyan eszközökre is oda kell figyelnünk, amelyek fertőzés terjedésének szempontjából előtérbe kerülhetnek. Nem is gondolnánk, mekkora veszélyt jelentenek a több ember által használt számítógépek billentyűzetei, a beteghordó kocsik, betegágyak, tolóágyak, infúziós állványok. A fotokatalízis, mint fertőtlenítési eljárás nem csak baktériumok esetében hatásos, bizonyos gombafajok esetében is nagy hatékonysággal alkalmazható [78]. A fotokatalízis okozta védelem elsősorban olyan helyeken fontos, ahol a páratartalom magasabb, mivel ott sokkal nagyobb számban fordulnak elő a felületen gyorsan elszaporodó gombafajok. Ilyen helyek lehetnek például a fürdők, szaunák, bizonyos tároló helységek, de akár egy fürdőszoba is. Sok esetben hallhatunk például a lakásokban a falpenész megjelenésére, bizonyos fotokatalizátorral dúsított festékek alkalmazása esetében ez is kikerülhető probléma lenne. Létezik olyan tanulmány, amely szerint a fotokatalízis sokkal hatékonyabb magasabb pártartalmú helyeken, mivel a fotokatalízis folyamata során történő vízbontás sokkal nagyobb hatékonysággal zajlik [79]. A *Candida albicans* a széles körben elterjedt *Candida* sarjadzó gombák osztályának leggyakoribb faja. A szervezetben normál körülmények között is megtalálható, a bél baktériumflórájának kontrollja alatt áll. A bél hasznos baktériumflórája (immunrendszerünk részét is képezi) szabályozza a bélben letelepedett gombák szaporodását, de ha az károsodást szenved, vagy megsemmisül, akkor a bélben lévő gomba elszaporodik, előzőnli a szervezetet (száj, garat, illetve a nemi szervek nyálkahártyája). Fotokatalizátorokkal hatékonyan pusztíthatók bizonyos *Candida* fajok is, ezt transzmissziós elektronmikroszkópos felvételek is igazolták [80]. Fotokatalizátorok antivirális hatása is igazolt is számos publikációban igazolták [83–85]. A vírusok számos nehezen gyógyítható betegség okozói.

Az influenzát az Ortomixovírusok családjába tartozó influenzavírus A, influenzavírus B és C okozzák. Az influenzavírusok genomja nyolc szegmens negatív egyszálú RNS-ből

áll. A vírust lipidtartalmú burok (envelope) veszi körül. Ebből a burokból nyúlnak ki a neuraminidáz és a hemagglutinin glikoproteinek.

A gazdaszervezet immunrendszere a neuraminidáz (NA) és a hemagglutinin (HA) alapján tudja felismerni a kórokozót. E glikoproteineknek azonban több altípusuk is létezik: influenzavírus A hemagglutininjéből eddig 16 altípust (H1-H16), neuraminidázából pedig kilencet (N1-N9) írtak le. A felszíni glikoproteinek antigenitása gyakran megváltozik (tehát az immunrendszer „többé nem ismeri fel”), s ez az alapja az influenzajárványoknak. Az influenzajárványok megfékezhetőek lennének bizonyos fotokatalizátorok használatával, amelyek bizonyítottan fehérje degradációs tulajdonsággal is rendelkeznek, ezáltal a vírusok fehérjeburkát szétroncsolva képesek azok megfékezésére [84]–[88]. Több tanulmány megemlíti fotokatalizátorral kezelt textilek antibakteriális hatását, amelyek használata szintén elősegítené a nozokomiális fertőzések terjedésének megakadályozását [91–94]. Az így készített ruhákkal, lepedőkkel, orvosi köpenyekkel és többször használatos textilekkel egy tisztább és élhetőbb kórházi és otthoni környezet alakulna ki.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Anyagok

4.1.1. Alkalmazott fotokatalizátorok

Munkám során ezüsttel funkcionizált TiO₂ (Aeroxide P25; Evonik, Degussa, Hungary) és ZnO (Nanox; Elements, Hungary) fotokatalizátorok szintézisét fotoredukcióval hajtottam végre AgNO₃ prekursor segítségével. A fotokatalizátorok közegeként desztillált vizet, redukálószerként nátrium-borohidridet (NaBH₄; Reanal, Hungary) alkalmaztam.

4.1.2. Fotokatalizátorok immobilizálásához alkalmazott polimerek

A fotokatalizátorok immobilizálása hidrofób Epoxi gyanta (Poly(Bisphenol A-ko-epichlorohydrin; Sigma-Aldrich, Hungary), hidrofil Plextol (poli(etil-akrilát-ko-metil-metakrilát; Pannoncolor Kft, Hungary) és hidrofil Prolak (poli(sztírol-ko-akrilát; Profec Lc. Kft, Hungary) rögzítő anyagokkal történt. Az Epoxi gyanta „sandwich”-réteg preparálási technológia alkalmazásához oldószerként dioxánt (C₄H₈O₂, Molar Chemicals, Hungary) alkalmaztam. A nanokompozitok egészségügyi területen történő felhasználása során vízbázisú diszperziós festéket (Héra, Trilak, Hungary) alkalmaztam.

4.1.3. Ezüst disszociáció méréséhez alkalmazott anyagok

Ezüsttel funkcionizált TiO₂ és ZnO esetében a felületről disszociált Ag-ionok koncentrációját ultratiszta vizes közegben potenciometriásan mértem OP-Ag-0711P Radelkis ezüst- szelektív elektród segítségével.

4.1.4. Felületi töltés meghatározásához alkalmazott anyagok

A fotokatalizátorok és baktériumok felületi töltés sűrűségének meghatározásához hexadecil-piridínium-klorid (HDPCl, Sigma-Aldrich, Hungary) és nátrium-dodecil-szulfát (SDS, Sigma-Aldrich, Hungary) tenzideket alkalmaztam.

A fotokatalizátorok felületén képződő szabadgyök koncentráció meghatározásához luminolt (5-amino-1,2,3,4-tetrahydrophtalazine-1,4-dione, Sigma-Aldrich, Hungary) és 1 M-os nátrium-hidroxidot (NaOH; Reanal, Hungary) oldatot használtam.

4.1.5. Mikroszkópos vizsgálatokhoz alkalmazott anyagok

A mikroszkópos vizsgálatok során a baktériumok fluoreszcens jelöléséhez LIVE/DEAD® BacLight® Viability Kitet (Thermo Fischer Scientific Kft., Hungary) alkalmaztam, amely két komponenst SYTO 9 (1,67 mM) és propidium jodidot (1,67 mM) tartalmaz.

4.1.6. Baktérium sejtfalból izolált peptidoglikán vizsgálatokhoz alkalmazott anyagok

A sejtfalkomponens degradációs vizsgálatokhoz *Staphylococcus aureus* peptidoglikánt (Sigma-Aldrich, Hungary) és a Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézetben *Escherichia coli* DH5 α sejtfalból izolált peptidoglikán rétegeket használtam. Az *Escherichia coli* peptidoglikán réteg elválasztásához a baktériumtenyészetet LB (Luria-Bertani, Thermo Fischer Scientific Kft., Hungary) táplevesbe leoltottam, közegként desztillált vizet használtunk és TRISBASE-oldattal (Sigma-Aldrich, Hungary) szemben dializáltam.

4.1.7. Fotokatalizátorok antibakteriális vizsgálatához alkalmazott anyagok

A mikrobiológiai minősítések során tesztbaktériumként nemzetközi referenciatörzseket: *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 29522 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és klinikai izolátumokat: *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* DH5 α alkalmaztam. A baktériumok tenyésztésére BHI –leves (agy és szív kivonatot tartalmazó tápleves + 5% marhavér, Becton, Dickinson and Company, Hungary), a csíraszám csökkenésének meghatározásához Mueller-Hinton szilárd táptalajt (Becton, Dickinson and Company, Hungary) alkalmaztam. A mikrobiológiai mérések során a baktériumok közege fiziológiás sóoldat (0,9% NaCl, Molar Chemicals Kft, Hungary) volt. A baktériumok telepszámának meghatározásához BZG-40 (WTW GmbH., Germany) telepszámláló készüléket használtam.

4.1.8. Biolumineszcencia méréshez alkalmazott anyagok

A fotokatalizátorokat tartalmazó reaktív nanokompozit filmek toxikológiai vizsgálataihoz *Allovibrio fischerii* baktérium (Hach, Hungary) fényintenzitását mértem luminometriás módszerekkel. A reaktív lámpa antibakteriális tulajdonságának méréséhez RCS PLUS, Bio-Test Kft., Hungary) levegőütköztetési elven működő mikrobiológiai levegő mintavevő

készüléket használtam. A levegőben megtalálható mikroorganizmusokat a levegő mintavevőbe helyezhető alap táptalajcsíkokon (HYCON® Agar Strips; Biotest Kft., Hungary) tenyésztettem.

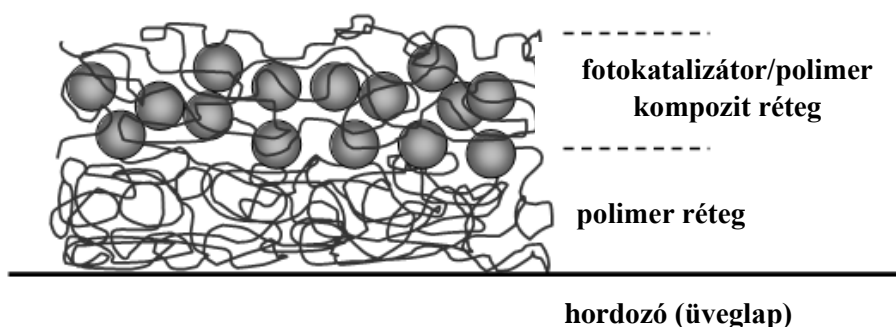
4.2. Módszerek

4.2.1. Funkcionalizált fotokatalizátorok szintézise

A TiO₂ és ZnO fotokatalizátorok funkcionizálása fotoredukciós módszerrel történt ezüst nanorészecskék közvetlen funkcionizálásával. Az ezüst koncentrációja a fotokatalizátor tartalomhoz képest 0,25, 0,5 és 1 m/m% volt. Az ezüst nanorészecskéket elektrokémiai módszerrel szintetizáltam desztillált vízben. TiO₂ és ZnO fotokatalizátorok funkcionizálása során annyi AgNO₃ oldatot adtam a 100 ml 1%-os TiO₂ szuszpenzióhoz, hogy az Ag tartalom az oxidra nézve 0,25%; 0,5% illetve 1% legyen. Az ezüst ionokat 1 órán át tartó UV fényel (Hamamatsu L8251; P=150W; $\lambda_{\max} \geq 300$ nm) redukáltam. A fotokatalizátorokat centrifugáltam, négyszer mostam desztillált vízzel, majd 60°C-on tömegállandóságig szárítottam.

4.2.2. Reaktív nanokompozit filmek preparálása

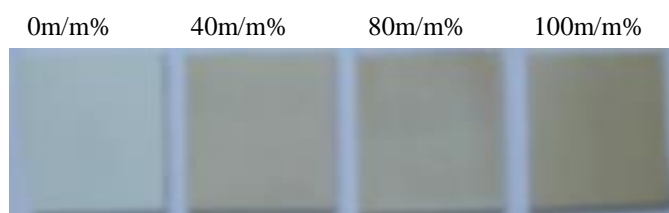
Legfőbb célom volt előzőekben bemutatott katalizátorokat polimerek felületére kötni, hogy ezáltal a további felhasználások (fotokatalitikus, ill. mikrobiológia tesztek) céljából mechanikailag stabil vékonyrétegeket kapjunk. A hidrofil Plextol és Prolak polimer rögzítő anyagok esetében a mikrobiológiai minősítésekhez a TiO₂ és ZnO fotokatalizátorokat a polimer mátrixba ágyazva üveglapok (2,5 × 2,5 cm) felszínére porlasztottam spray-coating technika alkalmazásával. A vékonyrétegek vastagsága $1,48 \pm 0,1$ μm volt. A kontroll vizsgálatok elvégzéséhez kizárólag polimert tartalmazó filmeket is készítettem. A nanokompozit filmekben a fotokatalizátorok koncentrációja 0,25 - 1,25 mg/cm² volt. Hidrofób Epoxi gyanta rögzítő anyagok és különböző fotokatalizátorok felhasználásával készült nanokompozit vékonyrétegek szintézise során ún. sandwich-rétegeket hozunk létre. Ennek során első lépésben mindig a polimer került az üveglemez felületre, majd erre került a már katalizátort is tartalmazó második réteg. Ezáltal réteges szerkezetű filmeket kapunk a **6. ábrának** megfelelően.



6. ábra A felületi katalizátor tartalmú, polimer alapú sandwich- rétegek sematikus rajza

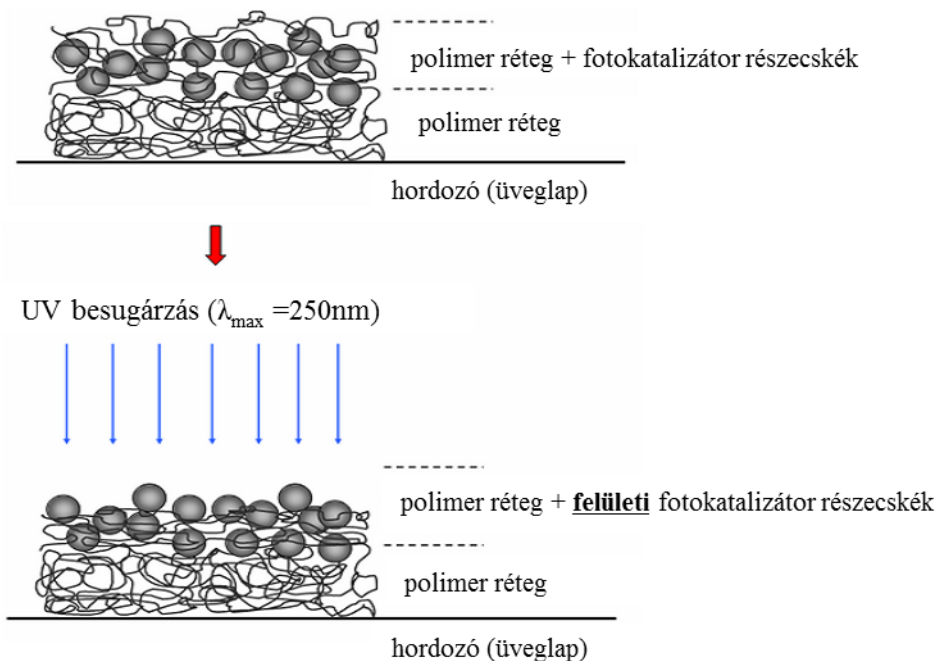
A szintézis során a polimerből annak oldószerével (dioxán) hígítással 30m/m%-os oldatot készítettem és ezt a polimer oldatot juttattam porlasztásos technikát alkalmazva az üveglemez felületére. Ezt követően a 30m/m%-os polimer oldathoz adtam a kiválasztott katalizátort úgy, hogy a katalizátor/polimer arány rendre 0, 40, 80 és 100 m/m% legyen, ami megfelel a fotokatalizátorok 0 mg/cm², 0,5 mg/cm², 1 mg/cm² és 1,25 mg/cm² fajlagos felületi értékeinek (**7. ábra**). Így egy sűrű szuszpenzió jött létre, melyet a megfelelő oldószerrel hígítottam addig, míg porlasztásos technikával felületre juttatható viszkozitású lett. Tapasztalatom szerint ez 10m/m%-os szuszpenziót jelent. A szuszpenzióban lévő polimer és fotokatalizátorok egyenletes eloszlását 2-3 órás ultrahangos kezeléssel értem el.

Felületi katalizátor tartalom:



7. ábra A különböző felületi katalizátor tartalommal rendelkező, polimer alapú reaktív hibrid rétegek

Ezt követően a kapott szuszpenziót a már polimerrel fedett üveglemez felületére juttattam porlasztásos technikát alkalmazva, majd szobahőmérsékleten tömegállandóságig szárítottam a kapott filmet, végül a filmek felületét UV-kezelésnek tettem ki (gyártó: UV-Consulting Peschl Ultraviolet; P=400 W $\lambda_{\max} = 250$ nm) (**8. ábra**).



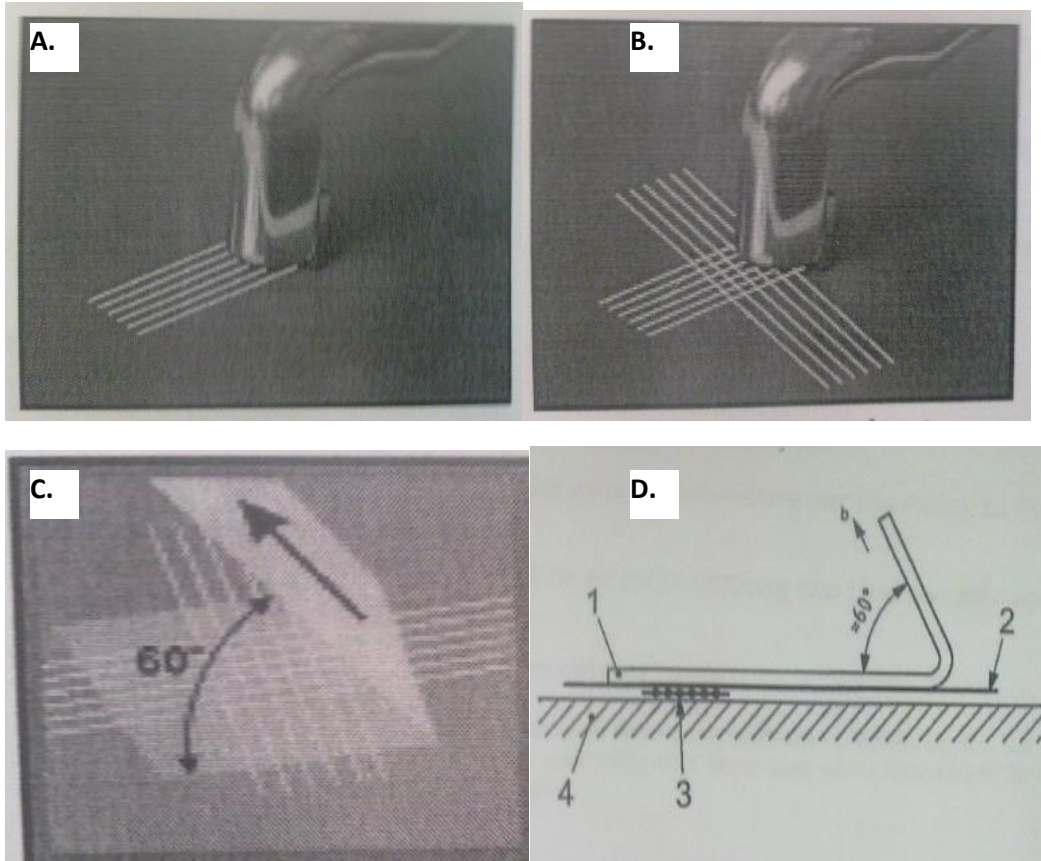
8. ábra Az UV- kezelés hatása a filmek felületi szerkezetére („fényborotva”- hatás)

4.2.3. Reaktív nanokompozitok mechanikai stabilitásának mérése







A vékonyrétegek stabilitásának vizsgálatát Elcometer 107 típusú rácsvágó készülékkel végeztem (**9. ábra**) az EN ISO 2409 szabvány szerint [93]. Ennek során a fogazott pengét (**9. B. ábra**) tartalmazó rácsvágó készülékkel egymásra merőleges karcolásokat ejtettem a filmek felületén (**10. A-B. ábrák**), majd a bemetszéseket tartalmazó felületre ragasztószalagot helyeztem és 60°-os szögben feltéptem (**10. C-D ábrák**). A módszerből kifolyólag minél inkább stabilabb a film, annál kevesebb anyag marad a feltéptett ragasztószalagon. A mechanikai tulajdonságok osztályozásához a szabvány 1. táblázatát használtam (**10. ábra**). A ragasztószalaggal eltávolított filmeket a fenti táblázat szerint besoroltuk a 0-tól 5-ig terjedő skálán (**11. ábra**). A szabvány szerint minél nagyobb a szám értéke, annál instabilabb a film.



9. ábra Elcometer 107 típusú rácsvágó készülék (A.), valamint a készüléken található fogak (B.) fotója



10. ábra A polimer alapú kompozit filmek mechanikai tulajdonságainak meghatározásának lépései [94]

Tapadási fokozat	A bevonat felületének képe	A bevonat felületének állapota a négyzetmetszések elkészítése és a bevonat megtisztítása után
0		A metszések mentén vagy azok kereszteződésénél a metszések szélei simák, élesek, levált bevonatdarabok nem láthatók.
1		A metszések mentén vagy azok kereszteződésénél a rács felületét borító réteg(ek)nek legfeljebb 5%-a vált le.
2		A metszések mentén vagy azok kereszteződésénél a rács felületét borító réteg(ek)nek legfeljebb 5–15%-a vált le, csíkok vagy négyzetek alakjában.
3		A metszések mentén vagy azok kereszteződésében a rács felületét borító réteg(ek)nek legfeljebb 15–35%-a vált le, csíkok vagy négyzetek alakjában.
4		A metszések mentén vagy azok kereszteződésénél a rács felületét borító réteg(ek)nek legfeljebb 35–65%-a vált le, csíkok vagy négyzetek alakjában.
5		A metszések mentén vagy azok kereszteződésénél a rács felületét borító réteg(ek) csíkok vagy négyzetek alakjában a felület több, mint 65%-ában levált(ak).

11. ábra. Az EN ISO 2409 szabvány 1. táblázata a filmek mechanikai tulajdonságainak osztályozásához [94]

A módszert úgy is elvégeztük, hogy nem karcoltuk meg a filmeket, hanem a ragasztószalagot a sértetlen filmek felületére juttattuk, majd úgy téptük le. Így tehát a katalizátor, ill. a polimer réteg kölcsönhatásáról kapunk információt, azaz megtudjuk, hogy a katalizátor részecskék milyen erősen vannak a polimer rétegbe ágyazódva. Itt a filmeket spektrofotometriásan jellemeztük: a feltépett ragasztószalagot (az eltávolított katalizátor- réteggel 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. A fenti két módszer kivitelezéséből következik, hogy az első esetben a teljes (polimer + felületi katalizátor) kompozit réteg tapadását vizsgáljuk az üveglemez hordozóhoz, még a második esetben a katalizátor- részecskék polimer réteghez történő tapadását.

4.2.4. UV/Vis spektrofotometria

A fotokatalizátor porok és fotokatalizátor/polimer kompozit filmek optikai tulajdonságait CHEM 2000 UV-VIS (Ocean Optics GmbH., Germany) diódasoros, optikai szálás spektrofotométerrel határoztam meg. A tiltott sáv szélessége határozza meg adott fotokatalizátor esetében azt a hullámhossz tartományt, amellyel adott fotokatalizátor gerjeszthető tehát antibakteriális hatásfoka indukálható. A mérések során ötvözzük az elnyelés és a visszaverődés mérés technikáját: a mintára érkező fénysugarak a mikroszkopikus méretű felületi egyenetlenségeken szóródnak, miközben a fény-anyag kölcsönhatás miatt az anyagra jellemző hullámhosszúságú komponensek elnyelődnek. A diffúzan visszaszórt fényt, amely az elnyelt hullámhosszakat kevésbé tartalmazza, egy ún. „integráló gömb” segítségével összegyűjtjük, és száloptikán keresztül spektrofotométerbe vezetjük (12. ábra).

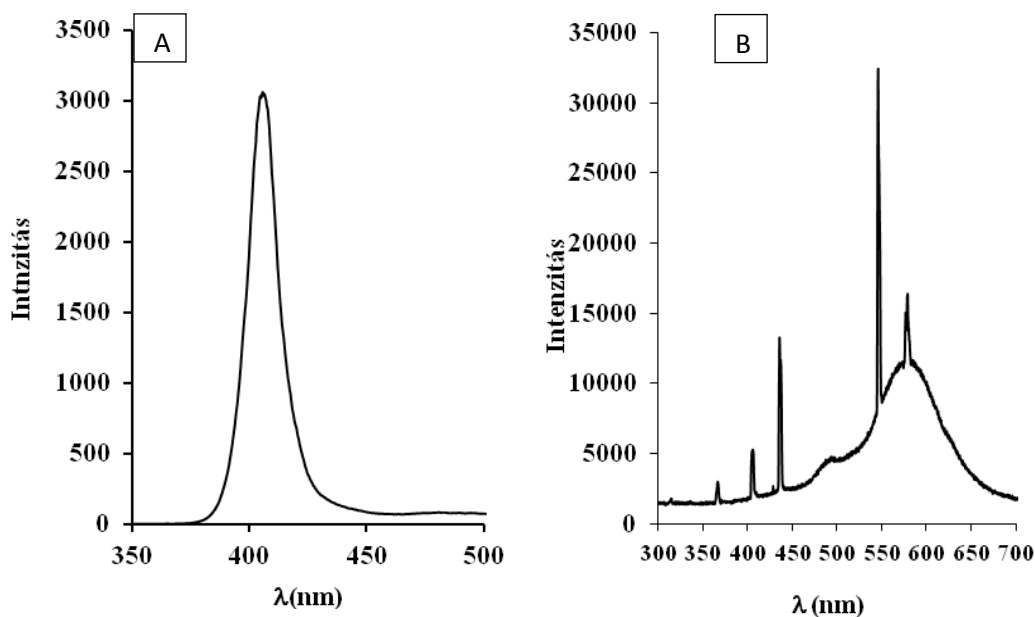


12. ábra A diffúz- reflexiós mérések során használt kísérleti elrendezés

Az így kapott diffúz reflexiós spektrumokkal a fotokatalizátorok fényelnyelési maximumát mértem. A mérési eredményekkel igazolható, hogy az ezüsttel történő funkcionizálás milyen mértékű tiltott sáv csökkenést okozott a TiO_2 és ZnO fotokatalizátorok esetében.

4.2.5. Fotooxidációs hatékonyság meghatározása

A fotokatalitikus hatékonyságot etanol gőz bontásának gázkromatográfias méréseivel határoztam meg. A katalizátorok bontási hatékonyságának vizsgálata során a katalizátor porokból 10%-os szuszpenziókat készítettünk desztillált vízben. Az így kapott szuszpenziókat üveglemezek felületére jutattam spray-coating technikát alkalmazva úgy, hogy a filmek felülete egységesen 45 cm^2 -es, még fajlagos tömegük $1,25 \text{ mg/cm}^2$ legyen. Ezt követően a katalizátor filmeket $0,35 \text{ mmol/dm}^3$ kezdő koncentrációjú etanol gőzben egy órán keresztül látható fényt és UV-fényt emittáló fényforrásokkal (General Electric's Hungary, LED: $\lambda = 405 \text{ nm}$: **13. A. ábra**; GE Fénycső T5 : $\lambda \geq 400 \text{ nm}$ **13. B ábra**; UV-lámpa $\lambda \leq 254 \text{ nm}$) világítottam meg FV-0165 típusú reaktorban (**14. ábra**).



13. ábra A fotooxidációs és mikrobiológiai mérésekhez alkalmazott fényforrás emissziós spektrumai **A**: LED-lámpa: $\lambda = 405 \text{ nm}$ **B**: Fénycső T5: $\lambda \geq 400 \text{ nm}$ (B)

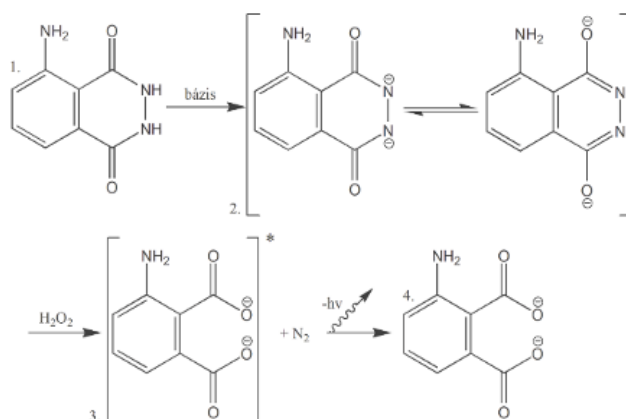


14. ábra A filmek fotokatalitikus vizsgálatára használt FV-165 reaktor

A fényforrás reaktortól való távolsága 5 cm volt. A csökkenő etanol koncentrációt hővezető-képességi (TCD – Thermal Conductivity Detector), és lángionizációs detektorral (FID – Flame Ionization Detector) felszerelt Shimadzu GC-14B gázkromatográfjal mértem. A lebontási folyamat időbeli előrehaladásának jellemzését összes széntartalom (TOC) méréssel végeztem Euroglas 1200 típusú készüléken.

4.2.6. Fotokatalizátorok felületén termelődő hidroxilgyök koncentráció mérése

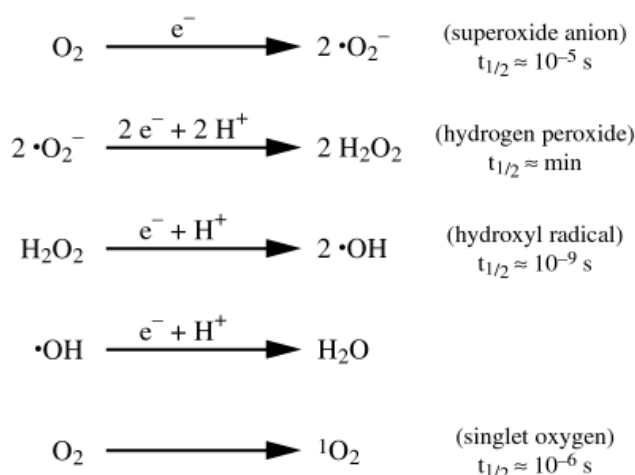
A fotokatalizátorok felületén a fotooxidációs folyamatoknak köszönhetően különböző típusú szabadgyökök termelődnek, a folyamat a levegőben megtalálható páratartalomnak köszönhető vízmolekulák bontásának eredménye [95, 96].



15. ábra Luminol reakciója hidrogén-peroxiddal.[97]

A reaktív gyökök keletkezését luminometriás mérésekkel bizonyítottuk. A kemilumineszcenciás méréseink alapját a luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftálazindion)

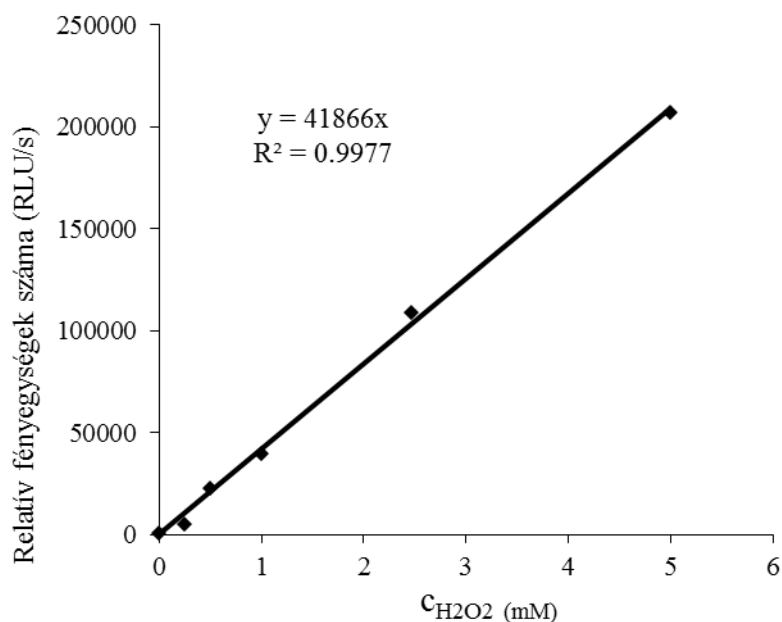
szabadgyökökkel való reakciója adja lúgos közegben [98, 99]. Amikor a luminol a lúggal reagál, dianion keletkezik (**15. ábra**). A hidrogén-peroxidból származó oxigén ezután reagál a luminol-dianionnal. A keletkező szerves peroxid rendkívül instabil és nitrogén leadásával 3-amino-ftálsavra bomlik, melyben egy elektron gerjesztett állapotban van. A gerjesztett állapot foton leadásával kerül alapállapotba, és ez adja a kék fényt. A fotokatalitikus reakciók során keletkező reaktív ágensek kölcsönhatva a luminollal kék fényt bocsátanak ki, mely intenzitása a keletkező reaktív gyökök számával arányos és luminométerrel detektálható. A luminométer a folyamat során keletkező fényt nagyon nagy érzékenységgel érzékeli és méri. A mért fényintenzitás erőssége egyenes arányosságban áll a fotokatalizátorok felületén képződő szabadgyökök koncentrációjával [100], [101]. A fotokatalízis során a fotokatalizátorok felszínén termelődő szabadgyökök élete nagyon kis idejű (**16. ábra**), azok életideje femtoszekundumokban és pikoszekundumokban mérhető. Az antibakteriális hatást azonban a folyamat során képződő, hosszabb életidejű hidroxilgyökök adják [102]. A hidroxilgyökökből az alábbi egyenlet alapján keletkező hidrogén-peroxid molekulák szobahőmérsékleten és a baktériumok számára optimális hőmérsékleten is lassan, elsőrendű folyamatban bomlanak, így a koncentrációjuk luminometriásan mérhető és a módszerrel a különböző fotokatalizátorok hidroxilgyök termelése összehasonlítható.



16. ábra Vízbontásból származtatott szabadgyökök reakcióegyenletei és életideje [103]

Kísérletünkben TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátor filmek felületi reaktivitását mértük luminometriásan (Sirius L egycsöves luminométer, Titertek Berthold, Germany). A fotokatalizátor részecskéket Plextol polimerrel rögzítettük a 27 cm²-es üveglemez hordozók

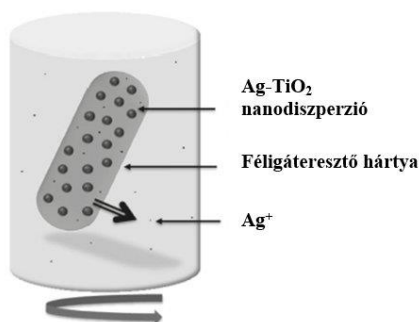
felületére, a fotokatalizátor/polimer arány 60/40%, még a filmek fajlagos tömege $0,5 \text{ mg/cm}^2$ volt. A LED-fényforrás ($\lambda = 405 \text{ nm}$) 10 cm-re helyezkedett el a film felületétől. A vizsgálatokat 40 ml desztillált vízben végeztük. A szabadgyökök képződését a bevilágítás megkezdésétől 60 percen keresztül követtük nyomon úgy, hogy meghatározott időpillanatban (0, 2,5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 perc) 100 μl mintát vettünk ki a luminométer mintatartó csövébe automata pipettával, majd ehhez adtunk 100 μl luminolt. Az minták által kibocsátott fényintenzitás mennyiségét (RLU/s: relatív fényegység) Sirius L kiértékelő szoftver segítségével mértem. Minden mintához a 30. másodpercben felvett adat értékét vettük alapul az összehasonlíthatóság érdekében. A kalibrációs egyenest alapul véve a hidroxilgyökök koncentrációja arányosan változik a mintákon lévő biolumineszcens baktérium által kibocsátott fényegységek számával (**17. ábra**)



17. ábra A hidroxilgyökök koncentrációjának meghatározásához alkalmazott kalibrációs egyenes

4.2.7. A funkcionális fotokatalizátorok felületéről disszociált ezüst ionok koncentrációjának mérése

Az Ag-TiO₂ fotokatalizátor esetében a TiO₂ részecskék felületén és/vagy a rendszerben szabadon lévő Ag nanorészecskék Ag⁺ ionok formájában történő kioldódását (%) mértem vizes közegben. A kísérlet kivitelezése során 5 g 0,5m/m%-nyi Ag- tartalommal rendelkező, fotoredukciós úton előállított Ag-TiO₂ katalizátort 20 ml ultratiszta desztillált vízbe diszpergáltam, majd a szuszpenziót féligáteresztő hártyába helyeztük, a hártyát pedig 480 ml ultratiszta vízbe raktam. Így a rendszer össztérfogata 500 ml volt, melyben 5 g × 0,5 m/m% = 25 mg Ag volt. Ennek megfelelően az Ag részecskék koncentrációja 50 ppm volt a rendszerben. A kísérleti elrendezés sematikus rajza a **18. ábrán** látható.



18. ábra Az Ag⁺ ionok kioldódásának vizsgálata során használt kísérleti elrendezés

Referenciaként a kísérletet úgy is elvégeztük, hogy a féligáteresztő hártya ionos formában tartalmazta az Ag-öt. Ennek során 0,07874 g AgNO₃-ot (50 ppm Ag⁺) oldottunk fel 20 ml desztillált vízben, a többi kísérleti paraméter megegyezett a fent leírtakkal. A két dializáló cellát 2 hónapon keresztül folyamatosan kevertettük, miközben időnként mintát véve potenciometriásan (OP-Ag-0711P Radelkis ezüst-szelektív elektród) vizsgáltuk a kioldódó Ag⁺ mennyiségét. A potenciometriás mérés előtt nem alkalmaztunk savas feltárást, hogy valóban az ionos formában kioldódott ezüst mennyiségét mérjük, amely hatással lehet a fotokatalizátorok antibakteriális hatásának mérési eredményeire.

4.2.8. Baktériumok adhéziójának mérése a fotokatalizátorok felszínén

A baktériumok adhéziója a fotokatalizátorok és baktériumok felületi töltésének meghatározásával történt. A méréseket töltéstitrálásos módszerrel végeztem PCD-04 töltés meghatározó készülékkel. A TiO₂ töltését SDS tenziddel szemben végzett titrálással, a baktériumok töltését pedig HDPCl tenziddel szemben történő titrálás sorozattal állapítottam meg *Escherichia coli* ATCC 29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 esetében. A baktériumok és fotokatalizátorok fajlagos felületi töltését az alábbi egyenletek alapján határoztam meg:

$$\text{fajlagos felületi töltés: (c. e. p.)} = c_{\text{tenzid}} \times \frac{V_{\text{tenzid vagy baktérium}}}{m_{\text{TiO}_2}} \quad \text{Egyenlet (1)}$$

$$\text{számolt felületi töltés:} \left(\frac{\text{Coulomb}}{10^9} \times \text{CFU} \right) = n_{\text{tenzid}} \times \frac{\text{Faraday konstans}}{\text{CFU}} \quad \text{Egyenlet (2)}$$

4.2.9. Ezüsttel funkcionizált TiO₂ fotokatalizátor hatására bekövetkező peptidoglikán réteg degradációjának vizsgálata

A baktériumokat körülhatároló sejtfal több rétegre tagolódik, ezek közül a legmeghatározóbb a peptidoglikán, más néven murein réteg. A peptidoglikán rétegben aminocukrok (N-acetil-glükózamin és N-acetil-muraminsav) láncai kapcsolódnak kovalens kötéssel egy alaninból, glutaminból és lizinből vagy diamino-pimelinsavból álló tripeptidhez. Az így kialakult térhálós szerkezet felelős a bakteriális sejtfal merevségéért és a baktérium alakjáért [103, 104]. A Gram-negatív baktériumok sejtfala egy vékony sejtfallal és kevés peptidoglikán réteggel rendelkezik (5-10%), szemben a Gram-pozitív típusú baktériumokkal, ahol a sejtfal vastag és sok peptidoglikán (95%) és lipiteichonsav réteget tartalmaz. A Gram-pozitív baktériumok sejtfala tehát vastag, sok peptidoglikánt tartalmaz, míg a Gram-negatív baktériumok vékony sejtfallal rendelkeznek, mely csak néhány réteg peptidoglikán rétegből áll [105, 106]. A vizsgálatok során két baktériumfaj peptidoglikán rétegét vizsgáltuk, *Staphylococcus aureus* baktérium esetében a Sigma-Aldrich Kft.-től rendelt peptidoglikán réteget vizsgáltunk, míg *Escherichia coli* baktérium esetében a

peptidoglikán réteget laboratóriumi körülmények között izoláltuk *Escherichia coli DH5a* törzsből [107-109]. A peptidoglikán réteg izolálásához a baktériumtenyészetet előzőleg LB (Lurien-Bertrani) táplevesbe oltottuk. A leoltás után a táptalajt 37°C-on 24 órán át folyamatosan ráztuk. Az inkubációs idő letelte után a sejteket szobahőmérsékleten centrifugálással elválasztottuk a táptalajtól (Janetzki – T23 centrifuga; 80ml 20 percig 2500rpm/910 rcf/g). A felülúszót eldobtuk, az üledéket felszuszpendáltuk 4 %-os SDS végkoncentrációt tartalmazó steril desztillált vízzel (üledék + 10mL DV + 6.67 ml 10 %-os SDS). Az így kapott szuszpenziót Falcon csőbe tettük, amit főzőpohárban mágneses keverőn 150 °C-on forraltuk 4 órán keresztül úgy, hogy a vízszint mindig 250 ml volt. A forralás után a szuszpenziót visszahűtöttük szobahőmérsékletre. Az inkubációs időt (24h) követően 17 ml szuszpenziót centrifugálunk 14000 rpm-en (28538 rcf/g) 60 percig Eppendorf csövekbe szétmérve. Az így kapott felülúszót eldobtuk, az üledéket felvettük 200 µl steril desztillált vízben, majd 10mM TRIS-el szemben (pH 7,2) dializáltuk (3x pufferrel; 1,5 l). Az mikroszkópos vizsgálatot megelőzően a peptidoglikánt tartalmazó szuszpenziót (4 ml) 10-szeresére, 100-szorosára, 1000-szeresére és 10000-szeresére hígítottuk. A vizsgálat során 100 µl peptidoglikán szuszpenziót juttatunk a mikrotitráló lemez egyes mélyedéseibe, 100 µl ezüsttel funkcionizált TiO₂ szuszpenzióval együtt. A fotokatalizátor szuszpenzió koncentrációja 0,5 mg/ml volt minden esetben. A kísérlet ideje alatt a fotokatalizátor szuszpenzió és a peptidoglikán szuszpenzió keverékét LED lámpával ($\lambda = 405 \text{ nm}$) 60 és 120 percig bevilágítottuk. A fényforrást a vizsgálandó mintától 35 cm távolságra helyeztem el [111]. A kontrollvizsgálatok során fotokatalizátor mentes peptidoglikán szuszpenzióit alkalmaztunk. A mintákat a vizsgálat után merítéses módszerrel egylyukas elektronmikroszkópos gridekre helyeztük. A bakteriális sejtfalat alkotó peptidoglikán szerkezeti változását az idő függvényében transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltuk (Philips CM 10, 13500x nagyítás). A peptidoglikán degradációjának transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatai során az 1000x-es hígítást alkalmaztam.

4.2.10. A reaktív nanokompozit filmek antibakteriális hatásának vizsgálata

A mikrobiológiai kísérleteket a SZTE ÁOK Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézetben végeztem. A kísérletek kivitelezése során Epoxi gyanta, Prolak és Plextol hordozón *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 Gram-pozitív, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és *Escherichia coli* ATCC 29522 Gram-negatív baktériumok túlélését vizsgáltam a filmekben állandó bevilágítás, ill. sötét (kontroll) körülmények között. A bevilágítás során használt fényforrások (GE T5 típusú fénycső P=14 W; $\lambda_{\max} \geq 400$ nm és GE LED-fényforrás P = 7 W; $\lambda = 405$ nm) spektrumait az **13.A** és **B ábrán** tüntettem fel. A spektrumokból látható, hogy a fényforrások $\lambda = 400$ nm alatt nem emittálnak fotonokat, azaz a filmek antibakteriális hatását UV közeli, látható fényben vizsgáltuk. A fényforrás a vizsgált mintáktól 35cm-re helyezkedett el [103]. A mikrobiológiai mérések során a fotokatalitikus hatású felületek csíraszám csökkenést okozó hatását mértem minden esetben. A baktériumokat a mikrobiológiai vizsgálatok előtt Mueller-Hinton (BD) táptalajra oltottam, majd a leoltott baktériumtenyészeteket 24 órán át 37 °C-on inkubáltam. A baktériumok leoltása minden esetben hármasszélesztéssel történt Mueller-Hinton táptalajra olyan módon, hogy a tenyészetekben izolált telepek képződjenek. Az izolált telepek közül néhányat 5 ml fiziológiás sóoldatban (0.9 %) elszuszpendáltam, majd az így kapott magas koncentrációjú (0.5 McFarland zavarosság értékű) baktérium szuszpenziókat hígítottam a megfelelő koncentráció eléréséig ($1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ CFU/ml). Az optikai denzitás vizsgálatok minden esetben UVIKON 930 spektrofotométerrel történtek és a csíraszám meghatározás a következő egyenletek segítségével történt:

1. táblázat Különböző teszt mikroorganizmusok csíraszám értékeinek meghatározására vonatkozó egyenlete [111-114]

Tesztbaktériumok	600 nm-en mért abszorbancia spektrumokhoz rendelt csíraszám értékek
<i>Escherichia coli</i>	$\text{CFU/ml} = \text{OD}_{600} \times 7,5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$\text{CFU/ml} = \text{OD}_{600} \times 2,04 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$\text{CFU/ml} = \text{OD}_{600} \times 1 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$

Az antibakteriális hatások vizsgálatoknál minden esetben Mueller-Hinton (MH) táptalajt alkalmaztam, mivel ez a táptalaj nem szelektív és jól használható olyan vizsgálatoknál, ahol baktériumok csíraszám csökkenésének megállapítása a cél [114]. A mikrobiológiai tesztek minden esetben EN ISO 27447:2009 nemzetközi szabvány módosításával végeztem el. A mikrobiológiai tesztek előtt a fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmeket erős UV-sugárzással (fényforrás: LightTech GCL307T5L/Cell lamp $\lambda = 250$ nm) fertőtlenítettem és egyben aktiváltam is olyan módon, hogy a polimer összetevő felső rétegét az erős fotokatalitikus folyamat révén egy ún. „fényborotva” módszer segítségével degradáltam, ezáltal a fotokatalizátor részecskék a nanokompozit film felszínén megemelkedett koncentrációban vannak jelen. A mikrobiológiai vizsgálatok kezdetén a beállított koncentrációjú baktérium szuszpenziót (0,1 ml) egyenletesen eloszlattam a nanokompozit filmek felszínén. A fényforrás távolsága a mesterségesen fertőzött nanokompozit filmektől 35 cm volt, amely megfelel a fényforrás 0,4 mW/cm² teljesítményének. Ez az érték a szabvány szerint alatta van annak az UV-A fényforrás által emittált teljesítmény értéknek, amely önmagában antibakteriális hatással rendelkezik [103]. A fényforrás teljesítményét (PM120 - Digital Optical Power Meter w/ S120B Sensor, Thorlabs) teljesítménymérővel mértem különböző távolságokból, ezáltal megállapítható a bevilágítás mértéke adott felületen (mW/cm²) a különböző nanokompozit filmek esetében. A bevilágítási időtartama 0, 30, 60, 90 és 120 perc volt. A különböző ideig történő bevilágítást követően a nanokompozit filmek felületéről a baktérium szuszpenziót 5 ml fiziológiás sóoldattal egy steril Petri csészébe lemostam, majd onnan 0,1 ml-t a MH táptalajok felszínére üvegbottal egyenletesen szélesztettem. A leoltott táptalajokat 24 órán át 37°C-on inkubáltam. Az inkubációs periódust követően a telepkepző egységeket (CFU) BZG 40 típusú telepszámlálóval (WTW GmbH., Germany) megszámláltuk és az adatokból következtettem a nanokompozit filmekben túlélő baktériumok számára (CFU/ml). Minden esetben elvégeztem egy párhuzamos mérést is, amelyben minden fényforrást kizártam annak érdekében, hogy bizonyítható legyen, hogy valóban fotokatalízis által történt antibakteriális hatást tapasztalható. A mérési eredményeket minden esetben a 0. percben vett mintákhoz, a kizárólag polimert tartalmazó mintához, a sötétkontrollhoz és a nem funkcionizált TiO₂ fotokatalizátort tartalmazó mintákhoz viszonyítottam. A kísérletek során 3 párhuzamos mérést végeztem el, az eredményeket átlagoltam, szórást és szignifikáns különbségeket

(One-way ANOVA, Tukey post hoc teszt) számoltam a sötétkontroll mérésekhez viszonyítva.

4.2.11. Reaktív nanokompozitok toxicitásának mérése *Allovibrio fischeri* biolumineszcencia csökkenése alapján

A biolumineszcencia valamilyen élő rendszer általi lumineszcens fénykibocsátás, számos környezet toxikológiai teszt alapja. A vizsgálat alapjául szolgált az ISO 11348-3:2007 [115] számú szabvány, amelyben különböző anyagok baktericid tulajdonságát lehet luminométerrel (19. ábra) mérni *Allovibrio fischeri* baktérium fény intenzitás csökkenésével [116]. A baktériumok által kibocsátott fény intenzitásának változása luminometriás módszerrel mérhető. Bakteriális lumineszcens fény képzésének alapegyenlete:



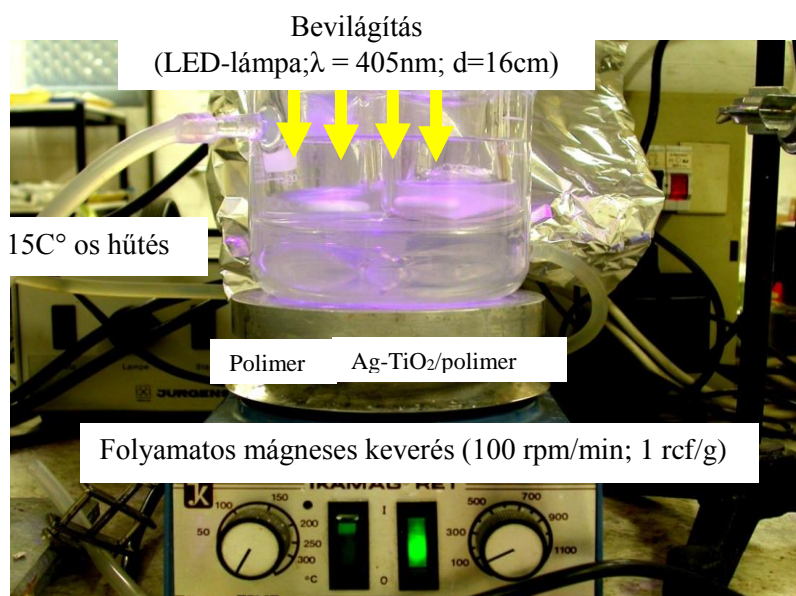
, ahol az FMNH₂ a redukált, míg a FMN az oxidált flavin mononukleotid.



19. ábra A vizsgálatokban felhasznált SIRIUS L luminométer (Titertek-Berthold, Germany)

Jelen kísérletsorozatban a vizsgálatok során felhasznált fotokatalizátor a TiO₂, Ag-TiO₂, ZnO és Ag-ZnO volt, az ezüst tartalom minden mintában 0,5 % volt a TiO₂ tartalomhoz képest. A nanokompozit filmeket Plextol polimer hordozóval üveglapra porlasztottam úgy, hogy a rétegvastagság 1mg/cm² volt minden esetben. Az így kapott mintákon a fotokatalizátor/polimer koncentráció aránya Ag-TiO₂/polimer 60 m/m% (3,75 mg/6,25 cm²): 40m/m% (2,5 mg/6,25 cm²) volt. A vizsgálatok során a LUMISTOX kitből származó 1 egységnyi baktériumot 15 °C-os 2 %-os sóoldatban jól elszuszpendáltam, a sóoldat

hőmérsékletét Fischerbrand FB635 típusú termosztát segítségével állítottam be. Az Ag-TiO₂/polimer és tiszta polimert tartalmazó nanokompozit filmeket üvegpohár aljába helyeztem, az üvegpoharakat feltöltöttem 10-10 mL 2 %-os 15 C°-ra hűtött fiziológias sóoldattal majd rámértem 250-250 µl-t mindkét mintára a *Allovibrio fischeri*-t tartalmazó szuszpenzióból.



20. ábra *Allovibrio fischeri* luminometriás mérésének kísérleti elrendezése

A baktériumok (500 µl) biolumineszcenciáját különböző időpontokban vett mintáknál mértem. A nanokompozit filmeken mért biolumineszcencia intenzitás változását a kizárólag polimert tartalmazó mintához illetve a 0. percben vett mintához viszonyítottam. További kontrollként minden mintavételnél megmértem a fiziológias sóoldat lumineszcenciáját is.

4.2.12. Fotokatalizátorok antibakteriális hatásának vizsgálata fluoreszcens mikroszkóp alkalmazásával

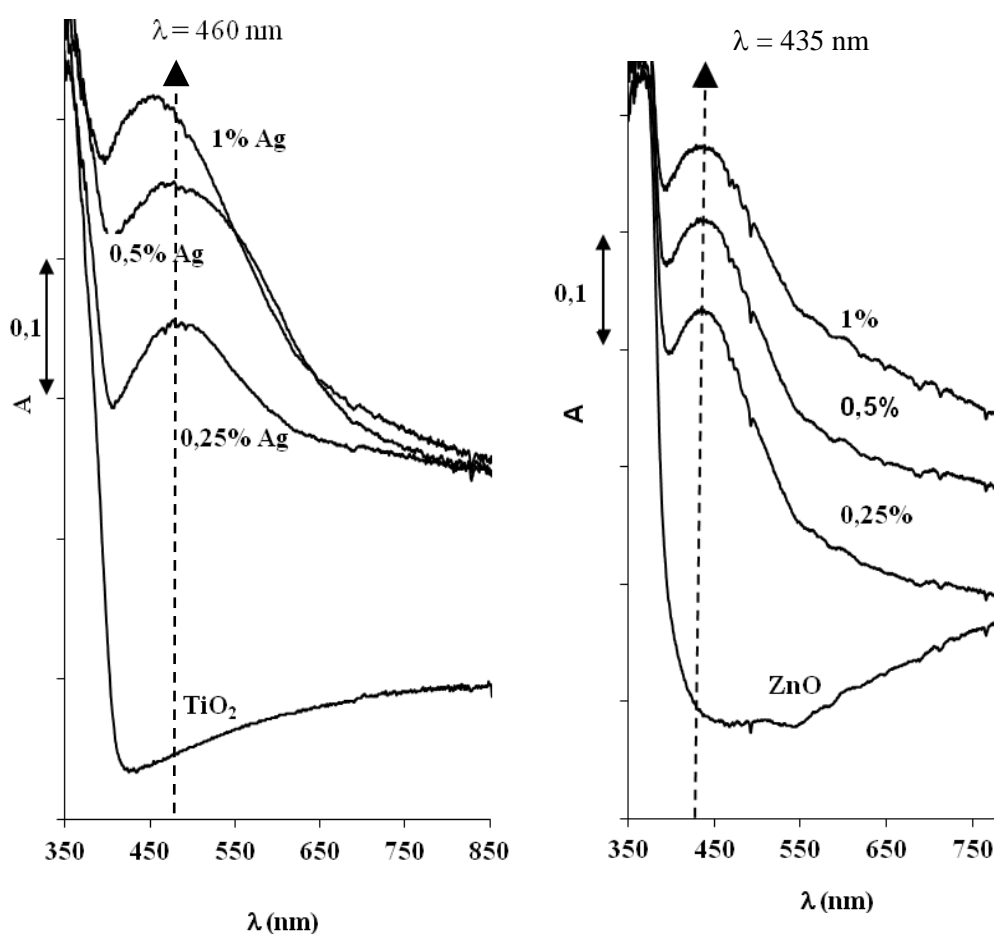
A fotokatalizátorok és nanokompozitok felszínén lezajló adhézios folyamatokat és a baktériumok sejtfalának szerkezeti változásait fluoreszcens jelölési eljárásokkal határoztam meg. A fotokatalizátorok felszínén lejátszó adhézios folyamatokat mikroszkópos (Leica DM IL LED FLUO) technikákkal és fluorimetriás mérésekkel (Fluoromax 4, Horiba-Yvon-Joben) jellemeztem. A fluorimetriás mérések során a SYTO 9 fluoreszcens festék emissziós intenzitásváltozásait mértem *Escherichia coli* ATCC 29522, meticillin rezisztens

Staphylococcus aureus ATCC 43300 és *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tesztbaktériumok esetében Ag-TiO₂ fotokatalizátorok felszínén (gerjesztéshez használt fényforrás: LED $\lambda = 405$ nm) [117]. A baktériumokat a vizsgálatokat megelőzően Mueller-Hinton táptalajon növesztettem, a vizsgálatokat a fluoreszcens festék kit specifikációjában leírtak szerint a baktériumok késői logaritmusos fázisában végeztem. A fluoreszcens vizsgálatokat a korábban legkevésbé toxikusnak adódó Plextol rögzítő anyagot tartalmazó nanokompozit filmekken végeztem el. A vizsgálat kezdetekor az Ag-TiO₂ (cAg = 0,5 m/m%; fotokatalizátor:polimer = 60 m/m%:40 m/m%) fotokatalizátort és polimert üveglap felületre porlasztottam 1 mg/cm² rétegvastagságban, majd 0,2 ml fluoreszcens festék kit-tel jelölt baktérium szuszpenziót a felületre jutattam. A baktérium szuszpenzió koncentrációja 1×10^5 – 5×10^5 CFU/ml volt. A baktériumok fluoreszcens emisszióját a 0. és a 120. percben regisztráltam mikroszkópos és fluorimetriás technikákkal. A baktériumok csíraszámának csökkenését (R%), illetve a sérült membránnal rendelkező baktériumok arányát a szuszpenzióban különböző időtartamig történő bevilágítás után az fluoreszcens emisszió intenzitásából számoltuk 500 – 520 nm-ig terjedő emissziós tartományban SYTO 9 fluoreszcens festék esetében és 600-620 nm-ig terjedő emissziós tartományban Propidium jodid fluoreszcens festék esetében. A baktériumok életképességének fluoreszcens mikroszkópos vizsgálata L5 (élő baktériumok, zöld emisszió) és N2.1 (elpusztult baktériumok, piros emisszió) szűrőkkel történt (Leica Microsystems, Germany).

5. Eredmények és kiértékelésük

5.1. A reaktív nanokompozitok optikai és mechanikai tulajdonságainak jellemzése

A TiO₂ és ZnO fotokatalizátort tartalmazó reaktív nanokompozitok szintézise során az Ag-tartalom 0,25 m/m%, 0,5 m/m% és 1 m/m% között változott a fotokatalizátor tartalomra vonatkoztatva. Ezt követően porlasztásos technikát alkalmazva ezekből a is 1,25 mg/cm²-es fajlagos tömeggel rendelkező filmeket készítettünk mikroszkóp tárgylemezek felületére, majd megvizsgáltuk azok optikai tulajdonságait (**21. ábra**).



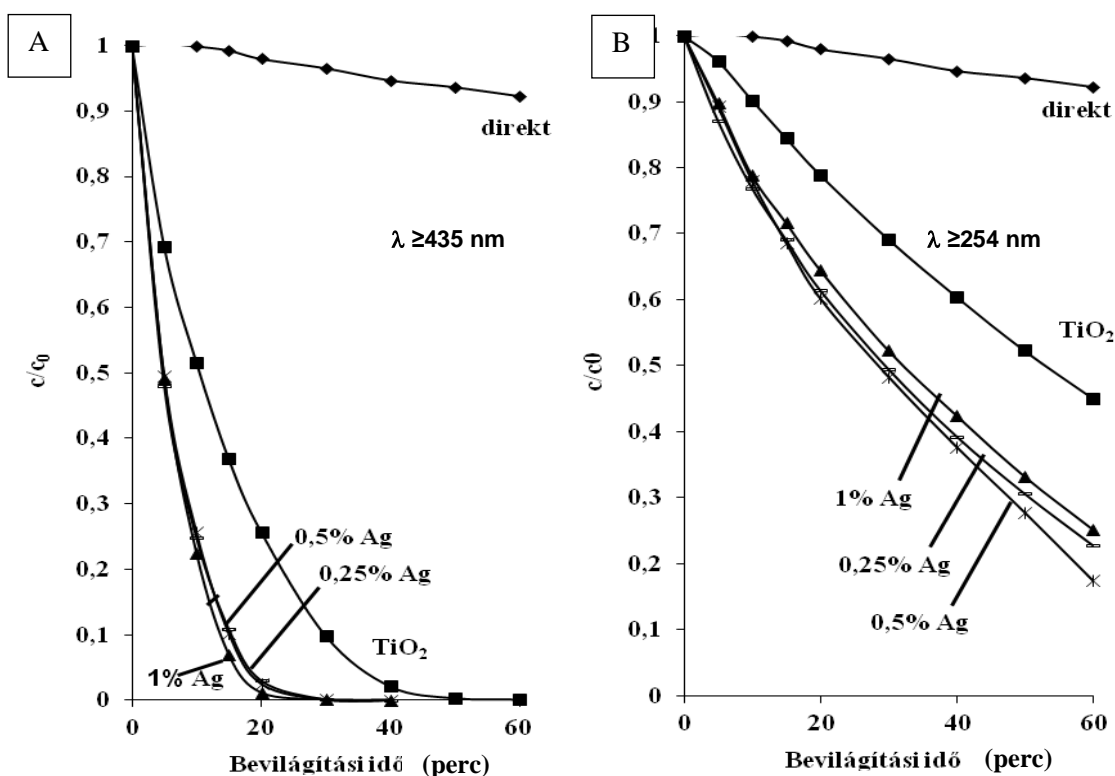
21. ábra Ezüsttel funkcionizált TiO₂ és ZnO fotokatalizátorok diffúz reflexiós spektruma az Ag tartalom függvényében

Az **21. ábrán** a filmek diffúz- reflexiós spektrumait tüntettem fel. Látható, hogy a kiindulási TiO₂-hoz képest az Ag tartalmú minták esetében abszorpciós csúcsok jelennek meg 450 nm-

nél, a csúcsok intenzitása az ezüst tartalom növelésével fokozódott. A kiindulási ZnO fotokatalizátorhoz képest Ag tartalmú minták esetében pedig 435 nm-nél jelentek meg abszorpciós csúcsok. A csúcsok intenzitása a ZnO tartalmú fotokatalizátorok esetében is fokozódik az ezüst tartalom növelésével.

5.2. Fotooxidációs hatékonyság mérése

A TiO₂ és ZnO tartalmú nanokompozit filmek fotooxidációs hatékonyságát etanol gőz gázkromatográfiás mérései alapján értékeltem ki. Az ábrákon az egységnyi tömegű katalizátor által 30 perc alatt elbontott etanol mennyiségét tüntettem fel TiO₂ (22. ábra) és ZnO (23. ábra) kiindulási katalizátor tartalom mellett. A nanokompozit filmekben mért etanol gőz bontását látható (22. ábra A, 23. ábra A) és UV fény bevilágítás mellett is mértem (22. ábra B, 23. ábra B).

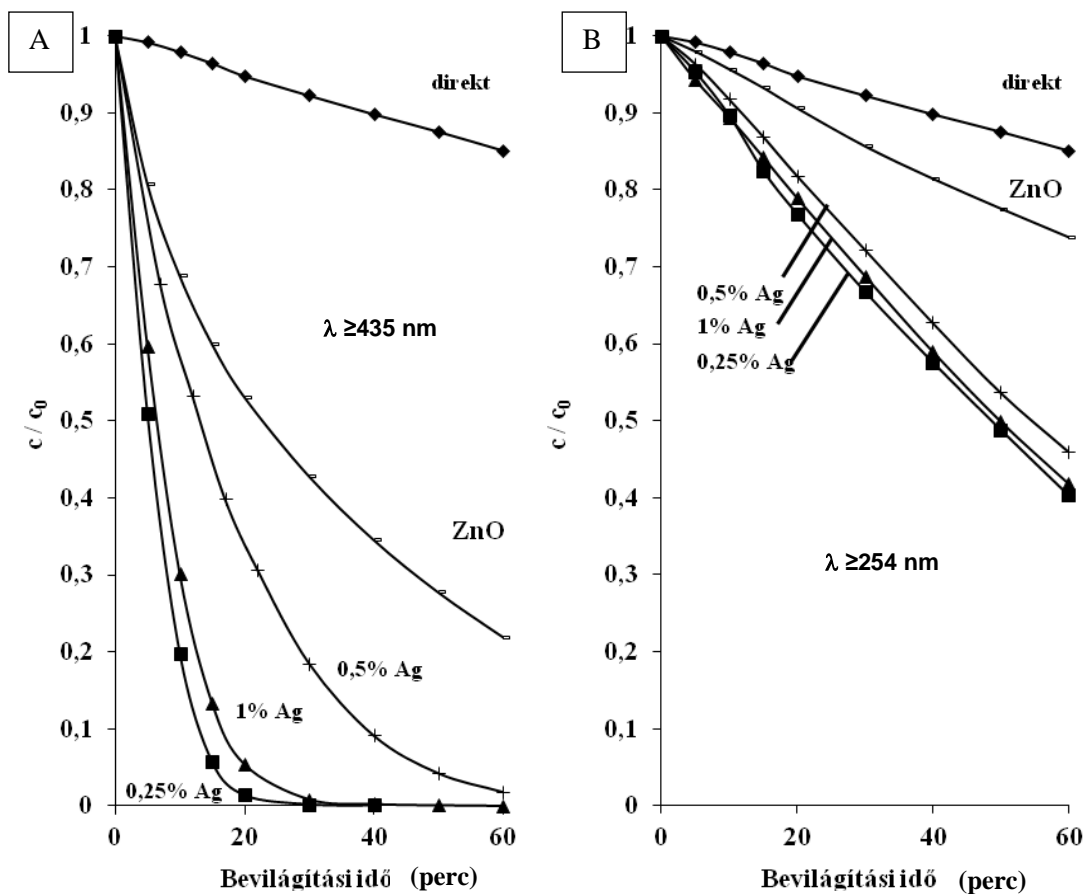


22. ábra TiO₂ fotokatalizátoron mért fotooxidációs hatékonyság különböző ezüst tartalom mellett látható (A) és UV (B) fényvel történő gerjesztés esetén

TiO₂ tartalmú minták esetében UV fényben az 1 % Ag tartalmú minta mutatta a legnagyobb aktivitást, látható fényben pedig a 0,5 % Ag tartalom volt a legoptimálisabb a fotooxidációs hatékonyság szempontjából. TiO₂ fotokatalizátor tartalmú rétegek esetében megállapítható,

hogy az Ag adalékolás egyértelműen javítja a TiO₂ hatékonyságát, a 0,5 % Ag tartalomnál mért legmagasabb érték (2,92 mmol/dm³ EtOH/g katalizátor/30 perc) több mint háromszorosa a kiindulási Degussa P25 TiO₂ (0,79 mmol/dm³ EtOH/g katalizátor/30 perc) katalizátornak. Ennek oka az Ag tartalomnak köszönhető fény- abszorpcióval magyarázható, mely azt okozza, hogy a funkcionizált katalizátor a látható fényben absorbeálja a fotonokat.

ZnO tartalmú minták esetében a 0,25 % Ag tartalmú minta mutatta a legnagyobb aktivitást fotooxidációs hatékonyság szempontjából UV és látható fényvel történő gerjesztés esetében is.



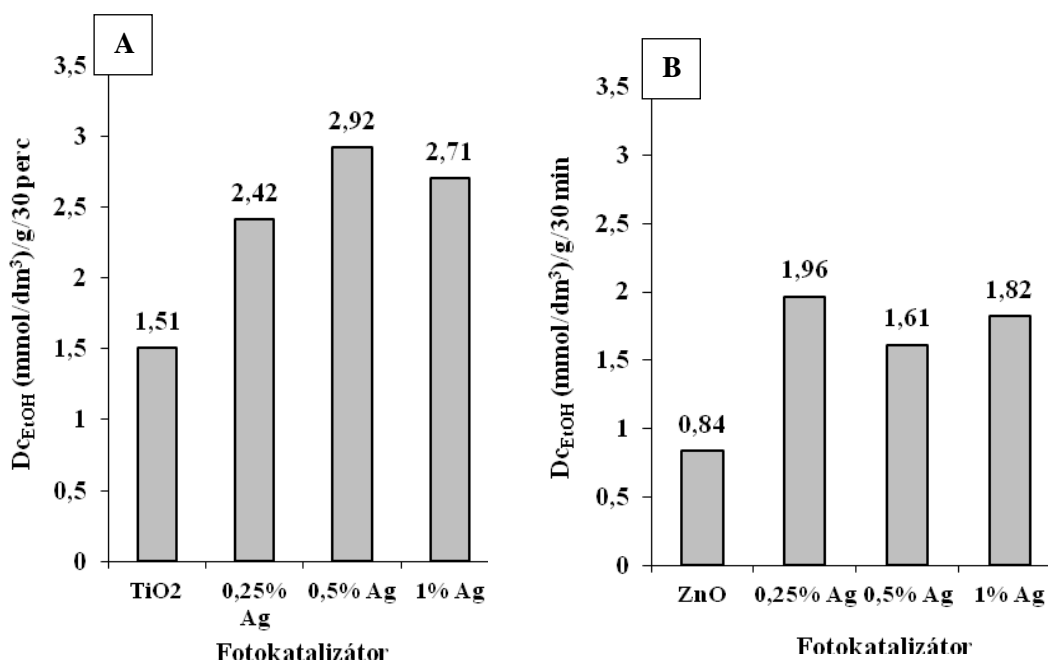
23. ábra Etanol gőz fotooxidációja az Ag-funkcionalizált ZnO alapú filmekken, látható- (A), valamint UV- fény (B) bevilágítás hatására

Etanol gőz különböző időpontokhoz (t) kapcsolt fotokatalitikus bontását (k) a következő egyenlet alapján ábrázoltam:

$$-\frac{\ln \Delta c}{c_0} = kt$$

Egyenlet (4)

, ahol a c_0 a kiindulási etanol koncentráció c pedig adott időponthoz tartozó etanol koncentráció. Az eredmények azt mutatták, hogy a látható (23. A ábra), és az UV-fény (24. B ábra) bevilágítás alatt az ezüsttel funkcionizált minták jobb fotooxidációs tulajdonságot mutattak a többi fotokatalizátorhoz képest mindkét vizsgált fotokatalizátor esetében. A látható fényben mért fotodegradációs hatást fajlagosan is feltüntettük (24. ábra).



24. ábra A TiO₂ és ezüsttel funkcionizált TiO₂ (A) ill. ZnO és ezüsttel funkcionizált ZnO (B) fajlagos fotooxidációs hatékonysága 30 perc reakcióidő után látható fény ($\lambda > 400$ nm) bevilágítás mellett

Az etanol gőz bontási mérések eredményei azt mutatták, hogy látható fényben a legjobb fotooxidációs hatékonyságot a 0,5 %-os Ag tartalommal rendelkező TiO₂ és a 0,25 %-os Ag tartalommal rendelkező ZnO rétegek mutatták, így a további mérések során is ezeket a mintákat teszteltem.

5.3. Reaktív nanokompozitok mechanikai stabilitásának növelése polimer kötőanyagok alkalmazásával

A diffúz reflexiós és fotooxidációs mérések alapján alkalmazhatóság szempontjából a 0,5 %-os Ag-TiO₂ és 0,25 %-os Ag-ZnO fotokatalizátorok bizonyultak a legjobbnak, ezért csak ezek a minták kerültek különböző polimer kötőanyagokban immobilizálva a teszt üveglapok felszínére. A további tesztek során a legoptimálisabbnak mért fotokatalizátorokat polimer kötőanyagok segítségével immobilizáltam, ezáltal az így kialakított vékonyrétegek mechanikai stabilitása nőtt. Az alkalmazott polimerek százalékos aránya a nanokompozit filmekben 10 m/m%-os polimer tartalomtól 100 m/m%-os polimer tartalomig változtak, ami megfelelt 0,125-1,25 mg/cm² fajlagos felületű nanokompozit filmeknek. A méréseket a hidrofil Prolak és hidrofób Epoxi gyanta esetében végeztem el reprezentatív mérésenként, bemutatva ezzel a különböző polimer hordozókba rögzített fotokatalizátor tartalmú reaktív nanokompozitok mechanikai stabilitását a fotokatalitikus hatékonyság függvényében. A vizsgálatok során a méréseket EN ISO 2409 szabvány [95] szerint végeztem el, az eredményekből kideríthető, hogy a katalizátor részecskék milyen erősen vannak a polimer rétegbe ágyazódva. Az értékeket egy 0-tól 5-ig terjedő stabilitási skálán rangsoroltam (0-stabil 5-instabil).

5.3.1. Hidrofil rögzítő anyag alkalmazása

Hidrofil Prolak rögzítő polimer alkalmazásakor TiO₂ fotokatalizátor esetében alacsony katalizátor tartalomnál (10 – 20 %) a film erősen tapad a hordozó (üveglemez) felületéhez, ezt követően azonban jelentősen csökken a kompozit réteg tapadása, melyet az értékek hirtelen növekedése mutat. Magasabb katalizátor tartalomnál (70 - 100 %) a filmek tapadása megközelíti a polimer kötőanyagot nem tartalmazó TiO₂ filmét (stabilitási skálán: 4 és 5), azaz rossz mechanikai stabilitással rendelkezik. Az Ag-TiO₂ felületi katalizátor tartalmú hidrofil polimer alapú filmek esetében 50 % katalizátor tartalom eléréséig fokozatosan csökken a kompozit rétegek tapadása (stabilitási skálán 0-ról 4-re a szabvány szerint), majd innentől kezdve a filmek hasonló rossz tapadási értékeket, tehát nem megfelelő mechanikai stabilitást mutatnak. A mérések során abszorbancia mérésen alapuló módszerrel is megvizsgáltam, hogy a felületi katalizátor milyen erősen rögzül a polimer réteghez. Az eredmények azt mutatták, hogy alacsony (10 – 60 %) katalizátor tartalomig megfelelő a

TiO₂, ill. Ag-TiO₂ tapadása a hidrofil polimer réteghez, azonban 70 - 80 %-os katalizátor tartalomnál a mért abszorbancia értékek maximumot ($A = 0,9 - 1$) mutatnak. Ennél az összetételnél a felső katalizátor réteg tapadása még a kiindulási TiO₂ ($A = \sim 0,8$) és Ag-TiO₂ ($A = \sim 0,45$) tapadását sem haladja meg. Az is látható viszont hogy maximális katalizátor tartalom (90 - 100 %) mellett viszont újra nő a felső katalizátor réteg tapadása, melyet a mért abszorbancia értékek csökkenése mutat.

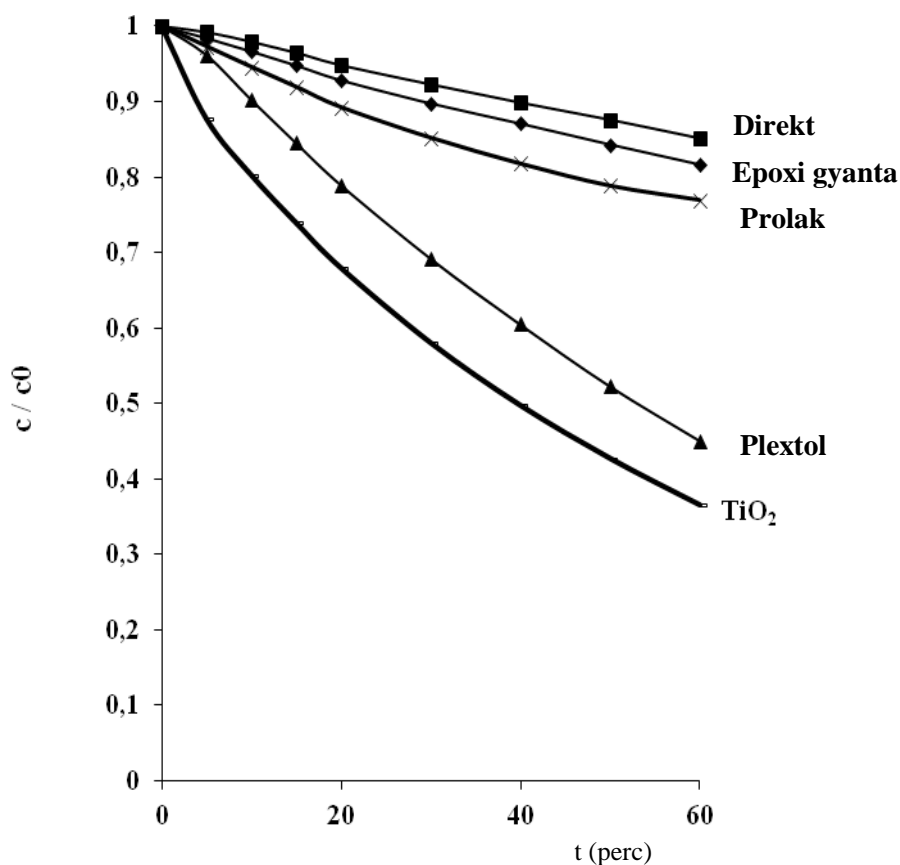
5.3.2. Hidrofób rögzítő anyag alkalmazása

A hidrofób Epoxi gyanta rögzítő polimer alkalmazásakor a különböző felületi katalizátor tartalmú Epoxi gyanta alapú vékonyrétegeken a rácsvágásos módszerrel meghatározott eredményeket állapítottam meg. TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozitok esetében a növekvő felületi katalizátorral telítési görbe szerint csökken a filmek tapadása. A mért értékek 20 - 30 % katalizátor tartalomig nőnek, majd inentől kezdve állandó ($\sim 3,5 - 4$ a szabvány szerint) értéket vesznek fel, mely megközelíti a polimer kötőanyagot nem tartalmazó TiO₂ filmét (stabilitási skálán: 4 és 5). Az Ag-TiO₂ felületi katalizátor tartalmú Epoxi alapú filmek esetében (**10. ábra**) is hasonló eredményeket kaptam: a felületi TiO₂ növekedésével csökken a filmek tapadása (1-ről 4-re a szabvány szerint), azonban a mért értékek mindvégig a kiindulási polimer filmre meghatározott érték (4 és 5 szabvány szerint) alatt vannak, mely mutatja a kompozit filmek jobb stabilitását a katalizátor filmhez képest. Hidrofób fotokatalizátor rögzítő polimer esetében is megvizsgáltam, hogy a felületi katalizátor milyen erősen rögzül az alsó festék (polimer) réteghez. Az abszorbancia mérésekből kiderül, hogy mindkét (TiO₂ és Ag-TiO₂) esetben a felületi katalizátor tartalom növekedésével a felső katalizátor réteg tapadása csökken, ezt a növekvő abszorbancia értékek támasztják alá. TiO₂ fotokatalizátor esetében 50%-os katalizátor tartalomig változatlanok az értékek ($A = \sim 0,2$), majd ezt követően fokozatosan növekednek $A = \sim 0,6$ értékig. Ez az érték még mindig kevesebb, mint a kiindulási TiO₂ filmre meghatározott érték ($A = 0,8$). Az Ag-TiO₂ esetében meghatározott kisebb abszorbancia értékek ($A = 0,1 - 0,6$) bizonyítják, hogy Ag-TiO₂ nanokompozit erősebben ágyazódik a polimer kötőanyagba, mint a kiindulási TiO₂.

Az eredmények alapján összegzésképpen kijelenthető, hogy a fotokatalizátort és hidrofób, ill. hidrofil kötőanyagot tartalmazó nanokompozit filmek 60 m/m%-os fotokatalizátor

tartalomig mechanikailag stabilak, ezenfelül a mérések során megállapítottam azt is, hogy az Ag-TiO₂ fotokatalizátort tartalmazó rétegek stabilabbak a kiindulási TiO₂-ot tartalmazó rétegeknél ugyanolyan fotokatalizátor koncentráció mellett.

A TiO₂ fotokatalizátor etanol gőz bontásának eredményeit, tehát fotokatalitikus hatékonyságát különböző polimer rögzítő anyagokkal is megmértem, az eredmények a **25. ábrán** láthatók.



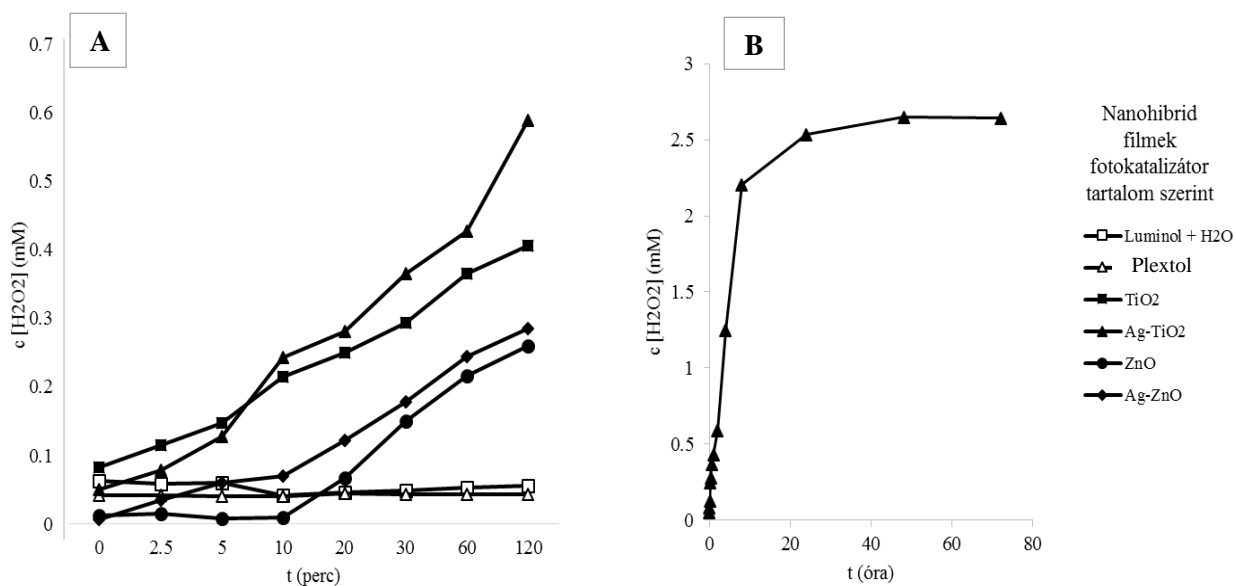
25. ábra Különböző polimer rögzítő anyagok hatása a TiO₂ fotokatalitikus hatékonyságára

Az eredményekből látható, hogy a TiO₂ fotokatalizátor fotooxidációs hatékonysága minden esetben jobb volt polimer nélkül egységnyi idő alatt, mint a polimerbe ágyazott TiO₂ esetében mért értékek. A három megvizsgált polimer esetében 60 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett (legjobb mechanikai stabilitás) a legjobb fotooxidációs hatékonyságot a hidrophil Prolak polimerbe ágyazott TiO₂ esetében mértem, ezt követte a Plextol polimerbe ágyazott TiO₂ esetében mért érték. A legrosszabb fotooxidációs hatékonyság az Epoxi

gyanta esetében figyelhető meg, aminek oka az mechanikai stabilitások során mért abszorbancia értékekben keresendő. A fotokatalizátor részecskéket ez a polimer fedi le a legerőteljesebben, így a mérések során alkalmazott fényforrás fénye a legkevésbé jut el a polimerbe ágyazott fotokatalizátor részecskékhez, amelyek így kevésbé képesek az etanol gőz fotokatalitikus lebontására.

5.4. Reaktív gyök (OH•) koncentráció meghatározás a reaktív nanokompozitok felületén

A mérések során a fotokatalizátor felszínén keletkező szabadgyökök koncentrációját mértük. A kísérletek során a fotokatalizátorok mechanikai stabilitásának növelése érdekében azokat Plextol polimer kötőanyagba ágyaztam a stabilitás vizsgálatoknak megfelelően 60 m/m%-os fotokatalizátor és 40 m/m%-os polimer tartalom mellett. A különböző fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek által termelt szabadgyökök koncentrációja a **26. ábrán** látható.



26. ábra A fotokatalizátor/polimer tartalmú nanokompozit filmek felszínén képződő reaktív szabadgyökök koncentrációja (mM) (A) Ag-TiO₂/polimer tartalmú nanokompozit felszínén képződő szabadgyökök koncentráció (mM) változásának hosszú idejű vizsgálata (B)

A mintákon képződő hidroxilgyökök koncentrációját az idő függvényében a következő egyenlet alapján számítottam:

$$c[\text{H}_2\text{O}_2](\text{mM}) = \frac{\text{RLU/s}}{41866} \quad \text{Egyenlet (5)}$$

A mért relatív fényegységek számából H_2O_2 koncentrációt számoltam az idő függvényében a különböző fotokatalizátor/polimer nanokompozit filmekben és a tiszta polimert tartalmazó rétegek esetében. A kemilumineszcens fénykibocsátás mértékét Ag-TiO₂, Ag-ZnO esetében a kiindulási TiO₂ és ZnO értékekhez és a tiszta polimert tartalmazó filmekhez ill., a luminol önmagában mért kemilumineszcencia értékeihez viszonyítottam. Az eredmények alapján Ag-TiO₂ és TiO₂ fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek esetében jelentős szabadgyök képződés adódott a vizsgálat 5. perce után. Ag-ZnO és ZnO fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek esetében a szabadgyök koncentráció növekedése a vizsgálat 20. percében figyelhető meg. A 30. percben az Ag-TiO₂ esetében a legintenzívebb a szabadgyökök koncentrációnövekedése a többi fotokatalizátort tartalmazó filmekhez és a tiszta polimert tartalmazó filmekhez viszonyítva. Ez a tendencia a hosszú távú mérések során is megmaradt, az Ag-TiO₂ esetében a koncentráció növekedése egy telítési görbében végződik 72 óra eltelte után. A kiindulási TiO₂ tartalmú fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek esetében a telítési görbe már 24 órán belül eléri a koncentrációnövekedés maximumát. Az eredmények azt is mutatták, hogy a ZnO tartalmú filmekben mért hidroxil gyökök koncentrációnövekedése kisebb mértékű a TiO₂ tartalmú filmekben mért adatokhoz képest és a koncentráció növekedése már 8 óra bevilágítás után egy telítési görbében ér véget. A **2. táblázatban** a különböző fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmekben képződő szabadgyök koncentráció értékek láthatók.

2. táblázat Egységnyi idő alatt a nanokompozit filmek felületén képződött hidroxilgyök koncentrációja

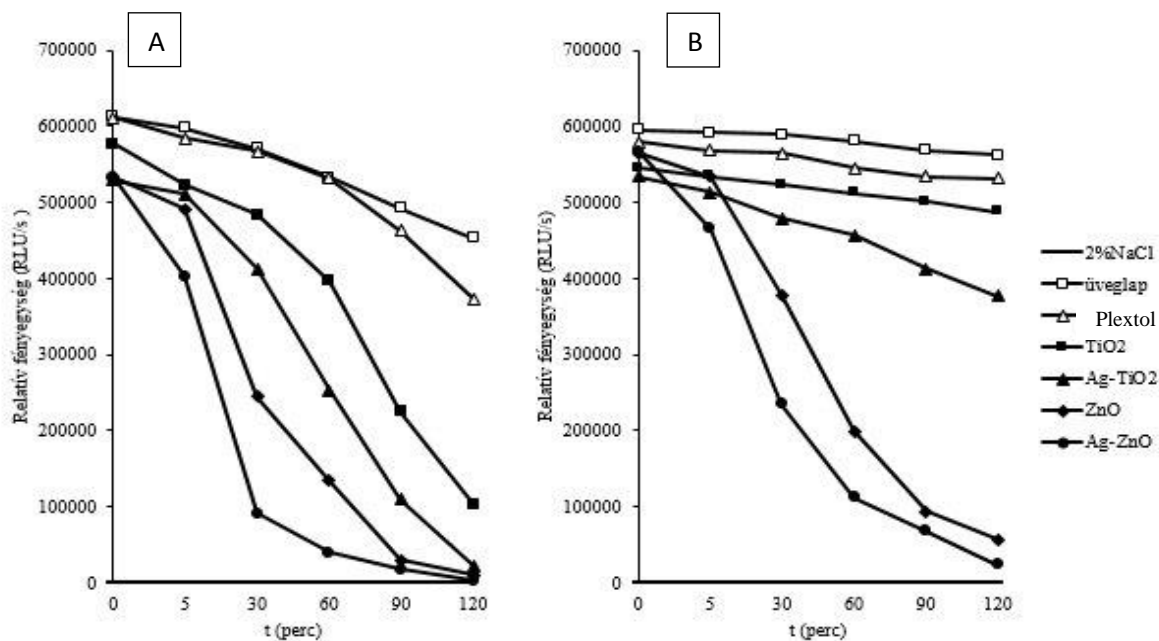
t (perc)	Különböző fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek felszínén képződő OH• koncentráció (mM)					
	Luminol + H ₂ O	Plextol	TiO ₂ / Plextol	Ag-TiO ₂ / Plextol	ZnO/ Plextol	Ag-ZnO/ Plextol
0	0,063	0,041	0,083	0,050	0,011	0,007
2,5	0,059	0,041	0,115	0,078	0,014	0,034
5	0,060	0,040	0,147	0,127	0,008	0,061
10	0,042	0,041	0,215	0,243	0,009	0,070
20	0,047	0,045	0,249	0,280	0,067	0,122
30	0,049	0,043	0,294	0,365	0,151	0,178
60	0,054	0,043	0,365	0,427	0,217	0,245
120	0,055	0,043	0,407	0,590	0,259	0,286
240	0,055	0,042	0,413	1,249	0,265	0,308
480	0,054	0,041	0,468	2,203	0,271	0,360
1440	0,054	0,037	0,493	2,533	0,259	0,365
2880	0,055	0,041	0,493	2,648	0,265	0,360

Az adatok alapján a legmagasabb hidroxilgyök koncentrációt egységnyi idő alatt Ag-TiO₂ tartalmú nanokompozit filmek esetében értem el (0,365 mM 30 perces bevilágítás után). Ez az érték a TiO₂-tartalmú nanokompozit filmekhez és a ZnO tartalmú filmekhez képest is magasabb. Az eredmények egyezést mutatnak a fotooxidációs és diffúz reflexiós mérések eredményeivel, miszerint a látható fényt emittáló fényforrással gerjesztett fotokatalizátorok közül a legmagasabb fotooxidációs hatékonysága az Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú rétegeknek van, a legkisebb fotooxidációs hatékonyságot pedig a ZnO tartalmú filmek esetében mértem, ami a hidroxilgyök képződés kinetikájában is megmutatkozik.

5.5. Fotokatalizátorok és polimerek toxicitásának mérése

5.5.1. Nanokompozit filmek toxicitásának megállapítása *Allovibrio fischeri* biolumineszcencia csökkenése alapján

Az **27. ábrán** a különböző fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmen mért biolumineszcencia változás látható. Az biolumineszcens *Allovibrio fischeri* baktérium által kibocsátott fényegységek száma a külső környezetben megtalálható, a baktérium anyagcserére káros anyagok koncentrációjával arányos mértékben csökken. Jelen vizsgálat esetében a toxikusság a fotokatalizátorok felszínén a bevilágítás hatására termelődő szabadgyökök és a fotokatalizátorokat rögzítő polimer toxikus hatásának együttese.



27. ábra Az *Allovibrio fischeri* baktérium által kibocsátott biolumineszcencia változása bevilágított (A) és sötétkontroll (B) nanokompozit filmekben

Az fotokatalizátorokat és a rögzítő polimer (Plextol) biolumineszcencia csökkentő hatását látható fényel történő aktiválás mellett és sötétben is elvégeztem. A gerjesztett fotokatalizátorok felszínén mért biolumineszcencia változás mérésével megállapítható a rétegeken a gerjesztés hatására termelődő szabadgyökök toxikus hatásának mértéke. A sötétkontroll esetében a biolumineszcencia változás minden esetben csak a disszociált Ag^+ (aq) ionok és Zn^{2+} (aq) ionok hatásának, illetve a kötőanyagok toxikusságának köszönhető. Sötétben végzett kísérletek során tehát kizártuk a fényforrás és a fotokatalízis fény intenzitás csökkentő hatását. A bevilágított mérések eredményein látható, hogy a legerősebb biolumineszcencia csökkenést az ZnO tartalmú nanokompozit rétegek okozták. A ZnO tartalmú nanokompozit filmekben már 30 perc kontaktidő után a kezdeti fényintenzitás 54 %-al csökkent, míg Ag-ZnO tartalmú nanokompozit filmekben ez az érték 89 %-nak adódott. 120 perc kontaktidő után pedig ZnO tartalmú nanokompozit filmekben 98 %-os, míg Ag-ZnO tartalmú filmekben 99 %-os fényintenzitás csökkenést mértem a kezdeti fényegység mennyiségekhez képest.

Az Ag-ZnO tartalmú rétegek minden időpontban erősebb (2 - 28 %-al több) fényintenzitás csökkentő hatással rendelkeztek, mint a kiindulási ZnO fotokatalizátort tartalmazó rétegek.

A különböző fotokatalizátorok esetében mért fényintenzitás csökkenés mértéke (RLU/s/RLU/s₀) a **3. táblázatban** látható.

3. táblázat Az *Allovibrio fischeri* baktérium által kibocsátott biolumineszcencia változása (RLU/RLU₀) **bevilágított** nanokompozit filmekben

t (min)	Vizsgált anyagok esetében relatív fényegység (RLU/s) / (RLU/s ₀)					
	üveglap	Plextol	TiO ₂ /Plextol	Ag-TiO ₂ / Plextol	ZnO/ Plextol	Ag-ZnO/ Plextol
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	2,43	4,31	9,18	3,57	8,20	24,58
30	6,93	7,09	16,03	22,10	54,17	82,96
60	13,15	12,97	31,22	52,21	75,01	92,72
90	19,71	24,15	61,06	79,23	94,36	96,79
120	26,05	38,95	82,05	95,86	98,19	99,52

Összegzésképpen elmondható, hogy az Ag-TiO₂ tartalmú nanokompozit filmek kisebb fényintenzitás csökkenést okoztak a ZnO tartalmú nanokompozit rétegekhez viszonyítva, 30 perces kontaktidő után 22,1%-os intenzitáskülönbséget mértem a 0. percben mért fényegységek számához képest, és a 120. percben is 95,86%-os fényintenzitás csökkenés adódott, ami alatta van a ZnO tartalmú nanokompozit filmek esetében mért értékeknek. Az Ag-TiO₂ tartalmú rétegek erősebb hatással rendelkeztek, mint a kiindulási TiO₂ tartalmú rétegek, a 30. perc után 6-21%-al több fényintenzitás csökkenést figyelhető meg Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú rétegek esetében. Az *Allovibrio fischeri* baktérium által kibocsátott biolumineszcencia változása (RLU/RLU₀) sötétben tartott nanokompozit filmekben a **4. táblázatban** látható.

4. táblázat Az *Allovibrio fischeri* baktérium által kibocsátott biolumineszcencia változása (RLU/RLU₀) nanokompozit filmekben (**sötétkontroll**)

t (min)	Vizsgált anyagok esetében relatív fényegység (RLU/s)					
	üveglap	Plextol	TiO ₂	Ag-TiO ₂ / Plextol	ZnO/ Plextol	Ag-ZnO/ Plextol
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,52	1,92	2,01	3,95	5,35	17,96
30	0,94	2,50	4,07	10,44	32,91	58,68
60	2,39	5,76	6,10	14,63	64,79	80,21
90	4,63	7,67	8,14	22,86	83,56	88,08
120	5,48	8,24	10,62	29,52	89,94	95,85

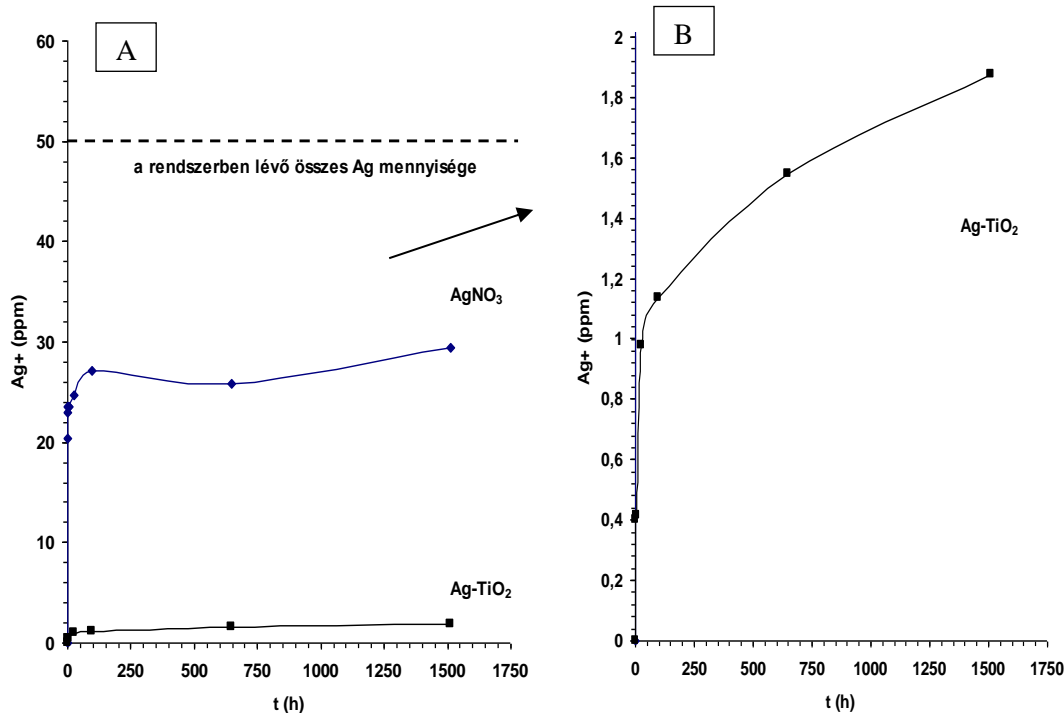
A sötétkontroll kísérletek során TiO₂ tartalmú nanokompozit rétegek nem mutattak jelentős fényintenzitás csökkenést a luminometriás mérések során 120 perc kontaktidő után sem. A tiszta polimert tartalmazó rétegek és üveglapon sem tapasztaltam jelentős változást a

baktérium által kibocsátott fényintenzitás értékében. Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú rétegek esetében 30 perc után látható eltérés a fényintenzitás csökkenésében a kiindulási TiO₂-t és a tiszta Plextol polimert tartalmazó fotokatalizátorokhoz viszonyítva. Az Ag-TiO₂-t tartalmazó rétegeken a fényintenzitás 6-18%-al több csökkenést mutatott 30 - 120 perc alatt, mint a kontrollesoportok esetében, ez az érték az ezüst tartalmú fotokatalizátorok felszínéről disszociált ezüst ionok hatásának köszönhető, a kapcsolódó kvantitatív mérések adatait a következő fejezet tartalmazza.

A sötétkontroll kísérletek során a ZnO tartalmú rétegek szintén erős fényintenzitás csökkentő hatással rendelkeztek, ami a fotokatalizátorok felszínéről disszociált Zn²⁺ (aq) ionok toxikus hatásának eredménye. A kiindulási ZnO fotokatalizátort tartalmazó filmek esetében már a 30. percen 30 %-al több a fényegységek számának csökkenése a kontroll polimert tartalmazó filmekhez képest. Ez az érték a 60. percen 59 %-al, a 90. percen 75 %-al és a 120. percen 82%-al több, mint a tiszta polimert tartalmazó rétegeken mért fényintenzitás csökkenés. Az Ag-ZnO-ot tartalmazó filmek esetében már az 5. percen 16 %-al nagyobb fényintenzitás csökkenést mértem, mint a tiszta polimert tartalmazó rétegeken. Ez az érték a 30. percen 56 %-al, a 60. percen 74 %-al, a 90. percen 80 %-al és a 120. percen 88 %-al több fényintenzitás csökkenést okozott, mint tiszta polimert tartalmazó filmek esetében, ami a Zn²⁺ (aq) ionok és Ag⁺ (aq) ionok nanokompozit réteg felületről való disszociációjának szinergikus hatása. Az eredmények összegzéséeként kijelenthetjük, hogy a ZnO fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek esetében a Zn²⁺ (aq) ionok toxikus hatása jelentős, míg a TiO₂ tartalmú filmek esetében a biolumineszcencia csökkenést nagyobb mértékben a látható fény által aktivált fotokatalízis folyamata okozza.

5.5.2. Ag-TiO₂ fotokatalizátorokról disszociált Ag⁺ (aq) ion koncentráció mérése

A 2 hónap alatt kioldódott Ag⁺ mennyiségét az idő függvényében a **28. ábrán** tüntettük fel. Látható, hogy az AgNO₃ esetében a kiindulási Ag⁺ tartalomból (50 ppm) kb. 30 ppm diffundált át a féligáteresztő hártán (~ 60%). Az is megfigyelhető, hogy a mért értékek által képzett görbe rövid időn belül (~24 óra alatt) elérte a telítési értéket. A különbség, azaz a 40%-nyi Ag tartalom a féligáteresztő hártában maradt, melyet a hártya elszíneződése is mutatott.



28. ábra. Az AgNO₃-ból (A), ill. az Ag-TiO₂ fotokatalizátorból (B) kioldódott Ag⁺ ionok koncentrációja az idő függvényében

Ezzel szemben az Ag-TiO₂ esetében a kiindulási Ag tartalom (50 ppm) mindössze 4 %-a (~2 ppm) oldódott ki két hónap alatt ionos formában (lásd jobb oldali ábrán kinagyítva). Ha feltételezzük, hogy a féligáteresztő hártáiban jelenleg is benne maradt az Ag⁺ ionok kb. 40 %-a, akkor a korrigált érték ~2,8 ppm (5,6 %). Ez tehát azt jelenti, hogy 1 g 0,5 m/m%-nyi Ag-öt (5000 µg Ag nanorészecske) tartalmazó Ag-TiO₂ fotokatalizátorból 280 µg-nyi (2,6 µmol) Ag⁺ oldódik ki 2 hónap alatt. Az is látható, hogy az Ag-TiO₂ esetében a kioldódás sebessége is lassabb. Az összes Ag⁺ koncentrációjának 50 %-a (1 ppm) az első 24 órában kioldódik, majd a telítési értéket (2 ppm) fokozatosan éri el.

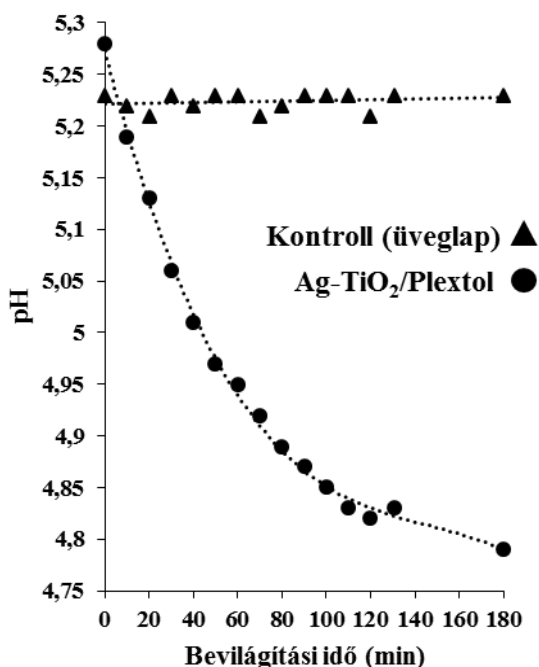
Figyelembe véve a fenti kioldódott Ag⁺ mennyiségét [280 µg (2,6 µmol)/ g katalizátor], ill. azt, hogy az általunk preparált filmekben a felületi katalizátor tartalom 1,25 mg/cm², a filmek felületéről kioldódó Ag⁺ mennyisége: 0,35 µg Ag⁺/ cm² film (0,00325 µmol Ag⁺/cm² film). Összehasonlításként Zhao és Stevens bemutatták, hogy a 10⁴ - 10⁵ CFU/ml koncentrációjú *Escherichia coli* baktérium tenyészet számára a növekedés gátló Ag⁺ ion koncentráció 9,45-18,9 µM [118] (felületre átszámolva: 0,0945 - 0,189 µmol Ag⁺/cm² film). Schreurs és Rosenberg pedig dolgozatukban bemutatták, hogy 2 µM-os ezüst-ion koncentráció (felületre

átszámolva: $0,02 \mu\text{mol Ag}^+/\text{cm}^2$ film) gátolta a foszfát cserét az *Escherichia coli* baktérium, valamint a táptalaj között, ezáltal a sejtek károsodtak [119].

5.6. Baktériumok adhéziója a fotokatalizátorok felületén

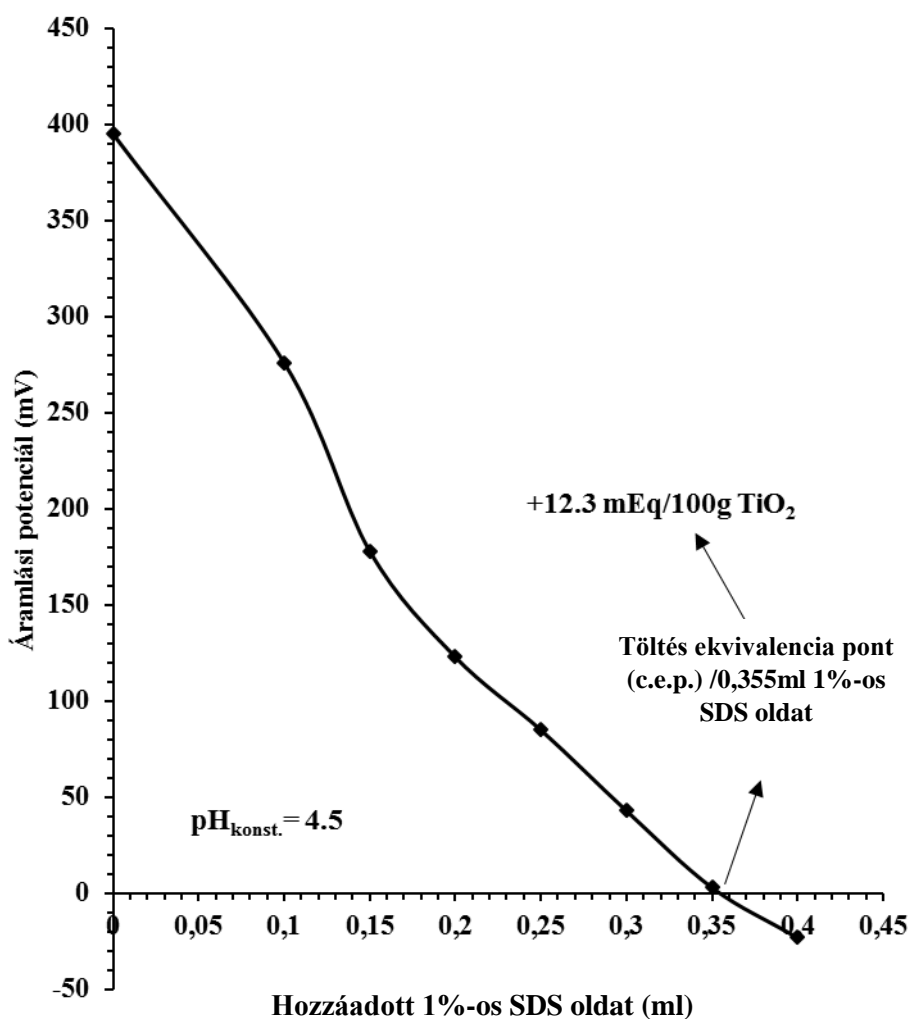
5.6.1. Baktériumok és fotokatalizátorok felületi töltésének meghatározása

A baktériumok adhézióját a fotokatalizátor felületén töltéstitrálásos módszerrel jellemeztem három baktériumfaj esetében. A baktériumok között Gram-pozitív *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 és Gram-negatív *Escherichia coli* ATCC 29522 és *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 törzsek is szerepeltek. A fotokatalizátor pH értéke a pozitív felületi töltést biztosító $\text{pH} = 4,5$ volt. Az irodalmi adatok szerint a TiO_2 részecskék pozitív töltéssel rendelkeznek (töltés ekvivalens állapot) [120]. A **29. ábrán** a pH értéke $t=0$ időpontban $5,28$ volt, a szuszpenzió UV fényel történő megvilágítás során a folyadékfázis savassága növekedett, ami a nanokompozit film felületén képződött reaktív gyökök és a protonok termelődésének eredményeként következett be. A fenti mérésorozatra hivatkozva a fotokatalitikus réteg savasnak mutatkozott, ezért a töltés titrálások során a közeg pH-ját $4,5$ -re állítottam be.



29. ábra Az Ag-TiO₂/Plextol vékonyrétegen mért pH értékek változása a bevilágítási idő függvényében

A fotokatalizátorok és baktérium felületi töltését minden esetben a mért áramlási potenciál adatokból számítottam. Az **30. ábrán** 10 ml 1 %-os TiO_2 szuszpenzió áramlási potenciál értékei láthatók, a töltéstitrálást 1 %-os SDS oldattal végeztem állandó 4,5-es pH mellett.



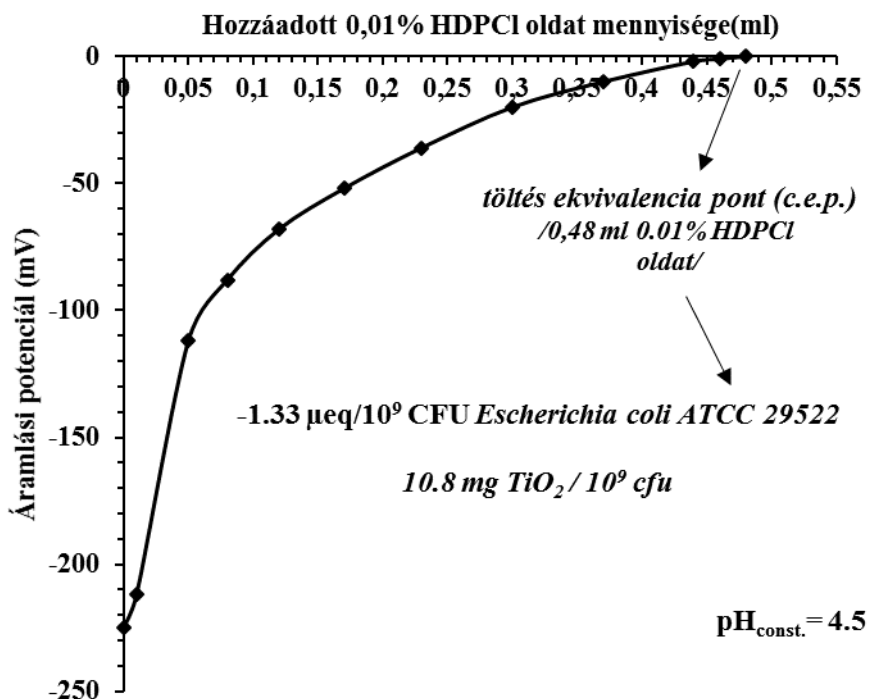
30. ábra 10 ml 1 %-os TiO_2 szuszpenzió titrálása 1 %-os SDS tenzid oldattal szemben a TiO_2 felületi töltésének meghatározása érdekében ($\text{pH} = 4,5$)

A TiO_2 szuszpenzió kialakult áramlási potenciálja ezen a pH-n pozitívnak adódott, majd folyamatosan csökkent a TiOH_2 felületek deprotonálódása és a folyamatos töltésvesztés hatására [121]. A TiO_2 töltéskompenzálásért felelős tenzid molekulák mennyiségét ($n_{\text{SDS}} = 0,0123 \text{ mM}$) és a mért TiO_2 mennyiségét ($m_{\text{TiO}_2} = 0,1 \text{ g}$) figyelembe véve a TiO_2 nanorészecskék fajlagos felületi töltése $+12,3 \text{ meq}/100 \text{ g}$ volt ($\text{pH} = 4,5$). A felületi töltéshez

tartozó 100 grammra vonatkoztatott milliekvivalens mennyiséget a következő egyenlet alapján számoltam:

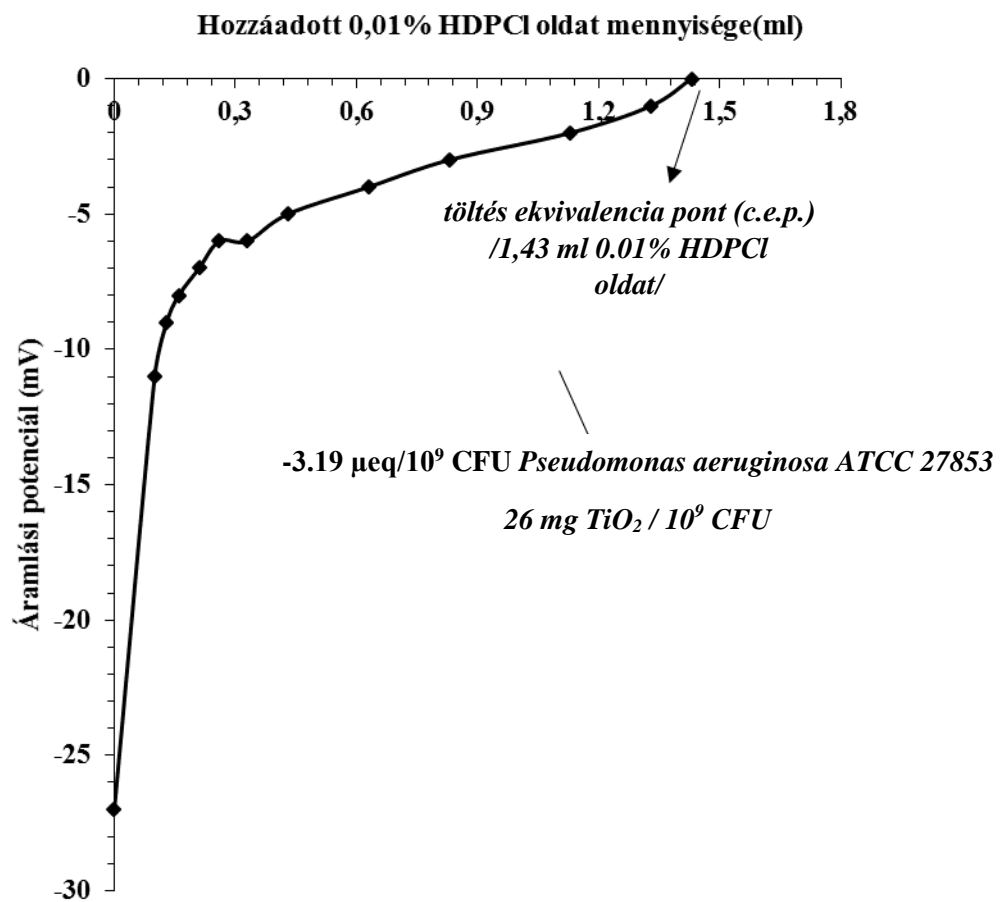
$$\text{specifikus töltés} = c_{\text{SDS}} \times \frac{V_{\text{SDS}}}{m_{\text{TiO}_2}} \quad \text{Egyenlet (6)}$$

A TiO_2 részecskékhez hasonlóan Ag-TiO_2 részecskékkel is elvégeztem a töltéstitrálás méréseket, eredményként $+0,38 \text{ meq}/100\text{g}$ értéknek adódott. A **31. ábra** *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium fajlagos felületi töltésének alakulását mutatja be 0,01 %-os HDPCI tenziddel szemben való töltés titrálása során.



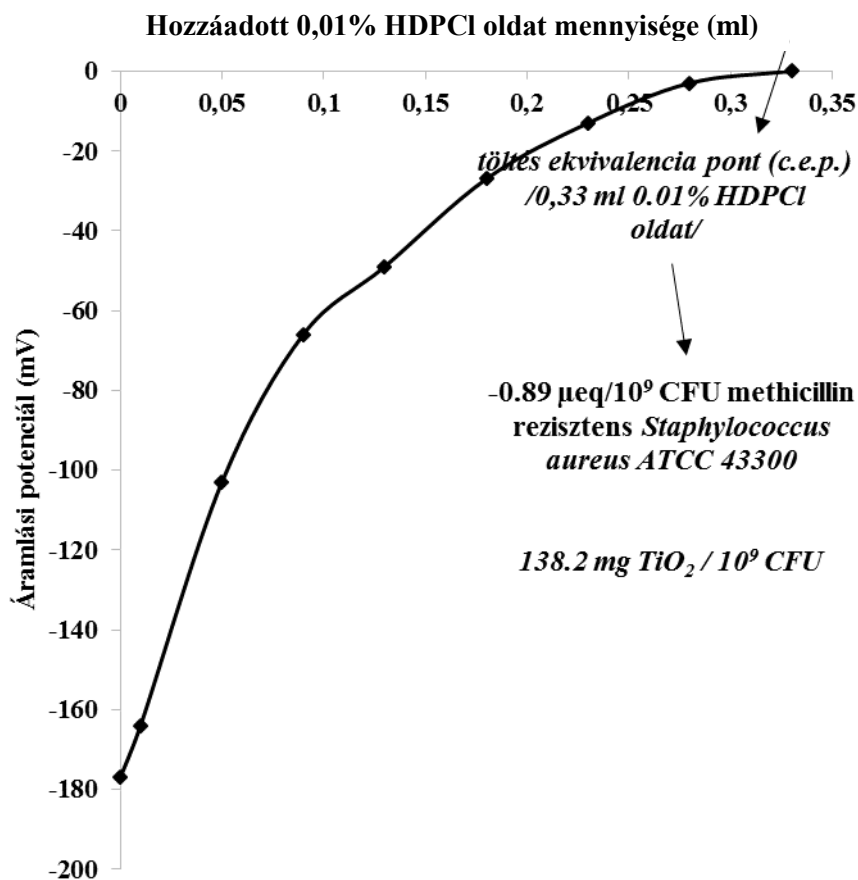
31. ábra Fajlagos felületi töltés meghatározása *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium esetében; 10 ml $1,064 \times 10^7 \text{ CFU}/\text{ml}$ *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium szuszpenzió titrálása 0,01% HDPCI oldattal szemben

Ebben az esetben a töltéstitrálás görbéje a korábbi méréshez képest ellentétes effektust mutatott: a kiindulási baktérium szuszpenzió negatív áramlási potenciállal rendelkezett, ami folyamatosan csökkent a pozitív töltésű tenzid molekulák mennyiségének emelkedésével. *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium fajlagos felületi töltése a mérések során $-1,33 \mu\text{eq}/10^9 \text{CFU}$ volt.



32. ábra Fajlagos felületi töltés meghatározása *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium esetében; $10 \text{ ml } 1,32 \times 10^7 \text{ CFU/ml } Pseudomonas aeruginosa$ ATCC 27853 baktérium szuszpenzió titrálása 0,01% HDPCI oldattal szemben

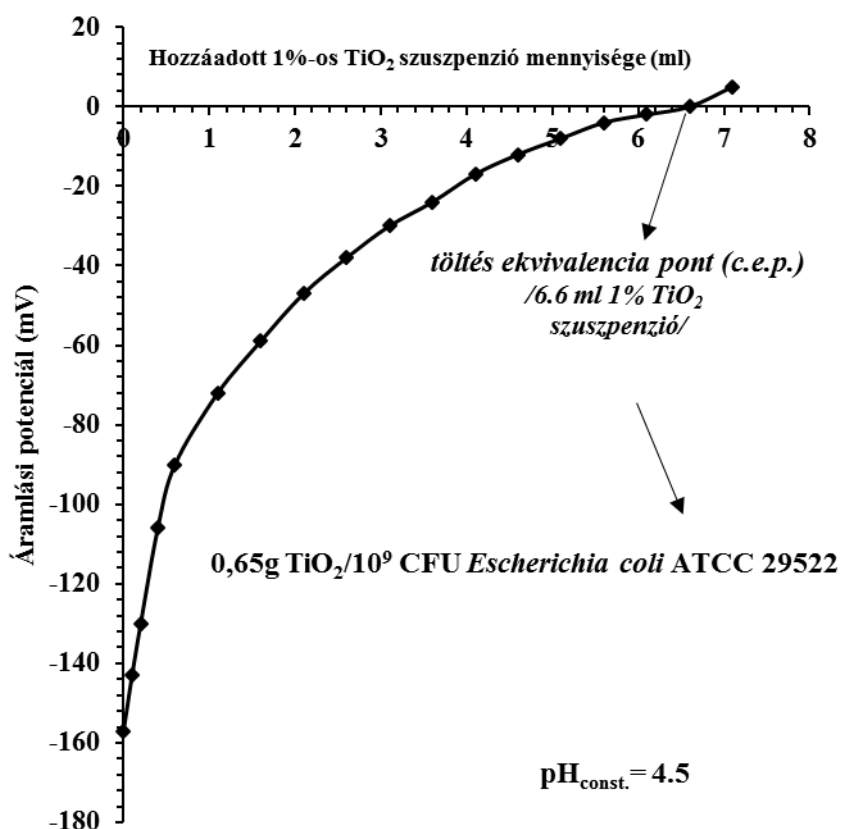
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (**32. ábra**) és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktériumok esetében (**33. ábra**) a felületi töltés $-3,19 \mu\text{eq}/10^9 \text{CFU}$ és $-0,89 \mu\text{eq}/10^9 \text{CFU}$ -nek adódott.



33. ábra Fajlagos felületi töltés meghatározása methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktérium esetében; 10 ml $1,09 \times 10^7$ CFU/ml methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktérium szuszpenzió titrálása 0,01% HDPCI oldattal szemben

A **30-33. ábrákon** a számított ekvivalens TiO_2 mennyiségeket is feltüntettem annak jellemezésére, hogy a vizsgált baktériumok mennyi ellentétes töltésű fotokatalizátort képesek töltéskompenzációval megkötni a sejtfal felszínén. A baktériumokon mért negatív töltéséért a baktériumok sejtfalában található, a peptidoglikán rétegbe ágyazódott teikolsavak (más néven teichonsav) felelősek Gram-pozitív baktériumok esetében. Gram-negatív baktériumok esetében a negatív töltést a sejtfal felszínén a poliszacharid láncok okozzák, ezek a struktúrák szintén a peptidoglikán rétegbe ágyazódva helyezkednek el [121, 122]. A baktériumok mért fajlagos (10^9 CFU-ra vonatkoztatott) felületi töltés értékeinek

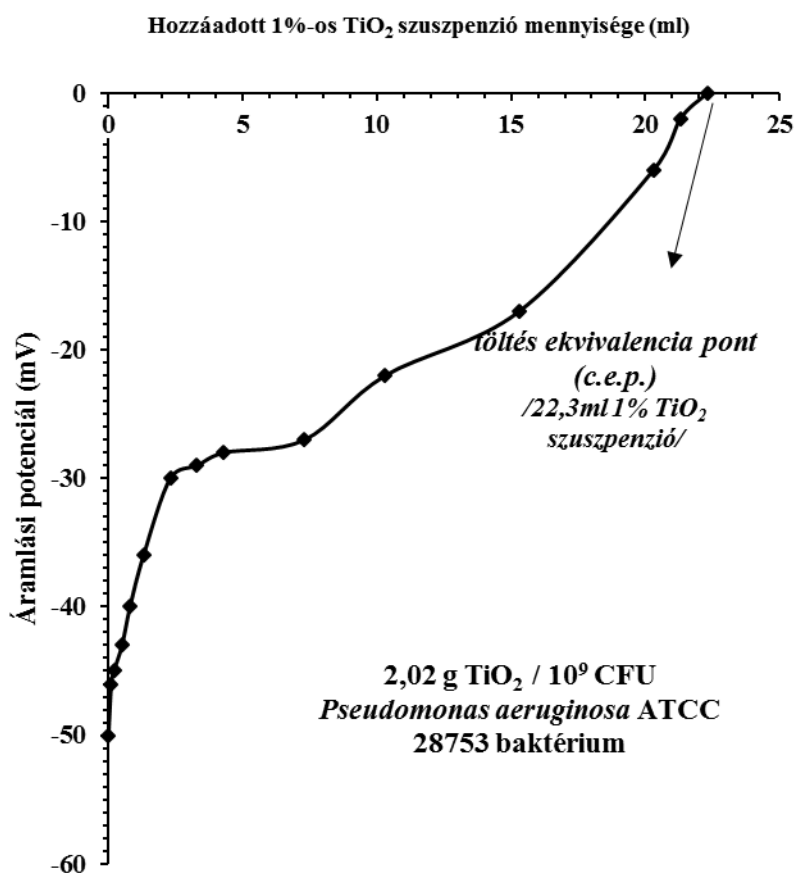
ismeretében a baktériumokat a fent említett baktériumkoncentráció értékek mellett 1%-os TiO₂ szuszpenzió ellenében is megtitráltam. A baktériumok töltéstitrálása során a pH-t állandó pH = 4,5 értékre állítottam be. Az *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium esetében a töltéstitrálás során mért értékek a **34. ábrán** láthatók.



34. ábra *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium töltéstitrálása 1 %-os TiO₂-vizes szuszpenzióval; 10 ml $1,09 \times 10^7$ CFU/ml *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium szuszpenzió titrálása 1 %-os TiO₂ szuszpenzióval szemben

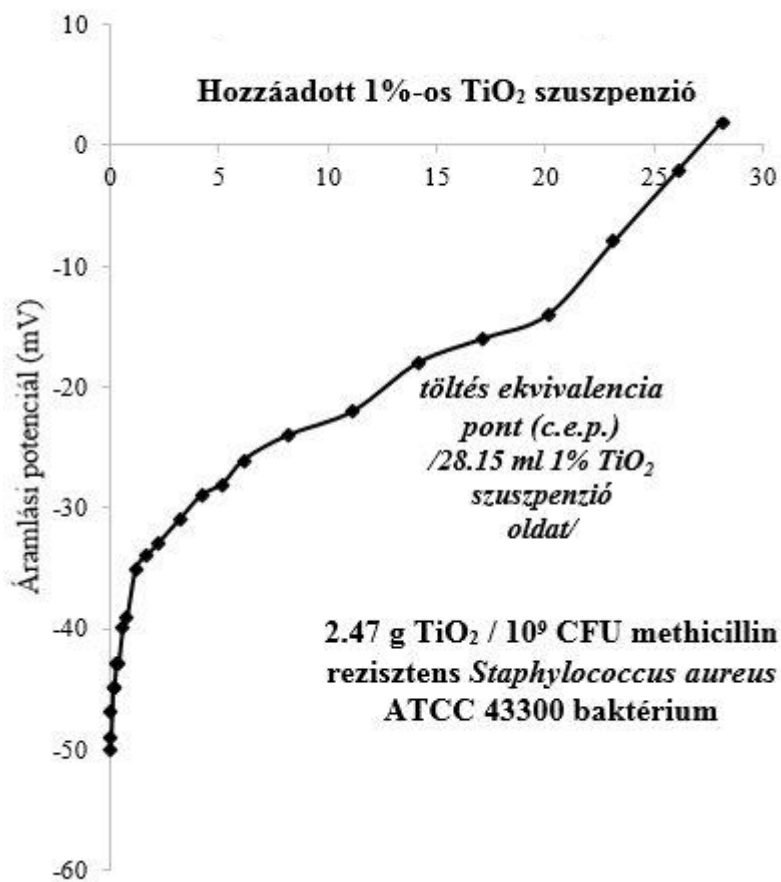
A mérési adatokból látható, hogy *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium esetében az értékek alapján 0,65 g TiO₂ részecskét képes megkötni a fent említett baktérium mennyiség. A *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium esetében a töltéstitrálás során mért értékek a **35. ábrán** láthatók.

10 ml $1,09 \times 10^7$ CFU/ml *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28753
baktérium szuszpenzió titrálása 1%-os TiO₂ szuszpenzióval szemben



35. ábra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium töltéstitrálása 1%-os TiO₂-vizes szuszpenzióval; 10 ml $1,09 \times 10^7$ CFU/ml *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium szuszpenzió titrálása 1%-os TiO₂ szuszpenzióval szemben

Az eredmények alapján látható, hogy a két Gram-negatív baktérium között a negatívabb töltésű *Pseudomonas aeruginosa* baktérium tudta a nagyobb mennyiségű TiO₂ részecskét megkötni a felszínen ($2,02 \text{ g TiO}_2/10^9 \text{ CFU}$). A töltéstitrálást során Gram-pozitív methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktérium esetében is elvégeztük 1 %-os TiO₂-al szemben. A mérések során mért eredmények a **36. ábrán** láthatók.



36. ábra Methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktérium töltéstitrálása 1 %-os TiO₂-vizes szuszpenzióval; 10 ml $1,09 \times 10^7$ CFU/ml methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktérium szuszpenzió titrálása 1 %-os TiO₂ szuszpenzióval szemben

Az eredményekből látható, hogy a két vizsgált Gram-negatív baktérium esetében *Escherichia coli* ATCC 29522 0,65g, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 2,02g TiO₂ részecskét kötöttek meg a felszínen, míg a Gram-pozitív methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 2,47g TiO₂ részecskét volt képes megkötni a felszínén. Az eredmények tükrében megállapítottam, hogy állandó pH érték mellett (pH = 4,5) a negatív töltésű baktériumok és a pozitív töltésű TiO₂ részecskék között elektrosztatikus kölcsönhatás lép fel, a Gram-negatív baktériumok esetében ez a kölcsönhatás gyengébb, mivel a felszínen lévő poliszacharid láncokban elhelyezkedő karboxilcsoportok a sejtfal

felszínén gyengébb negatív töltést hoznak létre, mint a Gram-pozitív baktérium esetében jelen lévő teikolsavak.

Az eredmények nem mutatnak egyezést a baktériumok fajlagos felületi töltésméréseinek eredményeivel, ahol az meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktérium rendelkezett a legkevésbé negatív felületi töltéssel. Az eredmények alapján kijelenthetjük, hogy az elektrosztatikus kölcsönhatás jelentős, de nem egyedülálló szerepet tölt be a baktériumok és a fotokatalizátorok között vonzás kialakításában. Elsősorban az meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében számolhatunk olyan adhéziós/aggregációs felületi TiO₂ felhalmozódással, ami az meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 sejtfa specifikus szerkezetével magyarázható. Az eredmények összesítése az **5. táblázatban** látható.

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

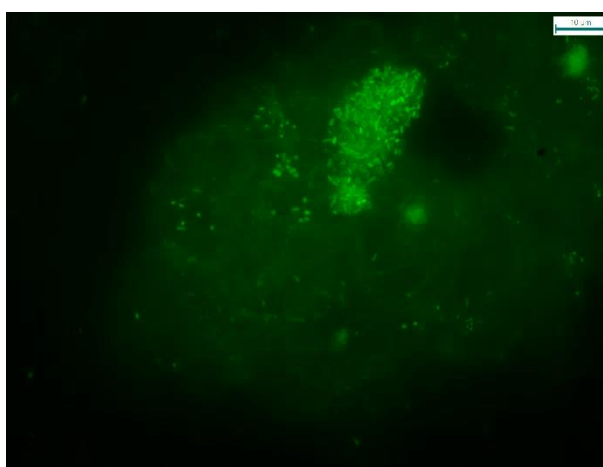
Baktérium (10 ⁹ CFU)	HDPCI	TiO ₂
	μeq/10 ⁹ CFU	g TiO ₂ / CFU
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522	-1,33	0,65
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-3,19	2,02
meticcillin rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	-0,89	2,47

5.6.2. Baktériumok életképességének vizsgálata a reaktív nanokompozitok felületén

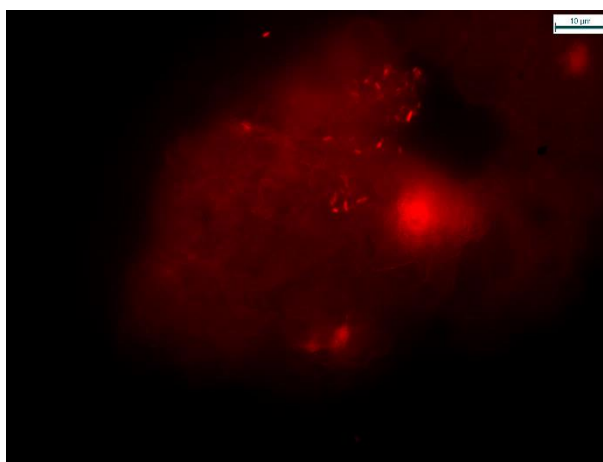
A vizsgálatokat a jól láthatóság érdekében *Escherichia coli* ATCC 29522 és *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktériumok esetében végeztem el a korábban leghatékonyabb fotokatalitikus hatásfokot és mechanikai stabilitást mutató Plextol/Ag-TiO₂ nanokompozit filmek esetében. Meticcillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében a mikroszkópos vizsgálatok sikertelennek bizonyultak a fénymikroszkóp felbontása és a baktériumok kis mérete miatt. A sejtfa szerkezetének változásait a vizsgálat kezdetekor (0

perc) és 120 perc bevilágítási idő után figyeltem meg. *Pseudomonas aeruginosa* esetében a vizsgálat kezdetekor élő, ép membránnal rendelkező baktériumok láthatók szorosan az Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve (**37. ábra**).

A piros emisszióhoz tartozó N 2.1 szűrőn keresztül is megvizsgáltam a baktériumok emissziós intenzitását, sokkal kevesebb számban jelentek meg a fotokatalizátor aggregátumok felszínén a sérült membránnal rendelkező baktériumok, ami viszont azt is jelenti, hogy néhány baktérium esetében a külső membrán réteg degradációja már az fotokatalízis első néhány percében elkezdődik (**38. ábra**).

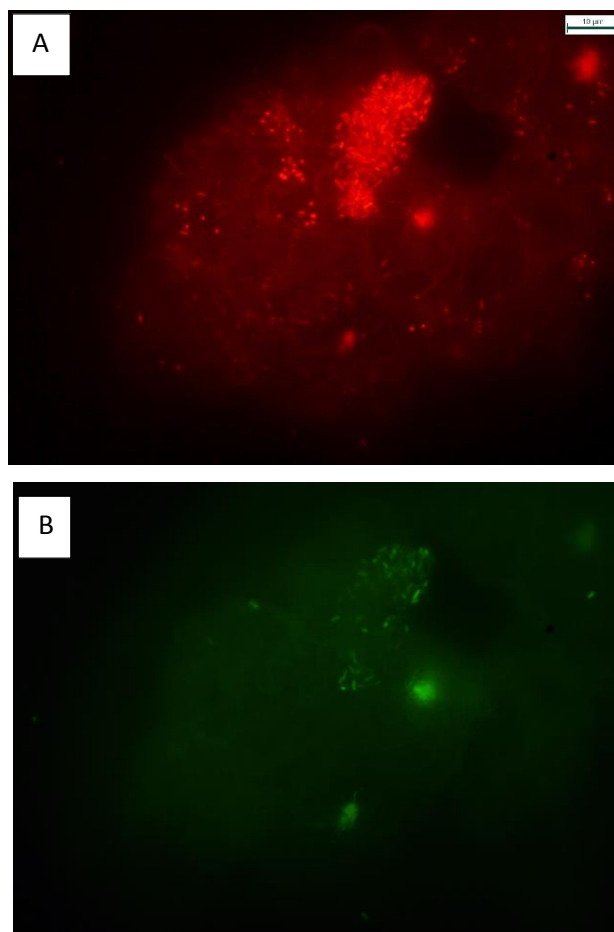


37. ábra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat kezdetekor (0 perc) LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; szűrő: L5)



38. ábra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat kezdetekor (0 perc) LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; szűrő:N2.1)

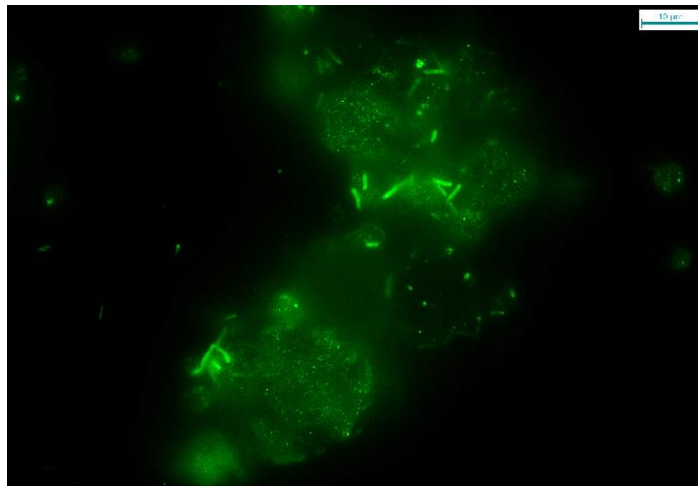
A vizsgálat kezdetéhez képest 120 perc bevilágítási idő után a fotokatalizátorok felszínén adszorbeálódott baktériumok megkötötték a Propidium jodid festéket, ami a SYTO 9 fluoreszcens festék emissziójának csökkenéséhez vezetett (**39. B ábra**), ezáltal a mikroszkópos felvételen 120 perces bevilágítást követően pirosan világító (650 nm-750 nm) baktériumsejtek láthatók az Ag-TiO₂ fotokatalizátor részecskék által alkotott aggregátumok felszínén (**39. A ábra**).



39. ábra Élő és elpusztult *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor részecskék alkotta aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat megkezdése után 120 perccel LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; A: szűrő: N2.1 (elpusztult); B: L5 (élő))

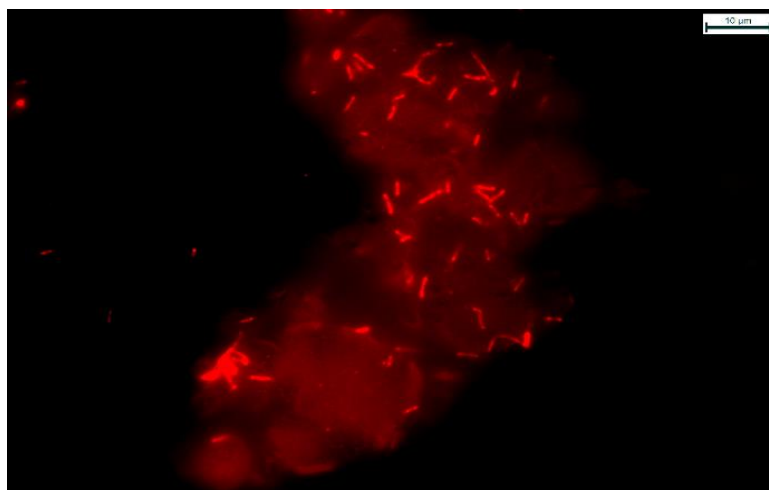
Az eredményekből látható, hogy a baktériumok már a vizsgálat elején szorosan a fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődnek és a fotokatalizátor környéki területeken nem láthatók baktériumok (**40. ábra**). Ezek az eredmények egyezést mutatnak a töltésviszonyok vizsgálatakor megállapított értékekkel (**5. táblázat**), miszerint a Gram-negatív baktériumok közül a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 jobban kötődött a TiO₂

fotokatalizátorokhoz. *Escherichia coli* ATCC 29522 esetében szintén zöld fény tartományban emittáló, azaz ép membránnal rendelkező baktériumokat láthatunk az Ag-TiO₂ aggregátumok felszínén a vizsgálat kezdetekor (**40. ábra**).



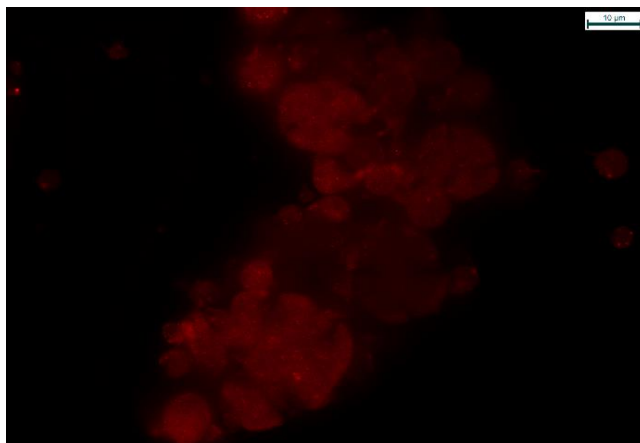
40. ábra *Escherichia coli* ATCC 29522 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat megkezdésekor (0.perc) LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; szűrő:L5)

Két órán át végzett bevilágítást követően az ép membránnal rendelkező, azaz zöld fénnel emittáló baktériumok száma lecsökken és a vörös fénnel emittáló, tehát sérült membránnal rendelkező baktériumok száma megnőtt (**41. ábra**).



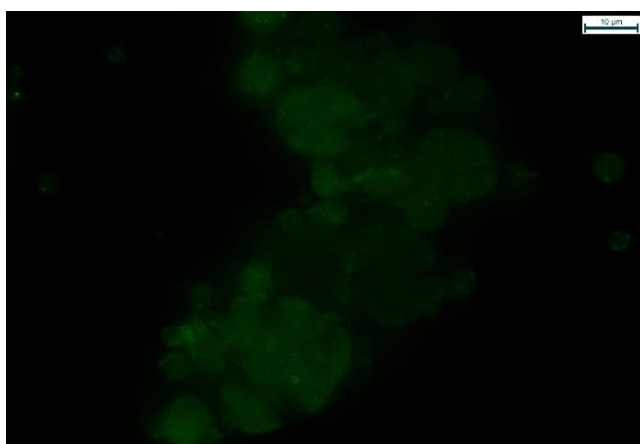
41. ábra *Escherichia coli* ATCC 29522 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat 120. percében LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; szűrő:N2.1)

A vizsgálat 0. percében *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium esetében nem láthatók sérült membránnal rendelkező baktériumok, ami egyezést mutat a szabvány szerint elvégzett vizsgálatok eredményeivel és a töltéstitrálások eredményeivel is, miszerint a vizsgált Gram-negatív baktériumok közül az *Escherichia coli* ATCC 29522 ellenállóbb volt Ag-TiO₂ fotokatalizátorral szemben, míg *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 fokozottabb érzékenységet mutatott [124].



42. ábra *Escherichia coli* ATCC 29522 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat megkezdésekor (0.perc) LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; szűrő:N2.1, elpusztult baktériumok)

A vizsgálat 120. percében a fotokatalizátor aggregátumok felszínén jól láthatók a sérült membránnal rendelkező vörös fényt emittáló baktériumok, viszont az ép membránnal rendelkező baktériumok száma a detektálhatósági szint alá csökkent.

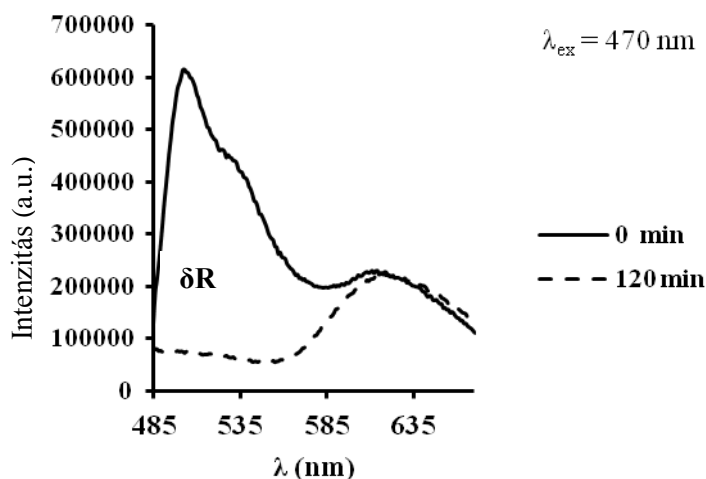


43. ábra *Escherichia coli* ATCC 29522 baktériumok Ag-TiO₂ fotokatalizátor aggregátumok felszínére kötődve a vizsgálat 120.percében LEICA DM IL LED FLUO fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálva (skála: 10 mikron; szűrő:L5, élő baktériumok)

Számos vizsgálatot elvégeztem annak igazolására, hogy a SYTO 9 fluoreszcens festék mely gerjesztési hullámhossz esetében mutat optimális emissziót és kiderült, hogy minden esetben 470 nm esetében volt optimális a gerjesztés a specifikációban leírt 495 nm gerjesztés helyett. Az emissziós csúcsokat 500 nm-nél olvastam le SYTO 9 esetében és 610 nm-nél propidium jodid esetében. Az antibakteriális hatásfokot a következő egyenlet alapján számoltam:

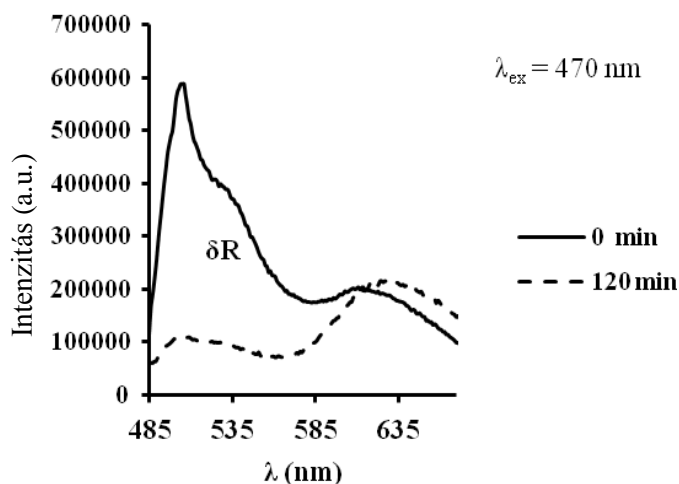
$$R\% = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100 \quad \text{Egyenlet (7)}$$

A fluoreszcens emisszió intenzitását 500 - 520 nm hullámhossznál olvastam le a vizsgálat kezdetekor (I_0) és a 120. percben vett minták fluoreszcens emissziós intenzitásához (I) viszonyítottam minden esetben. Minden esetben az élő baktériumokhoz tartozó emissziós csúcs intenzitáscsökkenésének százalékos eredményeit számoltam. Az antibakteriális hatásfok *Escherichia coli* ATCC 29522 esetében 81,36 %-nak adódott (**44. ábra**).



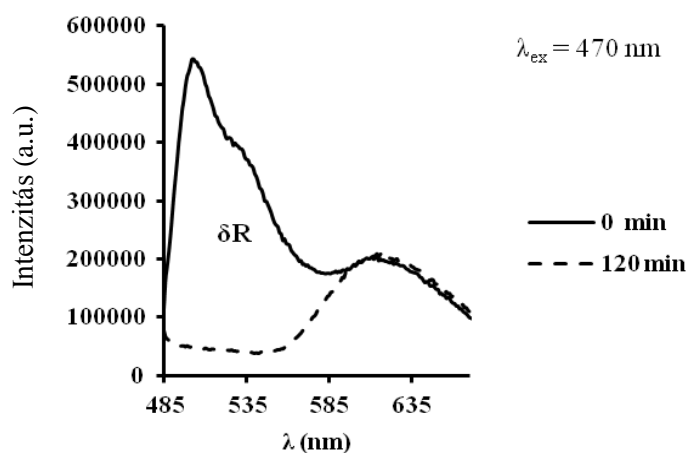
44. ábra Baclight fluoreszcens festék kittel jelölt élő és elpusztult *Escherichia coli* ATCC 29522 baktériumok emissziós spektrumai

Az emissziós spektrumokból látható, hogy a vizsgálat megkezdése előtt az ép sejtfalat jelölő SYTO 9 fluoreszcens festék emissziós csúcsára jellemző spektrumot kaptam. A vizsgálat későbbi szakaszában a fotokatalízis által létrejött sejtfal degradáció során a propidium jodid festék bejut a sejtfal mélyebb rétegeibe és ott a SYTO 9 festék emisszióját jelentősen csökkenti.



45. ábra Baclight fluoreszcens festék kittel jelölt élő és elpusztult *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktériumok emissziós spektrumai

Hasonló eredményeket kaptunk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 esetében 85,65% (45. ábra) és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében 89,5% (46. ábra), amely megegyezik a szabvány szerint végzett vizsgálatok eredményeivel, miszerint gerjesztett Ag-TiO₂/polimer nanokompozit filmekre legérzékenyebb és adhéziós vizsgálatok során a legtöbb TiO₂ részecskét megkötni képes baktérium a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 volt.



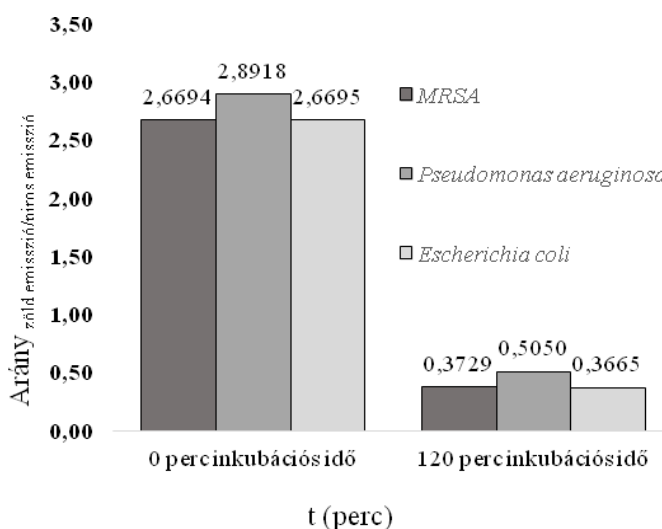
46. ábra Baclight fluoreszcens festék kittel jelölt élő és elpusztult methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktériumok emissziós spektrumai

A százalékos arányban mért antibakteriális hatások jelen esetben a baktériumok külső membránjának degradációját jelenti mindhárom vizsgált baktériumfaj esetében, mivel a fluoreszcenciás festék esetében, amely az ép membránhoz kapcsolódik, azonnal emissziós intenzitáscsökkenés következik be, ha azon a legkisebb sérülés is bekövetkezik, tehát szigorúan véve ennél a vizsgálatsorozathoz csak külső membrán degradációról és nem antibakteriális hatásokról beszélünk.

Az fluorimetriás eredményeket a fluoreszcens festék kit által megadott egyenlet alapján is számoltam:

$$\text{Arány} \frac{z}{p} = \frac{F_{\text{cell1, em1}}}{F_{\text{cell2, em2}}} \quad \text{Egyenlet (8)}$$

, ahol a Z/P alatt a zöld emisszióban illetve a piros emisszióban emittáló fényintenzitást értjük. $F_{\text{cell1, em1}}$ a zöld tartományban mért emissziós intenzitás, $F_{\text{cell2, em2}}$ pedig a piros fény tartományban mért emissziós intenzitás mértéke. A számolt értékeket a **47. ábra** szemlélteti:

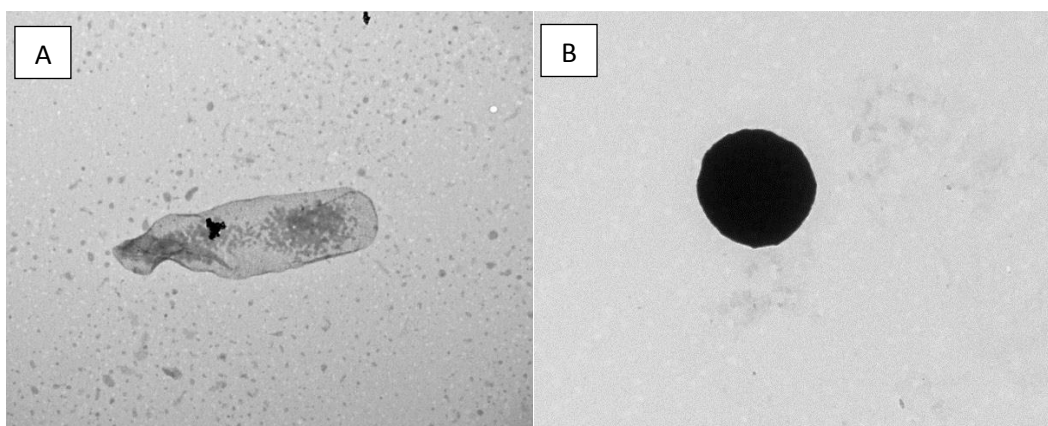


47. ábra A reaktív nanokompozit filmekben degradált és élő baktériumok által emittál fényintenzitások aránya

A számolt értékek azt mutatják, hogy a SYTO9 festékkomponens emissziós intenzitása mennyiben változott 120 perc alatt az Ag-TiO₂/polimer hibrid nanokompozit hatására, tehát a teljesen ép sejtfallal rendelkező baktériumok hány százaléka sérült 120 perc alatt a fotokatalitikus folyamatok hatására.

5.7. Ag-TiO₂ fotokatalizátor hatása a bakteriális sejtfalból izolált peptidoglikánra

A fotokatalizátorok baktériumokra gyakorolt destruktív hatását a bakteriális sejtfalat alkotó és a sejtfal stabilitásáért jelentős mértékben felelős peptidoglikán (murein) réteg esetében is tanulmányoztam. A bakteriális sejtfalkomponens szerkezetét és Ag-TiO₂ fotokatalizátor hatására bekövetkező degradációját transzmissziós elektronmikroszkópos felvételekkel mutattam be 60 és 120 perc bevilágítás után, 13500 x nagyítás mellett. A **48. A ábrán** az *Escherichia coli* DH5 α baktérium sejtfalból általunk izolált peptidoglikán réteg, más néven sacculus látható. A **48. B ábrán** a *Staphylococcus aureus* peptidoglikán réteg (Sigma-Aldrich, Hungary) látható. A felvételek jól szemléltetik, hogy a Gram-negatív *Escherichia coli* izolált sejtfalkomponense egy vékonyrétegű struktúra, mivel a Gram-negatív sejtfalra egy komplexebb, viszont vékonyabb peptidoglikán réteg jellemző. Ezzel ellentétben a Gram-pozitív *Staphylococcus aureus* esetében a peptidoglikán vastagabb, erőteljesebb struktúra, ezáltal sokkal sötétebb képet mutat az elektronmikroszkópos felvételen.

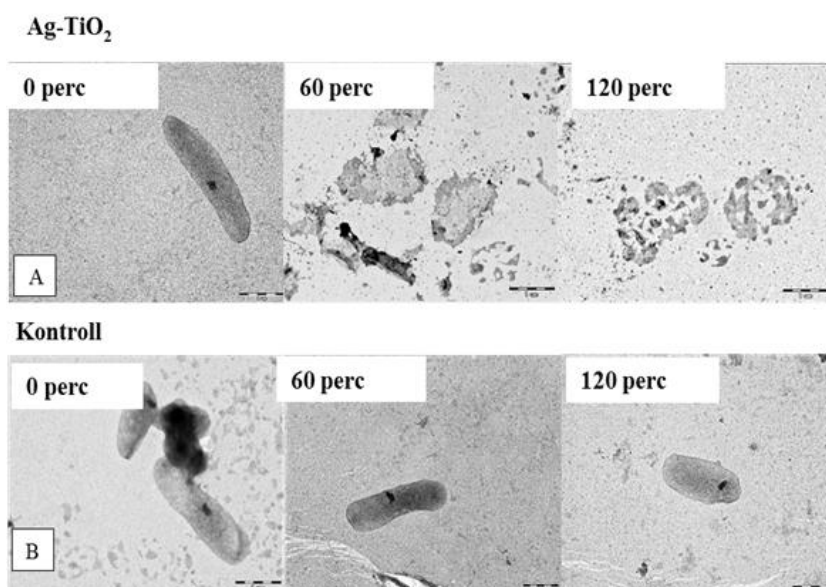


48. ábra *Escherichia coli* sacculus: (A); és *Staphylococcus aureus* sacculus: (B) transzmissziós elektronmikroszkópos képe

A mérések során az Ag-TiO₂ fotokatalizátor hatását vizsgáltam a baktérium sejtfalból izolált peptidoglikán rétegre minden esetben. Az Ag-TiO₂ fotokatalizátorban az ezüst tartalom 0,5 % volt a TiO₂ fotokatalizátor tartalomhoz képest.

A vizsgálatok során párhuzamos mérést is végeztem egy olyan szuszpenzió esetében, ahol a szuszpenzió fotokatalizátort nem tartalmazott, így bizonyítható, hogy a fényforrás nincs hatással 120 perc alatt a sacculusok szerkezetére. Az Ag-TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatásának vizsgálata során a fotokatalizátort és sacculusokat tartalmazó szuszpenziót LED-

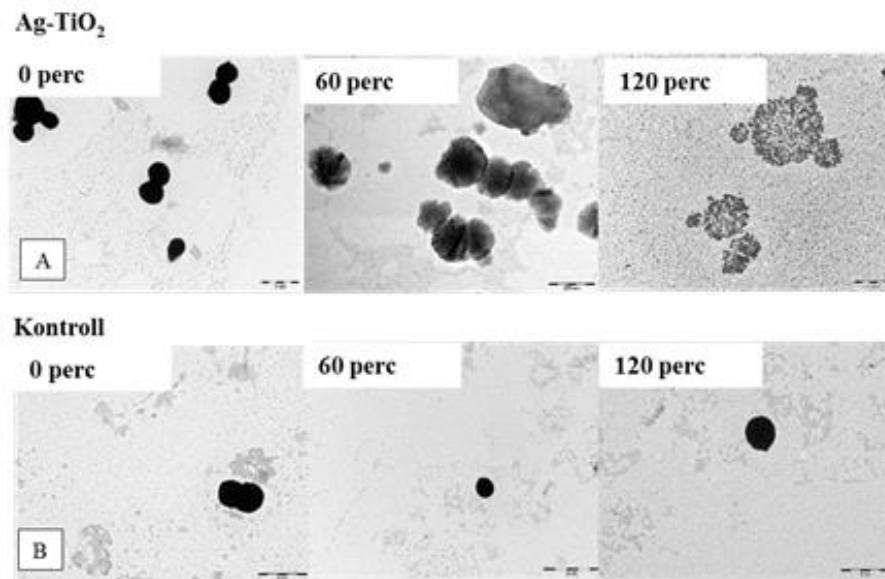
fényforrással ($\lambda = 405 \text{ nm}$) világítottam meg 0, 60 és 120 percig. A fényforrás teljesítménye $0,4 \text{ mW/cm}^2$ volt. A bevilágított Ag-TiO₂-t és sacculus-t 1:1 arányban tartalmazó szuszpenziókat a vizsgálatok után merítéses módszerrel egylyukas gridekre helyeztem, és transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltam (Philips CM 10). A sacculusok degradációja Ag-TiO₂ fotokatalizátor hatására a **49. és 50. ábrán** látható.



49. ábra *Escherichia coli* izolált peptidoglikán szerkezetváltozásai **A:** Ag-TiO₂ nanokompozit hatására **B:** fotokatalizátor nélkül különböző bevilágítási idő alatt (0,60,120 perc)

A bevilágított Ag-TiO₂ fotokatalizátor Gram-negatív *Escherichia coli* DH5 α baktériumok esetében jelentős degradációt mutatott a peptidoglikán rétegekre már a bevilágítás 60. percében (**49. A ábra**). Az Ag-TiO₂ fotokatalizátor 120 perces bevilágítása után az *Escherichia coli* DH5 α sacculusok teljes degradációt mutattak.

A bevilágított Ag-TiO₂ fotokatalizátor Gram-pozitív *Staphylococcus aureus* baktériumok esetében degradáció jeleit mutatta a peptidoglikán rétegekre már a bevilágítás 60. percében (**50. A. ábra**). Az Ag-TiO₂ fotokatalizátor 120 perces bevilágítása után a vizsgált szuszpenzióban a *Staphylococcus aureus* sacculusok esetében teljes degradáció figyelhető meg.



50. ábra *Staphylococcus aureus* izolált peptidoglikán szerkezetváltozásai **A:** Ag-TiO₂ nanokompozit hatására **B:** fotokatalizátor nélkül különböző bevilágítási idő alatt (0,60,120 perc)

A vizsgálatok során a sacculusokat Ag-TiO₂ fotokatalizátorral történő kezelés nélkül is megvizsgáltam annak érdekében, hogy a fényforrás hatását kizárjuk, mivel a fényforrás emissziós spektruma UV-közeli tartományban emittál. A vizsgálatok egyértelműen igazolták, hogy a fényforrás semmilyen degradáló hatást nem okozott adott körülmények között *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* sacculusok esetében sem (**49. B ábra**, **50. B ábra**). A sacculusok esetében bekövetkező szerkezeti változás a korábban leírt, a bevilágítás hatására, a fotokatalizátor részecskék felületén bekövetkező szabadgyök képződés eredménye, amely a megfelelő hullámhosszúságú fény hatására következik be. A szabadgyökök a sacculusok felületével érintkezve degradációt okoznak rövid időn belül. A képződő szabadgyökök igen nagy reakcióképességű, de rövid életű molekulák, melyek stabilizálódásához egy másik elektron szükséges. Ezt a szabad kapacitást a sejt felületén lévő molekulákból veszik fel, és ezáltal a sejtfa jelentős degradációt mutat. A fotokatalizátorok felületén lezajló szabadgyök koncentráció változás a folyamatos bevilágítás hatására telítési görbét mutat, ezáltal a szerkezeti degradáció is folyamatos az idő múlásával.

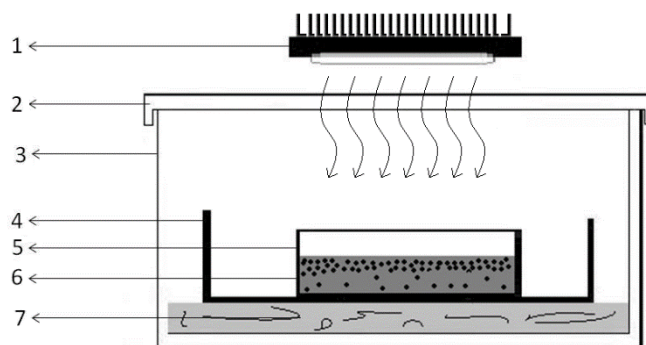
5.8. Reaktív nanokompozitok antibakteriális hatása

A fotooxidációs bontások során kiderült, hogy a TiO₂ tartalmú minták esetében a legjobb hatásfokot a 0.5 %-os ezüst tartalommal értem el, míg a ZnO tartalmú minták esetében a 0,25 %-os ezüst tartalom esetében mértem a legnagyobb intenzitású etanol gőz bontást egységnyi idő alatt (30 perc) látható fényel történő bevilágítás mellett ($\lambda > 400$ nm) (**24. A és B ábra**). A mikrobiológiai méréseket a fenti szempontok miatt csak 0,5 %-os ezüst tartalom mellett végeztük el TiO₂ tartalmú filmek esetében és 0,25 %-os ezüst tartalom mellett ZnO tartalmú filmek esetében.

A Plextol alapú, Ag- TiO₂, TiO₂, ZnO és Ag-ZnO fotokatalizátor tartalmú kompozit filmek mikrobiológiai vizsgálata során Gram-pozitív methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. A baktériumok túlélésének mérését a reaktív nanokompozit filmeknél állandó bevilágítás, illetve sötét körülmények között végeztem el. A mérések során számolt telepszámot az kiindulási, rétegen lévő telepszámhoz (0. perc) viszonyítva kalkuláltam, az eredeti csíraszámra visszavonatköztatva, ami minden nanokompozit rétegen 1×10^5 - 5×10^5 CFU/ml volt rétegenként, azaz fajlagos fertőzött felület $1,6 \times 10^4$ - 8×10^4 CFU/cm² volt. Fényforrásként az **13. A. ábrán** bemutatott 405 nm-es hullámhosszúságú fényt emittáló LED-fényforrást alkalmaztam.

A mikrobiológiai mérések során az MSZ EN ISO 27447:2009 nemzetközi szabvány [125] módosított változatát alkalmaztam. A nanokompozit filmek mikrobiológiai vizsgálatok során történő elhelyezkedésének sematikus ábrája az **51. ábrán** látható. A csíraszám értékek esetében minden esetben a kiindulási (R₀) csíraszám érték és a különböző időponthoz rendelt csíraszám értékek hányadosát adtam meg eredményként: R/R₀ (%).

$$R\% = 100 - \left(\frac{R}{R_0} \right) \times 100 \quad \text{Egyenlet (9)}$$

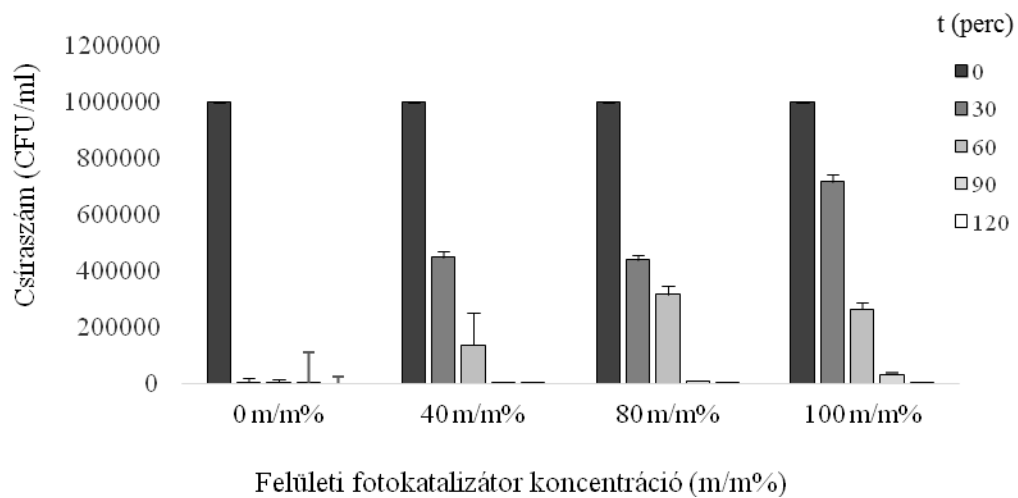


51. ábra Az antibakteriális tesztek során használt kísérleti elrendezés sematikus ábrája (1: fényforrás; 2: üveglap; 3: üveg tároló edény; 4: Petri-csésze; 5: baktérium szuszpenzió; 6: fotokatalizátor/polimer nanokompozit film; 7: steril desztillált vízzel megnedvesített vatta

A különböző fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek antibakteriális hatásának vizsgálata során a filmek elhelyezése speciális elrendezést igényelt. A nanokompozit filmeket egy Petri csészébe helyeztük, amit egy üvegedényben tartottunk lefedve annak érdekében, hogy a baktérium szuszpenzió a többórás vizsgálatok ideje alatt ne száradjon ki. A mikrobiológiai vizsgálatokat annak meghatározásával kezdtem, mennyire befolyásolja az fotokatalizátor/polimer arány a kompozit filmek antibakteriális hatásfokát. A filmek fotokatalizátor tartalma jelen esetben 0 és 80% között változott, ami 0 - 1,25mg/cm² felületi fotokatalizátor tartalmat jelent minden esetben.

5.8.1. Hidrofób rögzítő anyagba ágyazott fotokatalizátorok antibakteriális hatása

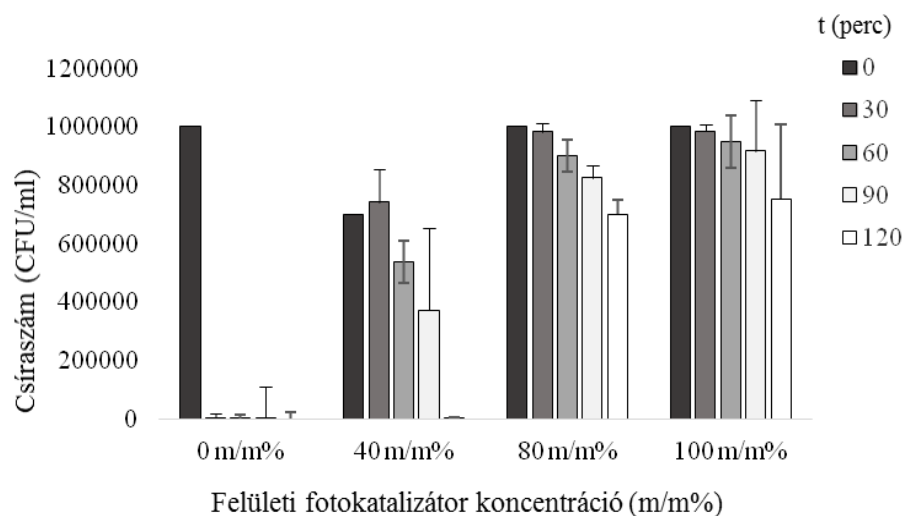
A hidrofób Epoxi gyanta rögzítő anyaggal képzett, különböző fotokatalizátor tartalmú kompozit filmek antibakteriális hatásának mérése során methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC43300 baktériumra kapott eredményeket az **52-59. ábrán** tüntettem fel. A mért értékek számszerűsítése csíraszám- meghatározással történt úgy, hogy a baktérium telepeket számoltam és a kiértékelés során a mintán lévő eredeti csíraszámot számoltam. A rétegek antibakteriális hatását a fotokatalizátor tartalom és az idő függvényében vizsgáltam.



52. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban **bevilágított** TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Epoxi gyanta rögzítő anyagba ágyazott TiO₂ tartalmú fotokatalizátorok esetében megfigyelhető, hogy az idő múlásával a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 csíraszáma jelentős mértékben csökkent mindegyik felületi fotokatalizátor tartalom esetében (**52. ábra**). A polimer/fotokatalizátor nanokompozit filmek a baktériumok kiindulási koncentrációjának 99,9 %-a elpusztult a 90 - 120. percben 40 - 100 m/m%-os felületi fotokatalizátor koncentráció mellett. A fotokatalizátor tartalom emelkedésével viszont a rétegek antibakteriális hatékonysága nem nő, hanem csökken, ami a polimer réteg toxikusságának, illetve a fotokatalizátor részecskék nagymértékű, polimer által történő lefedettségének köszönhető.

Az antibakteriális hatás a fotokatalizátor tartalom emelkedésével csökkent, aminek oka a polimer réteg jelentős toxikus hatása a baktériumokra, amit nanokompozit rétegben a növekvő fotokatalizátor réteg egyre jobban lefed a koncentráció függvényében. A mérések eredményeiként elmondható, hogy a fotokatalizátor tulajdonképpen „megvédi” a baktériumokat a fotokatalizátor rétegnél is toxikusabb polimer rétegtől.

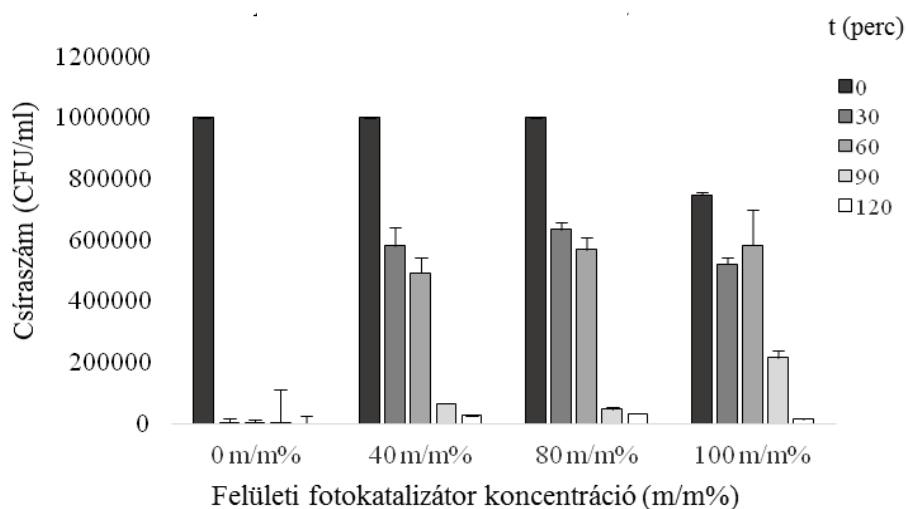


53. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban TiO₂ fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Abban az esetben, amikor a mérések során a fényforrást kizártam, tehát a fotokatalizátor rétegeket nem aktiváltuk a baktériumok csírszáma szintén lecsökkent 40 m/m% fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek esetében (**53. ábra**). Megállapítható, hogy a fotokatalizátort nem tartalmazó (tiszt) polimer film esetében a mért csírszám csökkenés már 30 perc alatt jelentős, még a fotokatalizátort is tartalmazó polimer filmekhez képest is. Az is látható, hogy a kompozit filmekre nagyon hasonló értékeket kaptam, de a polimer réteg jelentős toxikussága miatt a különböző fotokatalizátor tartalom eltérő antibakteriális foka nem mérhető. Ezt a tényt alátámasztja az is, hogy a fényforrás által nem aktivált rétegeken is jelentős csírszám csökkenést tapasztaltam (**53. ábra**).

Összegzésképpen elmondható, hogy a nanokompozit rétegek esetében a fotokatalizátorok antibakteriális hatása bizonyított a bevilágított és a sötétkontroll mérések eltérő eredményei miatt, viszont a mérései adatok nem adhatók meg, mint a fotokatalízis hatásának kvantitatív eredményei, mivel a mérések során a polimer réteg jelentős antibakteriális hatása is bebizonyosodott.

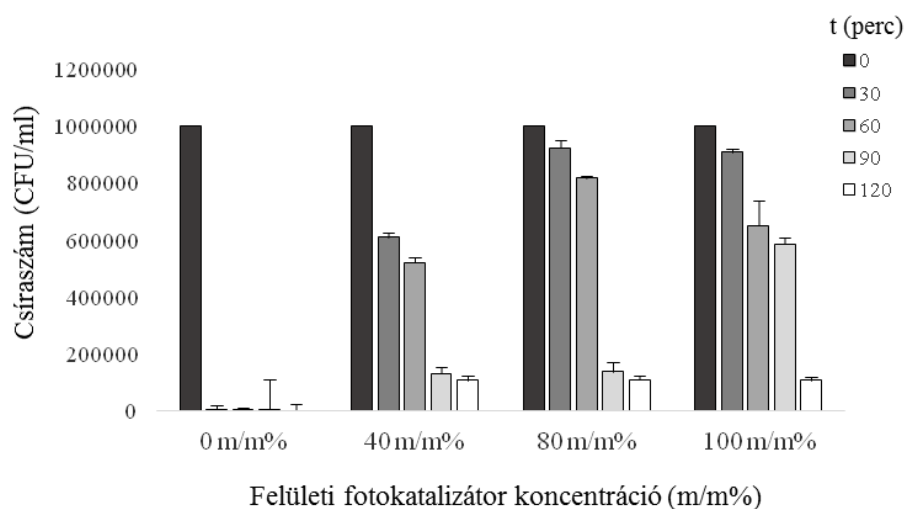
Ezüsttel funkcionizált TiO₂ tartalmú nanokompozit rétegek esetében a mért adatok értékei az **54. ábrán** láthatók.



54. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban **bevilágított** Ag-TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Ezüsttel funkcionizált fotokatalizátor tartalmú reaktív hibrid rétegek esetében az antibakteriális hatások a fotokatalizátor tartalom emelkedésével jelentős mértékben nem változott bevilágított filmek esetében. A csíraszám minden koncentráció esetében a vizsgálat 90. és 120. percében jelentős mértékben, 71 - 93 %-al csökkent a kiindulási csíraszámhoz képest. A tiszta polimert tartalmazó rétegek esetében is 98 – 99 %-al csökkent a csíraszám a vizsgálat 90. és 120. percében a kiindulási csíraszámhoz képest (**54. ábra**). Ennek oka a korábban említett, Epoxi gyanta polimer esetében tapasztalt toxikus hatás, amely TiO₂ esetében csökkent a fotokatalizátor tartalom növekedésével, míg ebben az esetben a hatás nem változott még 80%-os felületi fotokatalizátor tartalom mellett sem. 100 %-os felületi fotokatalizátor tartalom esetén az antibakteriális hatás csökkent a TiO₂-ot tartalmazó rétegekhez hasonlóan, a 90. percen a többi fotokatalizátor koncentrációhoz képest (~94 %) a csíraszám csökkenés csak 71 %-os volt a kiindulási baktérium koncentrációhoz képest.

Az antibakteriális hatás ebben az esetben is a látható fény által aktivált Ag-TiO₂ által termelt szabadgyökök és a rögzítő anyag toxikus hatásának szinergikus hatásának köszönhető.

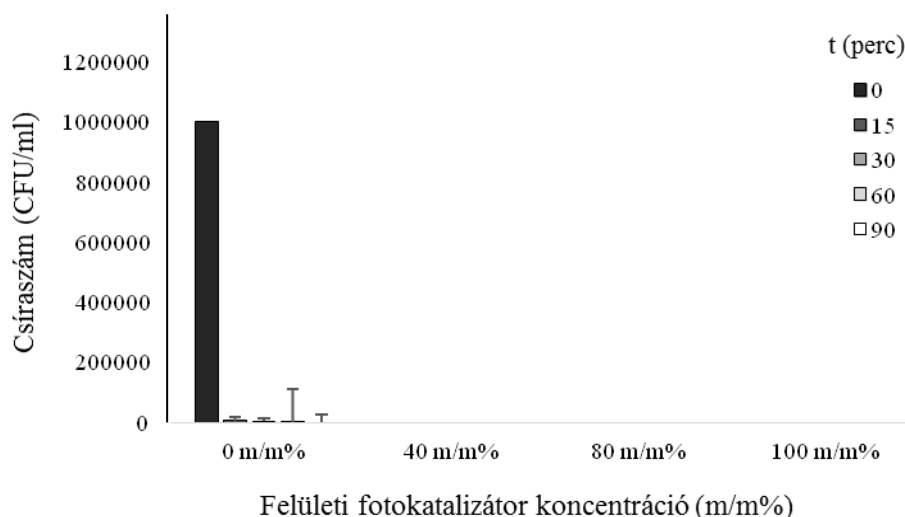


55. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban Ag-TiO₂ fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

A sötétben végzett kísérletek során hasonló értékeket mértem, az antibakteriális hatás az idő függvényében jelentősen csökkent (96 - 99 %) a kiindulási csírászámhoz képest, viszont a felületi fotokatalizátor koncentráció az antibakteriális hatást nem befolyásolta. 100 %-os felületi fotokatalizátor tartalom esetében ebben az esetben is csökkent a többi koncentrációhoz képest az antibakteriális hatás, ebben az esetben a kiindulási csírászám csak 41 %-al csökkent a többi koncentrációnál mért 86 %-os csökkenéshez képest. Összegzésképpen elmondható, hogy Ag-TiO₂ tartalmú nanokompozit filmek esetében is az antibakteriális hatásért nagymértékben a rögzítő anyag, és kisebb mértékben a fotokatalízis folyamata a felelős. A látható fény hatására aktivált fotokatalizátorok által termelt szabadgyökök csírászám csökkentő hatása is bizonyított a bevilágított és sötétben végzett mérések közötti különbségek következtében. Fontos megemlíteni, hogy a diffúz reflexiós mérések által igazolt látható fény abszorbancia és magasabb fotooxidációs hatékonyság ellenére a mikrobiológiai mérések tükrözték az előzőleg mért kémiai minősítések értékeit, miszerint a három vizsgált polimer rétegbe ágyazott TiO₂ fotooxidációs hatékonyság méréseinél az Epoxi gyanta eredményei voltak a legalacsonyabbak. A jelenség betudható az Ag-TiO₂ alkotta nanokompozit filmek polimer rögzítő anyagának toxikusságával, illetve azzal a ténnyel is, hogy az Ag-TiO₂ fotokatalizátor a polimer rétegben a hidrofobitása miatt

sokkal erőteljesebben hajlamos nagyobb kiterjedésű aggregátumok képzésére. Az így képződött aggregátumok megakadályozzák az alsóbb rétegekben található fotokatalizátorok szabadgyök termelését, továbbá gátolják a baktériumok polimer réteggel való érintkezését. A megemelt fotokatalizátor tartalom kevésbé antibakteriális hatása a fent leírtakkal igazolható.

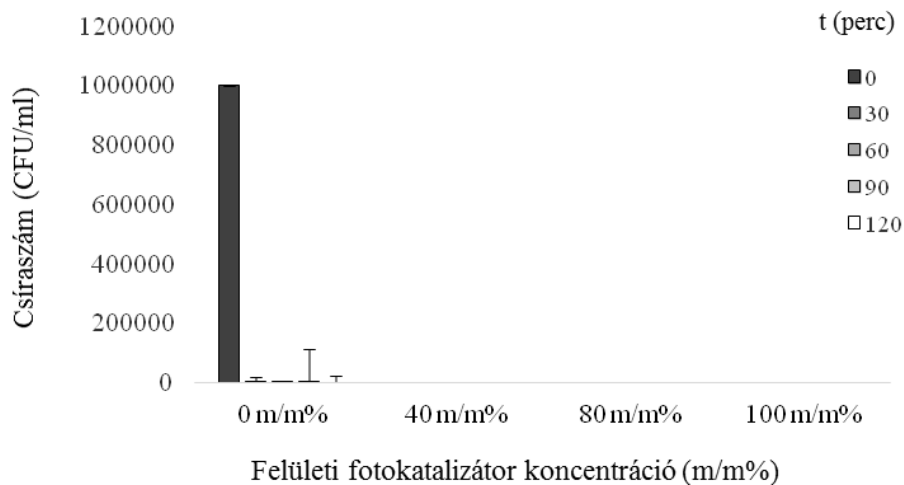
A ZnO fotokatalizátor tartalmú nanokompozit rétegek antibakteriális hatásának mérési adatai az **56. ábrán** láthatók.



56. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban **bevilágított** ZnO fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredmények adatai azt mutatták, hogy a tiszta polimert tartalmazó minták esetében már a 30. percben 100 %-os csíraszám csökkenés következett be a polimer toxikussága miatt. A különböző fotokatalizátor tartalmú filmek esetében már az első néhány másodperc alatt elpusztult a nanokompozit filmekre felvitt eredeti baktériumkoncentráció 100 %-a, ez a bevilágított minták esetében a polimer toxikusságának és a fotokatalizátorok által termelt szabadgyökök együttes hatásából adódott.

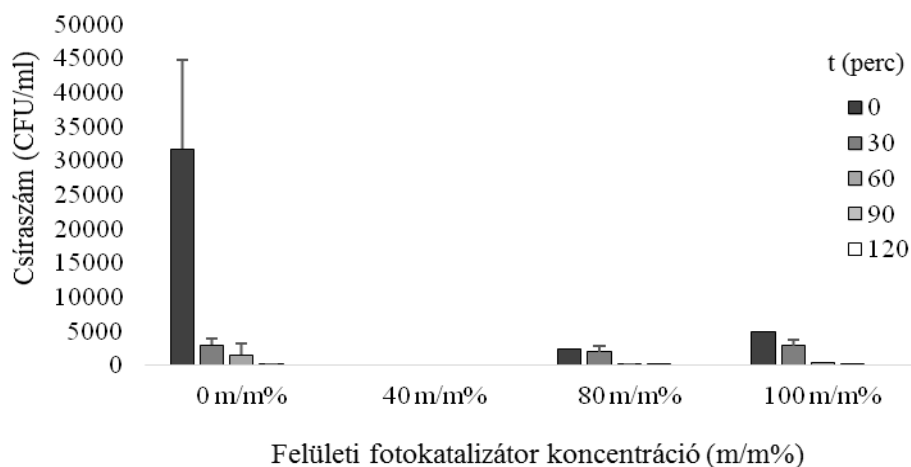
A ZnO fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek antibakteriális hatását sötétben is mértem különböző fotokatalizátor tartalom mellett, az eredmények az **56. ábrán** láthatók.



57. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban ZnO fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Epoxi gyanta rögzítő anyagban ZnO fotokatalizátor sötétben mért antibakteriális hatásának vizsgálati eredményei az **57. ábrán** láthatók. Az eredmények a bevilágított mérések eredményeivel nagyfokú egyezést mutatnak, ami azt bizonyítja, hogy a ZnO fotokatalizátor részecskék antibakteriális hatása Epoxi gyanta rögzítő anyagban kizárólag a polimer toxikusságának és a ZnO részecskék felszínéről disszociált Zn^{2+} (aq) ionok toxikusságának együttes, szinergikus hatásának köszönhető.

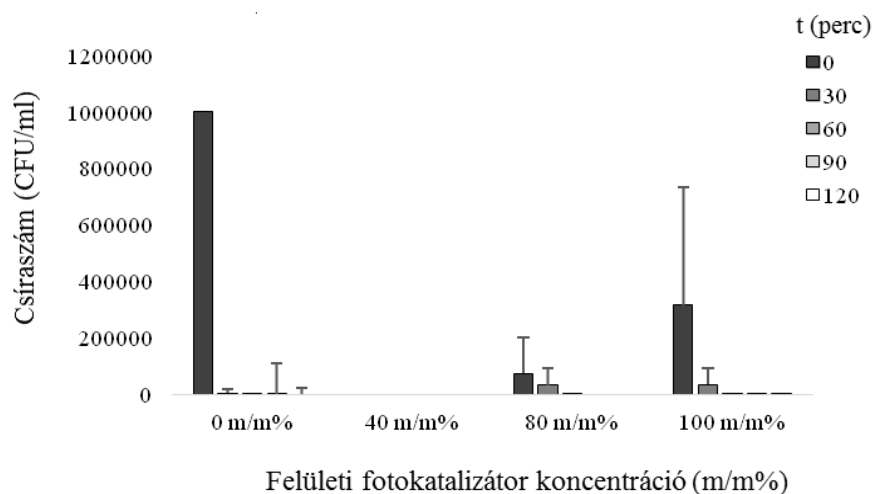
Az Ag-ZnO fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek antibakteriális hatásának mérése során mért eredmények a **58. ábrán** láthatók.



58. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban **bevilágított** Ag-ZnO fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredményekből látható, hogy az antibakteriális hatás az idő függvényében nő, viszont a fotokatalizátor koncentráció függvényében csökken, ami a korábban is említett toxikus polimer rögzítő anyag következménye. Az antibakteriális hatás Ag-ZnO tartalmú rétegek esetében kisebb mértékű, mint kiindulási ZnO tartalmú rétegek esetében. A fotokatalizátorok fajlagos tömege mindkét típusú nanokompozit film esetében egyező adott koncentrációk esetében, viszont Ag-ZnO fotokatalizátor esetében a ZnO fajlagos tömege logikusan kevesebb az ezüst jelenléte miatt, ami csökkenti a ZnO fotokatalizátorok felületéről disszociált toxikus Zn^{2+} (aq) ionok koncentrációját, ezért a toxikus hatás, tehát az antibakteriális hatás is kisebb mértékű Ag-ZnO esetében. A fent leírtakból következik, hogy az ZnO tartalmú nanokompozit filmek esetében kizárólag a ZnO és a rögzítő anyag szinergikus hatása miatt alakul ki az antibakteriális hatás.

A sötétben végzett mérések (**59. ábra**) a korábbi feltevést igazolják, miszerint a ZnO fotokatalizátor felületéről disszociált Zn^{2+} (aq) ionok okozzák az antibakteriális hatást a fotokatalízis folyamata helyett.

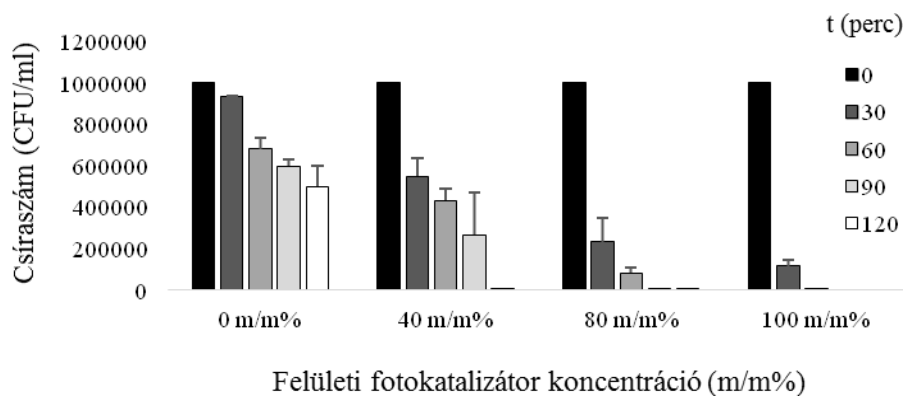


59. ábra Epoxi gyanta rögzítő anyagban ZnO fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Összegzésképpen kijelenthető, hogy hidrofób Epoxi gyanta rögzítő anyag alapú fotokatalizátor tartalmú filmek esetében a fotokatalízis kisebb mértékben felel az antibakteriális hatásért, mint a felületen lévő toxikus anyagok jelenléte.

5.8.2. Hidrofil rögzítő anyagba ágyazott fotokatalizátorok antibakteriális hatása

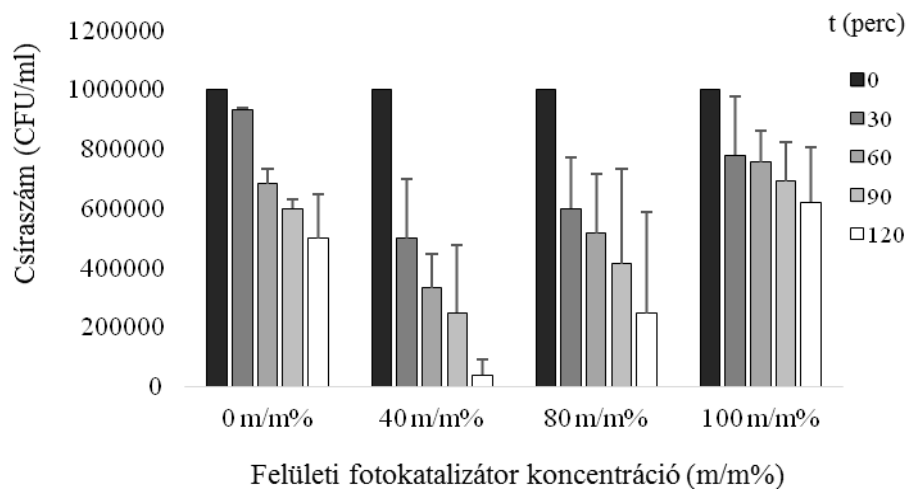
A polimer/fotokatalizátor nanokompozit filmek antibakteriális hatását hidrofil poliakrilát polimerek esetében is vizsgáltam, ezek közül a kereskedelmi forgalomban kapható Prolak és Plectol polimereket alkalmaztam a fotokatalizátorok rögzítő anyagaként. A hidrofil rögzítő anyagok esetében is TiO_2 , Ag- TiO_2 , ZnO és Ag-ZnO fotokatalizátorok antibakteriális hatását vizsgáltam az idő és a fotokatalizátor felületi koncentráció függvényében minden esetben. A mérések során a tesztbaktérium ebben az esetben is a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 volt. A bevilágított TiO_2 /Prolak nanokompozit rétegek antibakteriális hatásának mérési eredményei az **60. ábrán** láthatók.



60. ábra Prolak rögzítő anyagban **bevilágított** TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredményekből látható, hogy az antibakteriális hatás az idő függvényében és a korábbi – Epoxi gyantán történő – mérésekkel ellentétben a fotokatalizátor koncentráció emelkedés függvényében is arányosan változott. A bevilágítás 30. percében a tiszta polimert tartalmazó rétegek esetében a kiindulási csíraszám 6,67 %-a pusztult el, ez az érték 40 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett 45 %, 80 m/m% és 100 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett pedig már 76,67 % és 88,33 %-ra emelkedett. 80m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett a csíraszám csökkenés elérte a 90 %-ot 60 perc bevilágítási idő után, 100 m/m%-os fotokat. tartalom mellett pedig a 99,9 %-ot. A tiszta polimert tartalmazó rétegek esetében a 90. percben 40 %-os, a 120. percben pedig 93 %-os csíraszám csökkenést tapasztaltam annak ellenére, hogy a rétegeknek nincs fotokatalizátor tartalma, ez a polimer rétegek toxikusságára utal. A Prolak esetében itt nem tapasztaltam olyan mértékű csíraszám csökkenést a kontroll (tiszta polimert tartalmazó rétegek) esetében, mint a hidrofób Epoxi gyanta tartalmú fotokatalizátorok esetében.

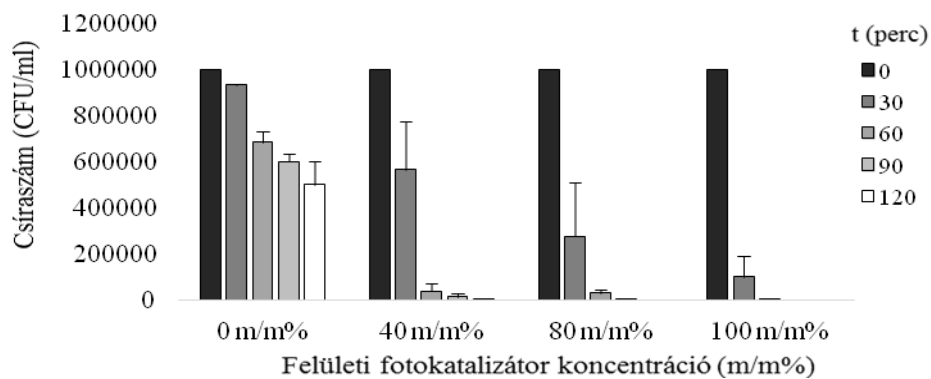
A rétegek antibakteriális hatásának méréseit sötétben is elvégeztem hidrofíl rögzítő anyag esetében is, az eredmények az **61. ábrán** láthatók.



61. ábra Prolak rögzítő anyagban TiO₂ fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredményekből látható, hogy bár a kontroll esetében is jelentkezik antibakteriális hatás, amely főként a 120. percben csúcsosodik, a fotokatalizátor tartalom növelésével ez a hatás egyre kisebb mértékű. Ebben az esetben a jelenség hasonló okokra vezethető vissza, mint Epoxi gyanta esetében miszerint a fotokatalizátor tartalom növekedése jelenleg nem a baktericid hatást növeli, hanem elfedi a baktériumok elől a toxikus hatással rendelkező polimer rögzítő anyagot.

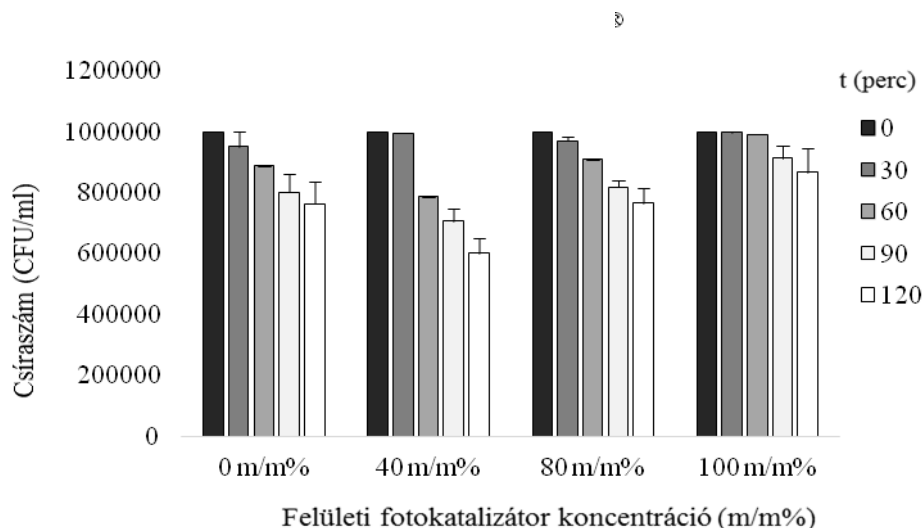
Az Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmekben mért antibakteriális hatás eredményei az **62. ábrán** láthatók.



62. ábra Prolak rögzítő anyagban **bevilágított** Ag-TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredményekből látható, hogy Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek esetében már jelentkezik a látható fény bevilágítás indukálta erőteljesebb fotooxidációs hatás a tiszta TiO₂ tartalmú nanokompozit filmekhez képest.

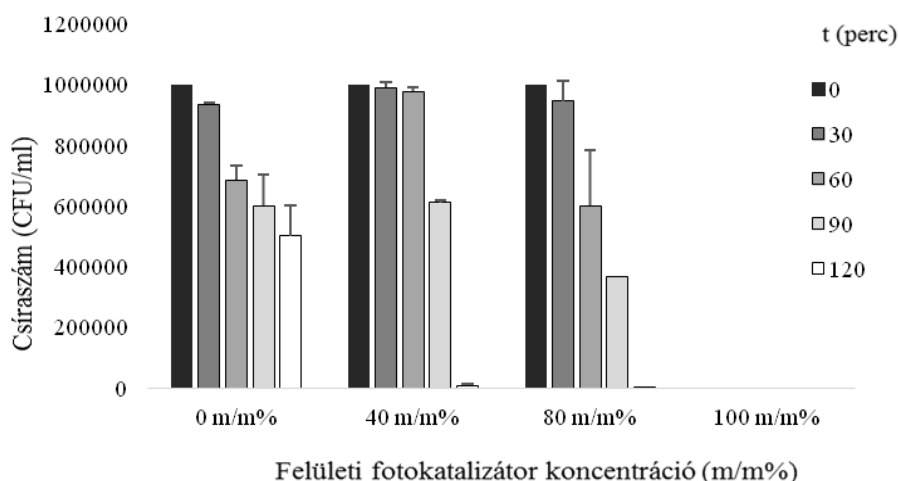
A sötétkontroll esetében mért eredmények az **63. ábrán** láthatók.



63. ábra Prolak rögzítő anyagban Ag-TiO₂ fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredményekből látható, hogy a sötétben mért antibakteriális hatás messze elmarad a bevilágított minták antibakteriális hatásától, ami a nem aktivált fotokatalizátorok és a korábbi rögzítő anyagnál kevésbé toxikus rögzítő anyag egyesített hatásából ered. Az antibakteriális hatás az idő múlásával egyre erőteljesebb minden fotokatalizátor koncentráció mellett, viszont itt is tapasztalható, hogy a koncentráció emelkedésével az antibakteriális hatás csökken, ami a korábban leírt fotokatalizátorok által lefedett polimer toxicitásából ered.

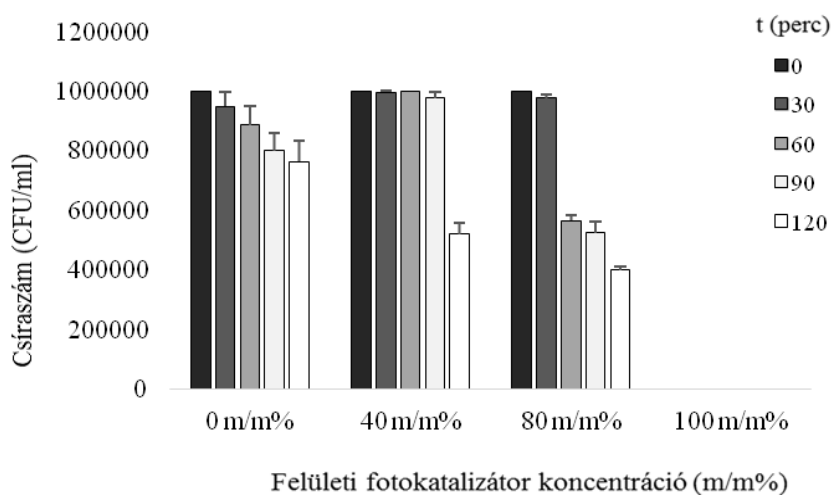
A ZnO fotokatalizátor tartalmú filmek eredményeit az **63. ábra** tartalmazza.



64. ábra Prolak rögzítő anyagban **bevilágított** ZnO fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredmények alapján elmondható, hogy az antibakteriális hatás az idő és a fotokatalizátor tartalom növekedésével ZnO fotokatalizátor alapú nanokompozit filmekben arányosan változik. Az eredményekből az is kitűnik, hogy a fotokatalizátor tartalmú filmek erőteljesebb antibakteriális hatással rendelkeznek a polimer rögzítő anyagnál a látható fénnel történő bevilágítás mellett. A 40 m/m%-os és 80 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett az antibakteriális hatás a 120 percben eléri a kiindulási baktériumkoncentrációhoz viszonyított 99 %-os csíraszám csökkenést. 100 m/m%-os (1,25 mg/cm²) fotokatalizátor tartalom mellett

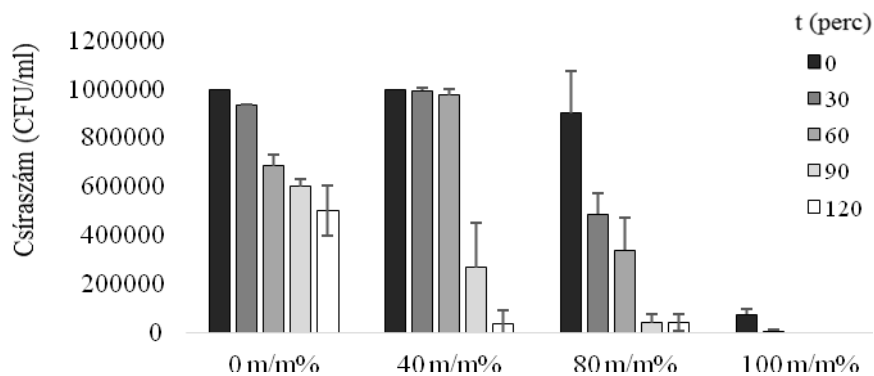
a rétegek antibakteriális hatása olyan erős, hogy ez a hatás már a mérés első néhány percében létrejön. Annak érdekében, hogy a ZnO tartalmú nanokompozit filmek toxicitását is igazoljam itt is elvégeztem a sötétkontroll méréseket is, az eredmények az **65. ábrán** láthatók.



65. ábra Prolak rögzítő anyagban ZnO fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

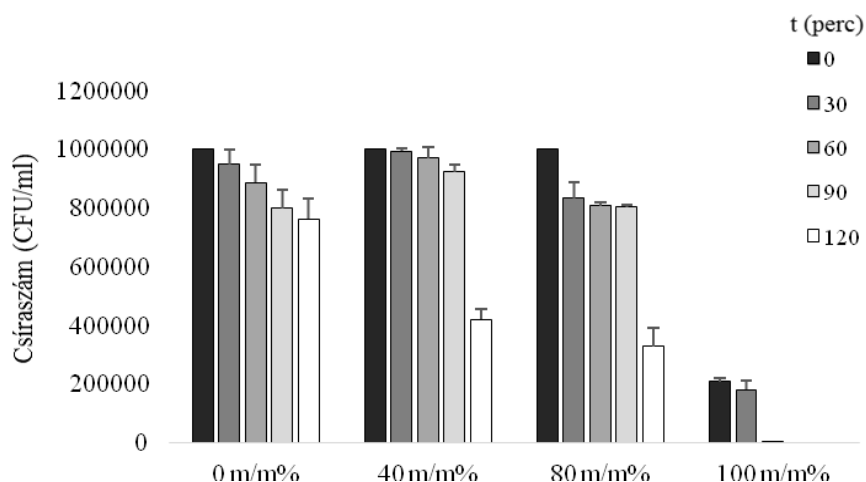
Az eredményekből látható, hogy az antibakteriális hatás ZnO fotokatalizátor alapú filmek esetében bevilágítás nélkül az idő múlásával és a ZnO koncentráció emelkedésével arányosan növekszik, ami a korábban említett ZnO fotokatalizátorból disszociált Zn^{2+} (aq) ionok toxicitásának eredménye. A 100m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett sötétben is teljes baktériumpusztulás volt tapasztalható a vizsgálat első perceiben, ami a fenti feltételezés tényszerűségét igazolja.

A vizsgálatokat a ZnO ezüsttel funkcionális változatával is elvégeztem, az eredményeket az **66. ábra** tartalmazza.



66. ábra Prolak rögzítő anyagban **bevilágított** Ag-ZnO fotokatalizátor antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Az eredményekből látható, hogy a rétegeken az antibakteriális hatás az idő múlásával és a fotokatalizátor koncentráció növekedésével erősödik. 40 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett a baktérium koncentráció a 120. percben érte el a 90 %-os csíraszám csökkenést a kiindulási csíraszámhoz képest. A 80 m/m%-os fotokatalizátor koncentráció esetében ez a hatás érték már a 90. percben, 100 m/m%-os fotokatalizátor koncentrációnál pedig már a 30. percben bekövetkezett. A ZnO fotokatalizátor tartalmú filmekkel összehasonlítva az Ag-ZnO tartalmú nanokompozit filmek erősebb antibakteriális hatással rendelkeztek, mivel a látható fény abszorbancia az ezüsttel funkcionizált ZnO esetében erősebb fotooxidációs hatékonyságot biztosított (**24. A ábra**). A sötétkontroll mérések is ezt az állítást igazolták.



67. ábra Prolak rögzítő anyagban Ag-ZnO fotokatalizátor **sötétben mért** antibakteriális hatása az idő és a felületi fotokatalizátor tartalom függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

Ag-ZnO fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek esetében is megmértem az antibakteriális hatást fényforrás kizárásával, így Ag-ZnO fotokatalizátor által okozott toxicitás mértéke összehasonlítható kiindulási ZnO fotokatalizátor toxicitásával (**67. ábra**). Az eredményekből látható, hogy a nanokompozit filmek a bevilágítás során erősebb antibakteriális hatással rendelkeztek, mint sötétkontroll esetében, tehát a fotokatalízis szerepe az antibakteriális hatás kialakulásában beigazolódott. Az is látható, hogy az antibakteriális hatás az idő múlásával és a fotokatalizátor koncentráció emelkedésével együtt nőtt sötétben is, tehát az Ag-ZnO és a rögzítő anyag együttes hatása adja a baktériumok számának csökkenésért felelős hatást. Ag-ZnO esetében az antibakteriális hatás nagyobb mértékű, mint kiindulási ZnO sötétkontroll mérések esetében, mivel az ezüsttel való funkcionális nagyobb lefedettséget biztosít a polimer réteg felé, ezért a polimer réteg baktériumokra kifejtett toxikus hatása kisebb mértékű, mint ZnO tartalmú fotokatalizátorok esetében.

Az összehasonlító táblázatott a **6. táblázatban** tüntettem fel, minden egyes esetben a kiindulási baktérium koncentrációhoz viszonyított csíraszám csökkenést (%) láthatjuk az idő függvényében különböző fotokatalizátor koncentráció mellett.

6. táblázat *ZnO/polimer és Ag-ZnO/polimer rétegek antibakteriális hatásának összehasonlítása*

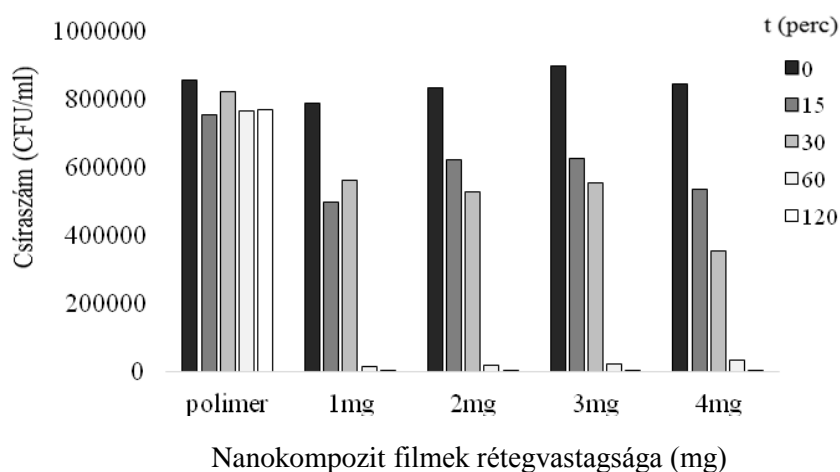
Fotokatalizátor felületi koncentráció (m/m%)	t (perc)	R/R ₀	
		ZnO	Ag-ZnO
40	0	0	0
	30	0.33	0.67
	60	0.07	2.9
	90	2.10	7.67
	120	47.93	58.03
80	0	0	0
	30	2.17	16.73
	60	43.40	19.23
	90	47.43	19.6
	120	60	67.1667
100	0	100	0
	30	100	12.8571
	60	100	99.9984
	90	100	100
	120	100	100

Összegzésképpen kijelenthető, hogy az eredmények összeegyeztethetőek a rétegek kémiai minőségének eredményeivel miszerint a TiO₂ és Prolak rögzítő anyag alkotta nanokompozit filmek fotooxidációs hatékonysága sokkal nagyobb volt, mint a TiO₂ és Epoxi gyanta rögzítő anyag által alkotott nanokompozit filmek fotooxidációs hatékonysága egységnyi idő alatt ugyanazon fotokatalizátor és polimer koncentráció mellett, ez a bevilágított és a sötétben végzett mérések közötti különbség által beigazolódott. Az is elmondható, hogy míg Epoxi gyanta esetében erőteljes toxicitást tapasztaltam a tiszta polimer réteg esetében, addig Prolak rögzítő anyag esetében ez a hatás sokkal kisebb mértékű volt. Az utóbbi rögzítő anyag esetében jobban számszerűsíthető volt a fotokatalízis antibakteriális hatásban betöltött szerepe a polimer és a fotokatalizátorok felszínéről disszociált ionok toxicitásával szemben.

Annak érdekében, hogy a bevilágított fotokatalizátorok antibakteriális hatását még pontosabb adatokkal megerősítsük egy harmadik, hidrofil polimer rögzítő anyagot is alkalmaztam. A TiO₂, Ag-TiO₂, ZnO és Ag-ZnO fotokatalizátorok antibakteriális hatását Plextol mátrixba ágyazva is vizsgáltam. A korábbi mérések során tapasztalt tiszta polimer tartalmú rétegek toxicitása miatt előkísérleteket végeztem a tiszta polimert tartalmazó filmek antibakteriális hatásának vizsgálatával. Az eredményeket 4 független vizsgálat átlagának

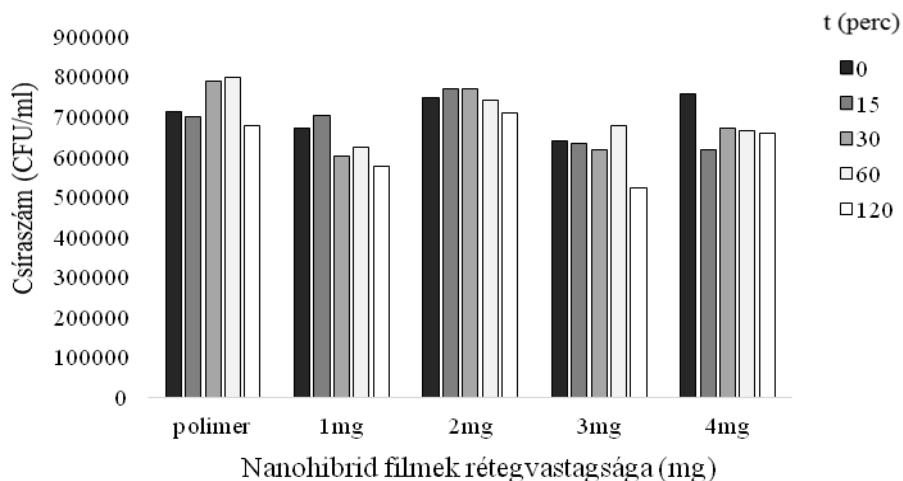
értékeiből számoltam, a polimer filmek antibakteriális hatását tiszta üveglapra felvitt baktériumok csíraszám csökkenésével hasonlítottam össze. Az eredmények azt mutatták, hogy míg Epoxi gyanta esetében 120 perc kontaktidő után a kiindulási csíraszám 80 – 100 %-a, Prolak rögzítő anyagon pedig a kiindulási csíraszám 50 - 80 %-a pusztult el, addig Plextol hordozón ez az érték 6 - 35 %-os csíraszám csökkenést eredményezett. Megállapítható tehát hogy a polimer réteg baktériumokra kifejtett toxikussága ennél a rögzítő anyagnál volt a legkisebb így ebben az esetben az antibakteriális hatásért főleg a fotokatalízis folyamata felel. Megállapítható, hogy a fotokatalizátort nem tartalmazó (tiszta) polimer film esetében a mért csíraszám csökkenés 2 óra alatt elhanyagolható a fotokatalizátort is tartalmazó polimer filmekhez képest.

A következőekben azt vizsgáltuk meg, hogy a filmek fajlagos tömegének (azaz rétegvastagságának) csökkentése hogyan befolyásolja az antibakteriális határfokot (**68. ábra**). Az összehasonlító mérések során alkalmazott fotokatalizátor az Ag-TiO₂ volt, mivel a látható fény által kiváltott fotokatalízist szerettem volna reprezentálni. A fotokatalizátor/polimer arány minden esetben 60/40 m/m% volt a mechanikai stabilitás és fotooxidációs hatékonyság optimalizálása miatt.



68. ábra A Plextol polimer rögzítő anyagban lévő **bevilágított** Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek rétegvastagságának szerepe az antibakteriális hatás kialakításában

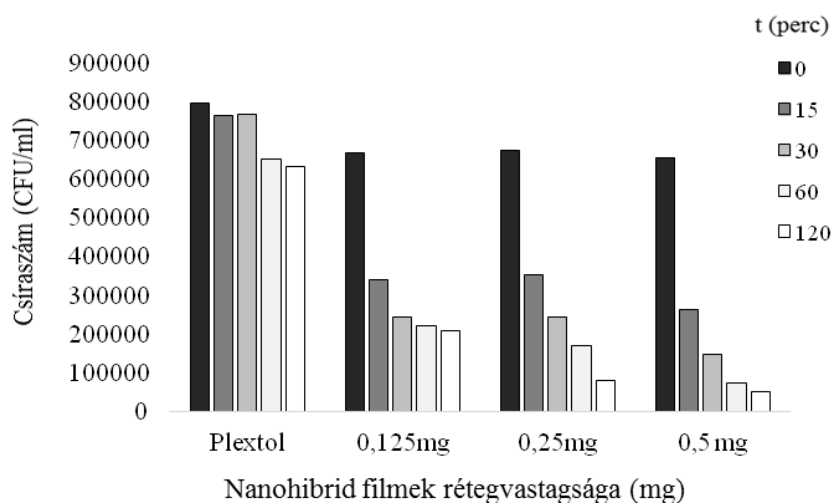
A fotokatalízis folyamatának antibakteriális szerepe a kísérletben bizonyított a bevilágított és a sötétben végzett kísérletek eredményeinek összehasonlításával: a bevilágított kísérletben a baktériumok 99,9 %-a elpusztult kontrolltól különböző minden minta esetében a 90. percben, míg a sötétben végzett kísérletekben a pusztulás mértéke nem különbözik nagy mértékben a kontroll tiszta polimerhez képest.



69. ábra A Plextol polimer rögzítő anyagban lévő Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek rétegvastagságának szerepe **bevilágítás nélkül** az antibakteriális hatás kialakításában

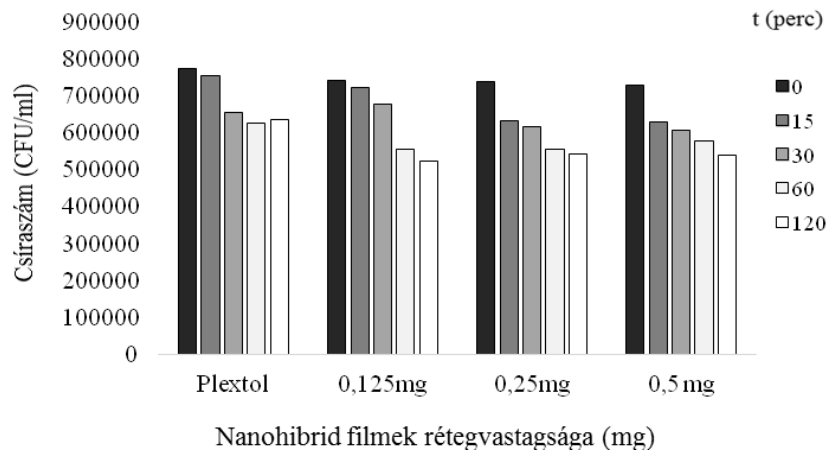
A kontroll antibakteriális hatásának időbeli függése mindkét kísérlet esetében hasonló eredményeket hozott, így bizonyított, hogy sem a fényforrás, sem a Plextol polimer rögzítő anyag hatása nem befolyásolja jelentős mértékben a csíraszámot.

Ezt követően az alacsonyabb (0,125 - 0,5 mg/cm²) fajlagos tömeggel rendelkező filmeknek is meghatároztuk az antibakteriális tulajdonságait. A **69. ábrán** látható, hogy a kompozit filmek fajlagos tömegének csökkenésével azok antibakteriális hatásfoka is csökken.



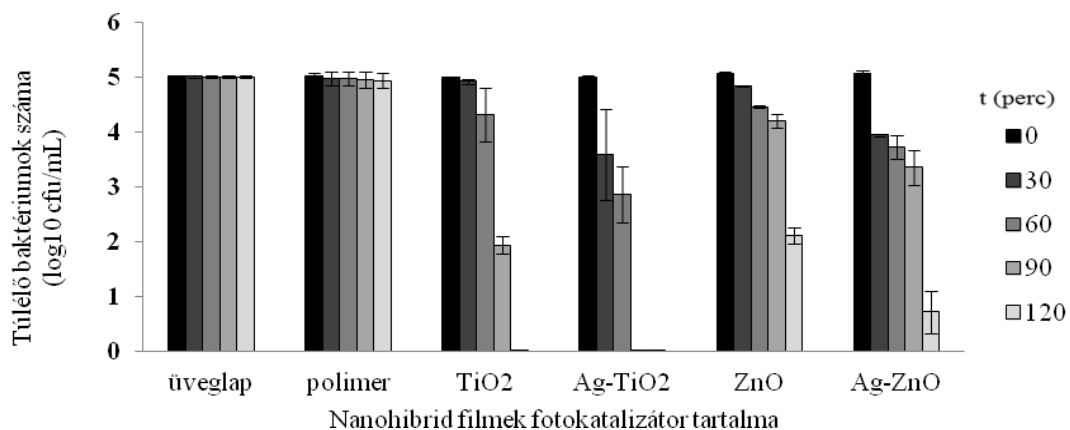
70. ábra A Plextol polimer rögzítő anyagban lévő **bevilágított** Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek csökkentett rétegvastagságának szerepe az antibakteriális hatás kialakításában

A 0,5 mg, 0,25 mg és 0,125 mg rétegvastagságoknál mért csíraszám csökkenés a korábbi 99%-os értékekhez képest itt 92 %, 88 % és 68 % volt. A fotokatalizátort nem tartalmazó filmre meghatározott értékek jelen esetben is elmaradnak a fotokatalizátor tartalmú filmekhez képest. A **70. ábra** és **71. ábra** összehasonlításából látható, hogy a csíraszám csökkenés egyértelműen a fotokatalízis folyamatának köszönhető, mivel a sötétben mért eredmények közel azonosak a kompozit filmek fajlagos tömegétől függetlenül, az eredmények a **71. ábrán** láthatók.



71. ábra A Plextol polimer rögzítő anyagban lévő Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek csökkentett rétegvastagságának szerepe **bevilágítás nélkül** az antibakteriális hatás kialakításában

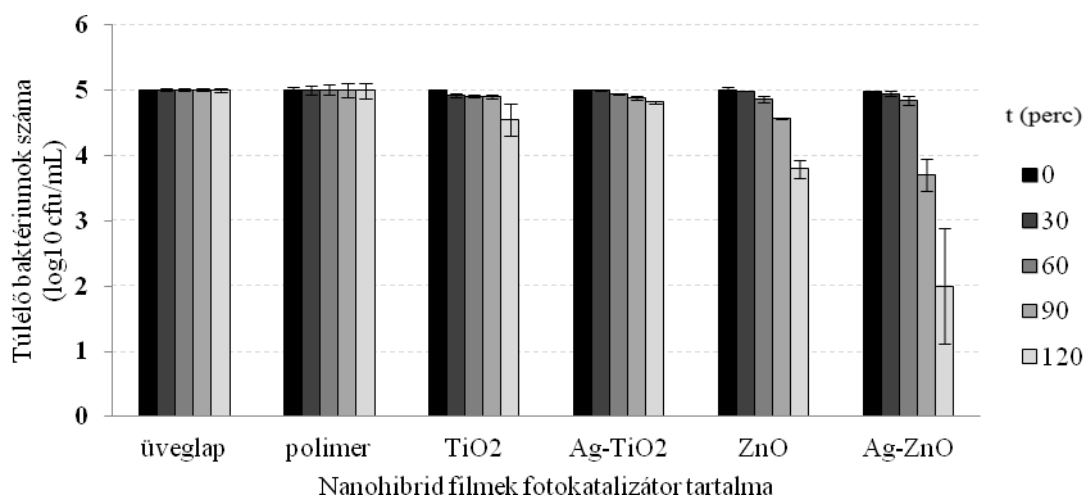
Az eredmények tükrében a további mikrobiológiai tesztek a legkevésbé toxikus Plextol rögzítő anyagba ágyazott fotokatalizátorok vizsgálatával végeztem, a rétegvastagság költséghatékonyság szempontjainak megfelelően $\sim 1 \text{ mg/cm}^2$ volt. A fotokatalizátor/polimer arány továbbra is 60/40 m/m% volt, ami jelen esetben megfelel a $0,6/0,4 \text{ mg/cm}^2$ fotokatalizátor/polimer fajlagos tömeg értékeknek. Az methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktériummal végzett mikrobiológiai vizsgálatok eredményei a **72. ábrán** láthatók. A csíraszám értékeket a fotokatalizátorok közötti különbségek (nagyságrendbeli) érzékeltetése céljából logaritmus értékben adtam meg.



72. ábra Bevilágított Plextol polimer alapú nanokompozit filmek antibakteriális hatása a fotokatalizátor tartalom és a idő függvényében

Az eredményekből látható, hogy a korábban megállapított tény, miszerint a polimer rögzítő anyag jelen esetben a legkevésbé toxikus itt is látható, a csíraszám csökkenés a kiindulási csíraszámhoz képest csupán 6-10 % volt a 120 perc bevilágítási idő után. A kiindulási TiO₂ esetében látható, hogy a bevilágított nanokompozit filmek esetében csak 120 perc után érte el 100 %-os csíraszám csökkenést a kiindulási csíraszámhoz képest. Ezt az értéket Ag-TiO₂ tartalmú nanokompozit filmek esetében már a vizsgálat 90. percében tapasztaltam, ami összeegyeztethető a filmek optikai tulajdonságaival (jobb gerjeszthetőség $\lambda > 400$ nm esetében) és a fotooxidációs hatékonyság mérésekkel, miszerint látató fénnel történő gerjesztés esetén a legerősebb antibakteriális hatást az Ag-TiO₂ tartalmú filmekkel lehet elérni. Az eredmények a mostani mérés sorozat esetében hozhatók legjobban összhangba a korábbi kémiai minősítésekkel, mivel a rögzítő anyag toxikusságának mértéke ezen a polimer rétegen a legkisebb, így a mérések most tükrözik leginkább a rétegeken létrejövő fotokatalitikus hatás antibakteriális hatását.

A sötétkontroll méréseket is elvégeztem, az eredmények a **73. ábrán** láthatók.



73. ábra Plextol alapú Nanokompozit filmek **sötétben mért** antibakteriális hatása a fotokatalizátor tartalom és az idő függvényében

A sötétkontroll eredményei a korábbi felvetést támasztották alá, miszerint, az antibakteriális hatásért Plextol rögzítő anyagon TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú nanokompozit filmek esetében jelentős mértékben a fotokatalízis hatásának eredménye. A megállapítást a bevilágított és sötétkontroll mérési eredmények közötti elenyésző különbség támasztja alá a fent említett fotokatalizátorok esetében, TiO₂ és Ag-TiO₂ antibakteriális hatásának bevilágított minták és sötétkontroll mérések értékeit a **7. táblázat** tartalmazza.

7. táblázat Plextol polimerbe ágyazott TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátorok antibakteriális hatásának összehasonlítása methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében

t (perc)	Fotokatalizátor tartalom			
	TiO ₂		Ag-TiO ₂	
	bevilágított	sötétkontroll	bevilágított	sötétkontroll
0	0,00 ± 0,00%	0,00 ± 0,00%	0,00 ± 0,00%	0,00 ± 0,00%
30	17,03 ± 6,14%	15,50 ± 5,20%	88,46 ± 17,56%	0,00 ± 0,00%
60	67,63 ± 37,27%	18,20 ± 4,19%	98,99 ± 0,81%	11,66 ± 2,89%
90	95,91 ± 0,03%	19,50 ± 5,20%	99,99 ± 5,24%	23,33 ± 5,77%
120	98,65 ± 1,51%	27,53 ± 3,52%	99,99 ± 5,25%	33,33 ± 2,89%

Az összehasonlított adatokból látható, hogy a TiO₂ (t = 120 perc; $\delta R = 71,12\%$) és Ag-TiO₂ (t = 120 perc; $\delta R = 66,66\%$) esetében is a bevilágított és a sötétkontroll mérések eredményei között jelentős különbség adódott. ZnO és Ag-ZnO fotokatalizátor tartalmú filmek esetében az eredmények közötti különbségek nem olyan nagymértékűek, a csíraszám csökkenés

mértéke sötétkontroll esetében is jelentős, ZnO esetében a 120. percben a csíraszám csökkenés 97,1 % volt bevilágított és 66,22 % volt sötétkontroll esetében, ami $\delta R = 30,88$ %-os különbséget jelent. Ag-ZnO esetében ez az érték csupán 16.27 % volt. Ezek az értékek azt jelzik, hogy a fotokatalízis folyamat kisebb mértékben vesz részt az antibakteriális hatás kialakításában, mint TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalom esetében. Az ok a korábban is említett ZnO és Ag-ZnO felületről disszociált Zn²⁺ (aq) ionok toxikusságában keresendő. A mért adatokat a **8. táblázat** tartalmazza.

8. táblázat *Plextol polimerbe ágyazott ZnO és Ag-ZnO fotokatalizátorok antibakteriális hatásának összehasonlítása methicillin rezisztens Staphylococcus aureus ATCC 43300 esetében*

t (perc)	Fotokatalizátor tartalom			
	ZnO		Ag-ZnO	
	bevilágított	sötétkontroll	bevilágított	sötétkontroll
0	0,00 ± 0,00%	0,00 ± 0,00%	0,00 ± 0,00%	0,00 ± 0,00%
30	29,43 ± 12,43%	5,36 ± 6,33%	22,37 ± 11,44%	5,08 ± 6,75%
60	63,88 ± 7,83%	27,69 ± 29,49%	57,07 ± 17,61%	45,71 ± 25,71%
90	81,98 ± 4,51%	43,00 ± 27,66%	79,14 ± 8,91%	50,57 ± 22,94%
120	97,10 ± 2,42%	66,22 ± 22,27%	86,23 ± 7,01%	69,96 ± 22,41%

A kísérletsorozat lezárásaként elmondható, hogy a legutóbbi Plextol rögzítő anyag már megfelelőnek bizonyult a fotokatalizátorok megfelelő mechanikai rögzítésére úgy, hogy a polimer a legkevésbé volt toxikus a három rögzítő anyag vizsgálata során.

Az különböző polimer rögzítő anyagokon különböző fotokatalizátorok esetében mért antibakteriális hatás összesítő eredményei a **9. táblázatban** láthatók.

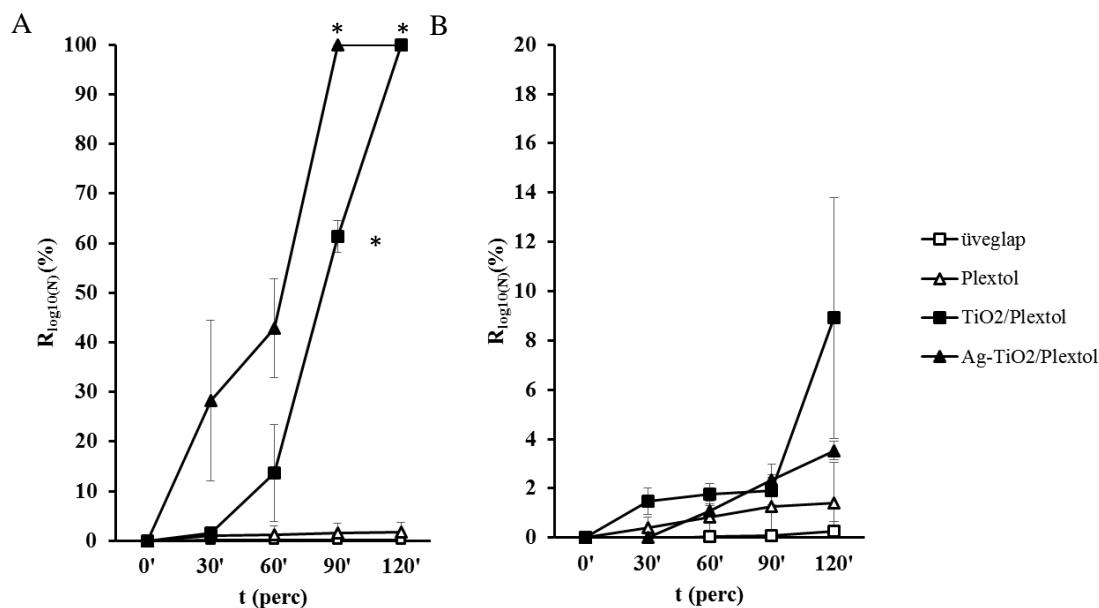
9. táblázat *Methicillin rezisztens Staphylococcus aureus ATCC 43300* baktérium fotokatalízis indukálta csíraszám csökkenése (%) különböző összetételű fotoreaktív vékonyrétegeken (fotokatalizátor/polimer tartalom: 0,6mg/cm² : 0,4 mg/cm²)

polimer kötőanyag jellege	Hordozó	fotokatalizátor tartalom	Kiindulási csíraszám (R0) relatív csökkenése a kontaktidő függvényében		
			120 (bevilágított)	120 (sötétkontroll)	toxicitás
hidrofób	Epoxi gyanta	polimer	89,83 ± 9,75%	89,83 ± 9,75	+
		TiO ₂	99,53 ± 0,47%	99,53 ± 0,47	+
		Ag-TiO ₂	99,86 ± 0,14%	98,10 ± 2,68	+
		ZnO	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	++
		Ag-ZnO	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	++
hidrofil	Plextol	polimer	17,41 ± 17,16%	14,10 ± 15,02%	
		TiO ₂	98,65 ± 1,51%	27,53 ± 3,52%	
		Ag-TiO ₂	99,99 ± 5,25%	33,33 ± 2,89%	
		ZnO	97,10 ± 2,42%	66,22 ± 22,27%	+
		Ag-ZnO	86,23 ± 7,01%	69,96 ± 22,41%	+
	Prolak	polimer	74,88 ± 19,41 %	35,00 ± 19,14%	+
		TiO ₂	99,99 ± 0,14%	42,06 ± 4,67%	
		Ag-TiO ₂	100,00 ± 0,00%	45,00 ± 30,41%	
		ZnO	94,00 ± 0,35%	93,11 ± 8,53%	++
		Ag-ZnO	99,80 ± 0,28%	88,86 ± 16,33%	++

TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátorok antibakteriális hatása már 120 perc alatt jelentős (99 %-os) csíraszám csökkenést okozott a felületen. ZnO és Ag-ZnO fotokatalizátorok esetében is jelentős volt az antibakteriális hatás, de a sötétkontroll mérések bebizonyították, hogy a fotokatalízis hatása mellett a Zn²⁺ (aq) ionok toxikussága is jelentős szerepet játszott a baktériumok inaktiválásában. A fenti okok miatt a vizsgálat polimer/fotokatalizátor réteget további baktériumfajok esetében is teszteltem. A ZnO fotokatalizátor tartalmú nanokompozit rétegek fotokatalízis által közvetített antibakteriális hatásának vizsgálatát indokolatlannak tartottam azok erőteljes toxicitása miatt.

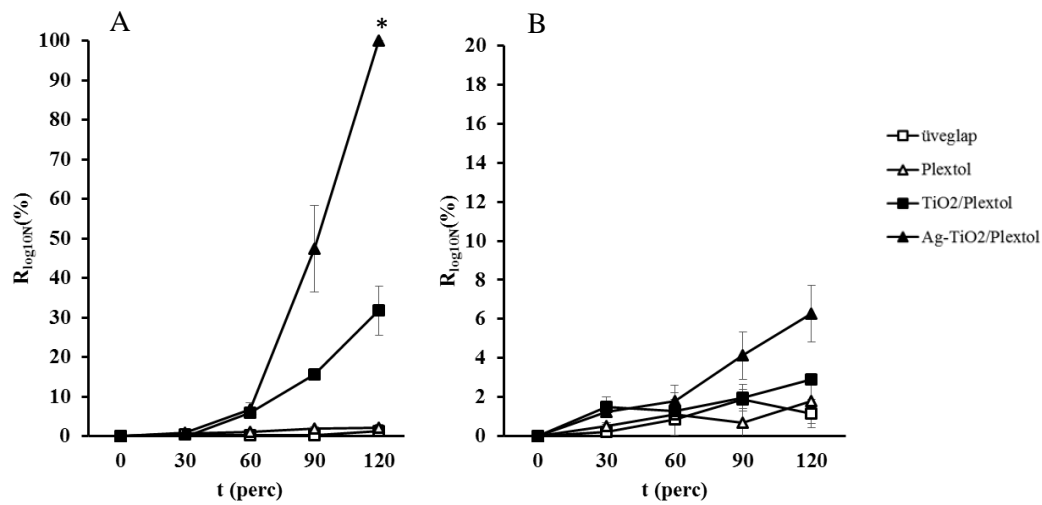
Az antibakteriális hatást a továbbiakban *Escherichia coli* ATCC 29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 Gram-negatív baktériumok esetében vizsgáltam Plectol/TiO₂ és Plectol/Ag-TiO₂ nanokompozit filmekken.

Methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 esetében mért antibakteriális hatás eredményei a **74.ábrán** láthatók.



74. ábra Bevilágított (A) és sötétben mért (B) nanokompozit filmek antibakteriális hatása methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktérium esetében (* $p < 0,05$ vs. kontroll)

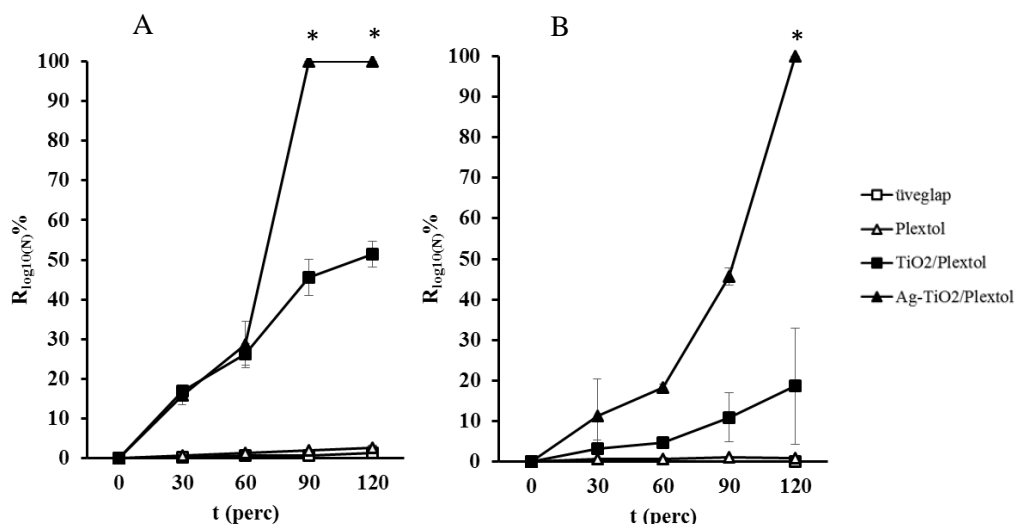
A látható fényvel gerjesztett nanokompozit filmek esetében látható, hogy az antibakteriális hatás mindhárom baktérium esetében erősebb volt Ag-TiO₂ tartalmú filmek esetében, mint kiindulási TiO₂ filmekben



75. ábra Bevilágított (A) és sötétben mért (B) nanokompozit filmek antibakteriális hatása *Escherichia coli* baktérium esetében (* $p < 0,05$ vs. kontroll)

A meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (**74. ábra**) és *Escherichia coli* ATCC 29522 (**75. ábra**) baktériumok esetében bevilágított és sötétkontroll mérések között jelentős különbséget mértem, mivel a fotokatalizátorok csak látható fény által történt aktivált állapotban fejtik ki antibakteriális hatásukat. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium esetében a mért eredmények a **76. ábrán** láthatók.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 baktérium esetében bevilágított és sötétkontroll mérések között nem volt olyan jelentős különbség, mint meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 és *Escherichia coli* ATCC 29522 baktérium esetében, ami jelen esetben a *Pseudomonas* nemzetség ezüst érzékenységgel magyarázható [113].



76. ábra Bevilágított (A) és sötétben mért (B) nanokompozit filmek antibakteriális hatása *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium esetében (* $p < 0,05$ vs. kontroll)

A Plextol/TiO₂ és Plextol/Ag-TiO₂ rétegek antibakteriális hatásának összesített eredményei a **10. táblázatban** láthatók. A nanokompozit filmekben a sötétkontroll mérések esetében sokkal kisebb csíraszám csökkenést tapasztaltam a különböző összetételű nanokompozit filmekben mindhárom baktérium esetében.

10. táblázat *Methicillin rezisztens Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 29522 és *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 baktérium fotokatalízis indukálta csíraszám csökkenése (%) Plextol rögzítő anyagba ágyazott TiO₂ és Ag-TiO₂ fotokatalizátor tartalmú fotoreaktív vékonyrétegeken (fotokatalizátor/polimer tartalom: 0,6mg/cm² : 0,4mg/cm²)

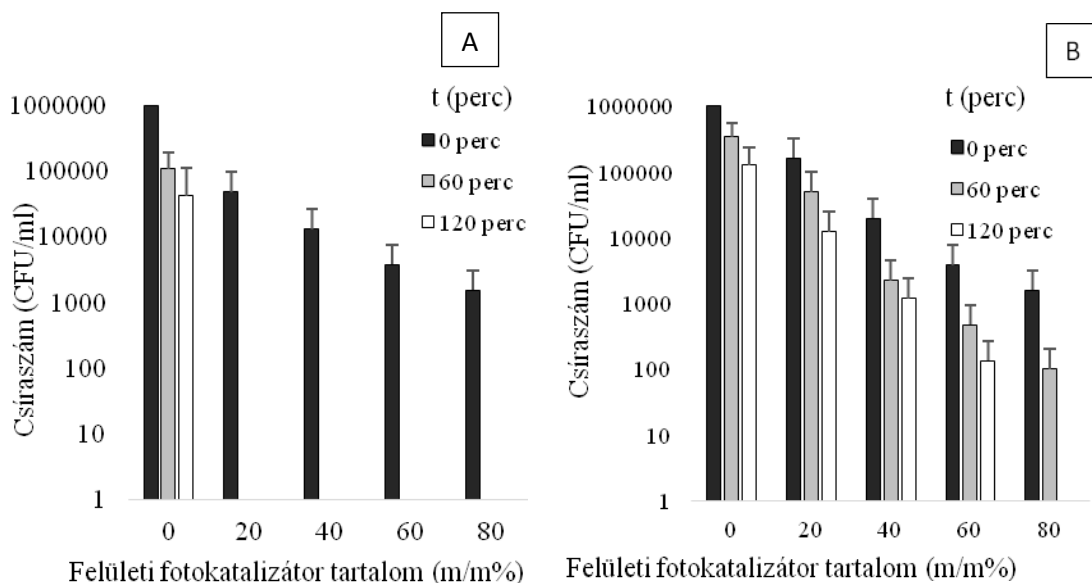
Baktériumok	Kontaktidő (perc)	Kiindulási csíraszám (R ₀) relatív csökkenése a kontaktidő függvényében			
		üveglap	Plextol	Plextol/TiO ₂	Plextol/Ag-TiO ₂
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522	90	0,32 ± 0,63	1,96 ± 0,39	15,68 ± 1,41	47,5 ± 10,94
	120	1,3 ± 0,36	2,26 ± 0,69	31,77 ± 6,15	100 ± 0,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	90	0,7 ± 1,33	1,97 ± 0,2	45,54 ± 4,51	100 ± 0,00
	120	1,32 ± 1,67	2,58 ± 0,61	51,35 ± 3,28	100 ± 0,00
methicillin rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	90	0,13 ± 0,13	1,54 ± 1,92	61,35 ± 3,26	95,91 ± 0,03
	120	0,21 ± 0,12	1,80 ± 1,92	98,65 ± 1,22	99,99 ± 1,51

6. Reaktív nanokompozitok alkalmazásának lehetőségei egészségügyi területen

6.1. Reaktív nanokompozitok alkalmazása felületen

Az ezüst tartalmú reaktív nanokompozit rétegeket sikeresen alkalmaztuk a Szegedi Tudományegyetem Gyermekklinika Újszülött Osztályának egy elkülönített szobájában, ahol a helyiség falait hidrofobizált Ag-TiO₂ fotokatalizátort tartalmazó diszperziós festékekkel kezeltük és csíraszám csökkenést mértünk az idő függvényében. Az elő kísérletekben methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 és ESBL-t termelő *Enterobacter cloacae* (klinikai izolátum) törzsek esetében teszteltük a nanokompozit rétegek antibakteriális hatását eltérő felületi fotokatalizátor tartalom esetében (0 – 80 %).

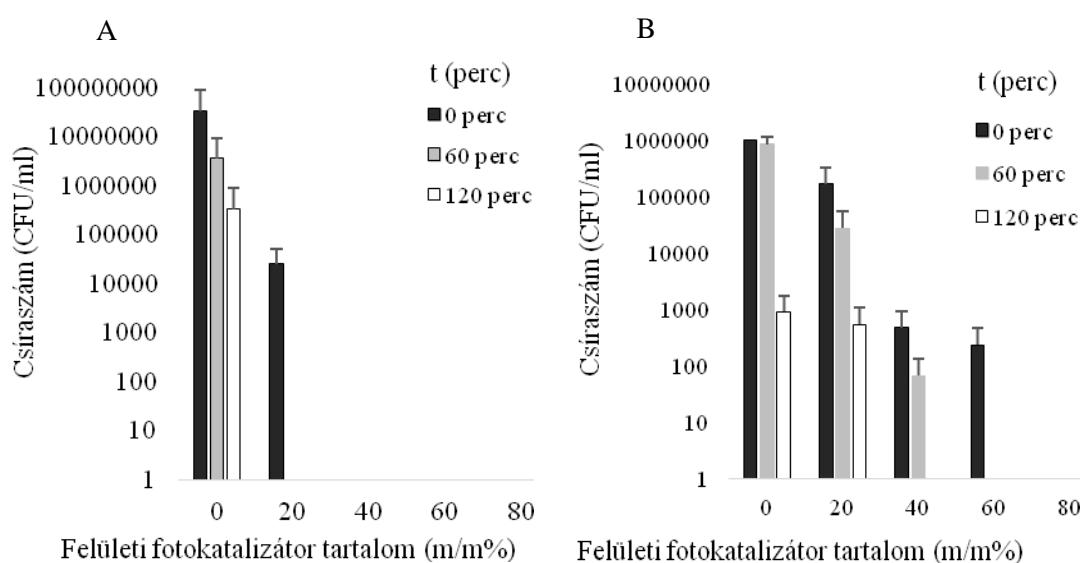
Az methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktériummal végzett előkísérletek eredményei a **77. ábrán** láthatók, a különböző felületi fotokatalizátor tartalomhoz tartozó csíraszám változásokat logaritmusban ábrázoltam az értékek közötti különbségek megfelelő ábrázolása miatt.



77. ábra Bevilágított (A) és bevilágítás nélkül (B) Ag-TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatása diszperzit festék (Héra) rögzítő anyagban az idő és a fotokatalizátor koncentráció függvényében methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktérium esetében

A tesztek eredményei 5 logaritmus csíraszám csökkenést (detektálhatósági szint alatti) mutattak már 60 perc bevilágítási idő alatt 20 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett is,

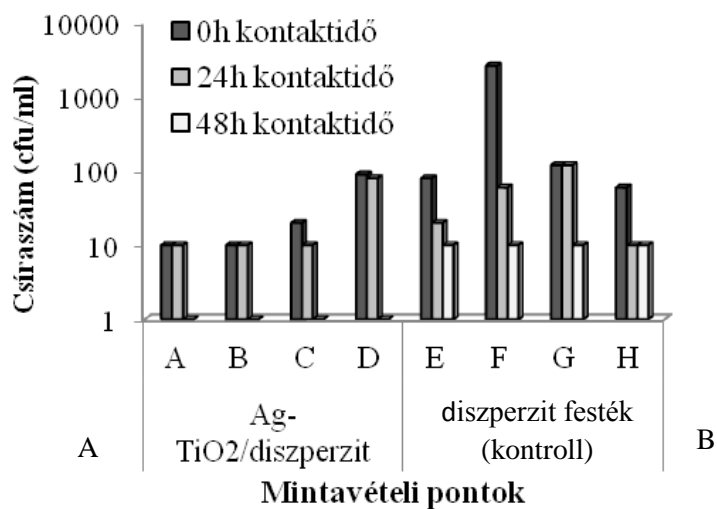
ezért a mechanikai stabilitást is figyelembe véve a szobát 60 m/m%-os fotokatalizátor tartalmú réteggel kezeltük. A sötétkontroll eredményei a **77. B. ábrán** láthatók, az eredmények alapján a látható fény által indukált fotokatalízis hatása bizonyított. A mérési eredményekből az is kiderült, hogy a fotokatalizátor rögzítő anyaga önmagában is csíraszám csökkentő hatással rendelkezik, amely hatás kisebb a fotokatalizátor tartalom nélkül. Az ESBL-t termelő *Enterobacter cloacae* (klinikai izolátum) baktérium esetében mért eredmények a **78. ábrán** láthatók.



78. ábra Bevilágított (A) és bevilágítás nélkül (B) Ag-TiO₂ fotokatalizátor antibakteriális hatása diszperzit festék rögzítő anyagban az idő és a fotokatalizátor koncentráció függvényében ESBL toxin termelő *Enterobacter cloacae* baktérium esetében

Az eredményekből megállapítottam, hogy *Enterobacter cloacae* (klinikai izolátum) baktérium érzékenyebb a fotokatalizátor tartalomra, mint a korábban vizsgálat methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktérium. 40 m/m%-os fotokatalizátor tartalom mellett már a vizsgálat kezdetén 100 %-os csíraszám csökkenést tapasztaltam a kezdeti csíraszámhoz viszonyítva. A baktérium a diszperzit festék esetében is erőteljes csíraszám csökkenést mutatott sötétkontroll esetében is, ami bizonyítja, hogy a csíraszám csökkenést mindkét baktérium esetében a fotokatalízis és a toxikus rögzítő anyag szinergikus hatása eredményezi.

A helyiségben végzett mintavételek 0, 24 és 48 órás kontaktidővel történtek steril mintavevő pálca segítségével 10 × 10 cm-es random módon kiválasztott területekről (**79. A ábra**). A kontroll felületeket kizárólag diszperzit festékekkel kezeltem.

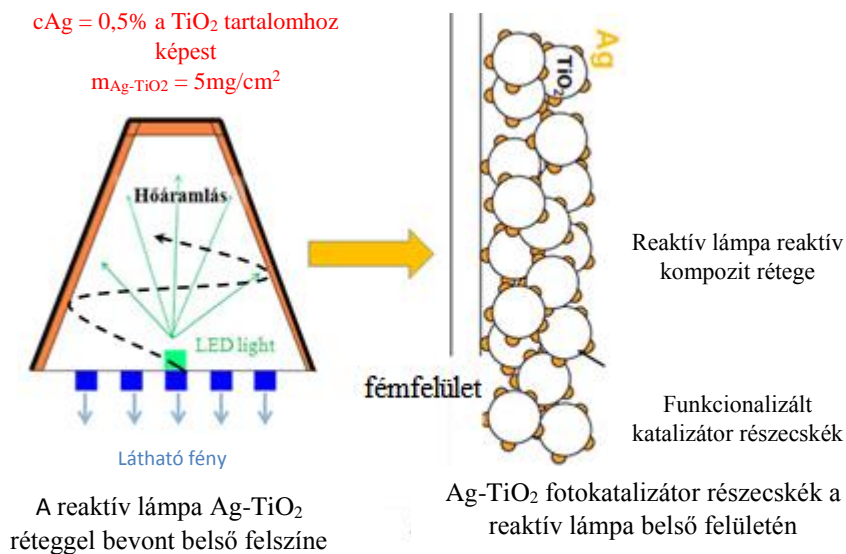


79. ábra Ag-TiO₂ Fotokatalizátor tartalmú falfelületek az SZTE- ÁOK Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermek Egészségügyi Központ kórtermében

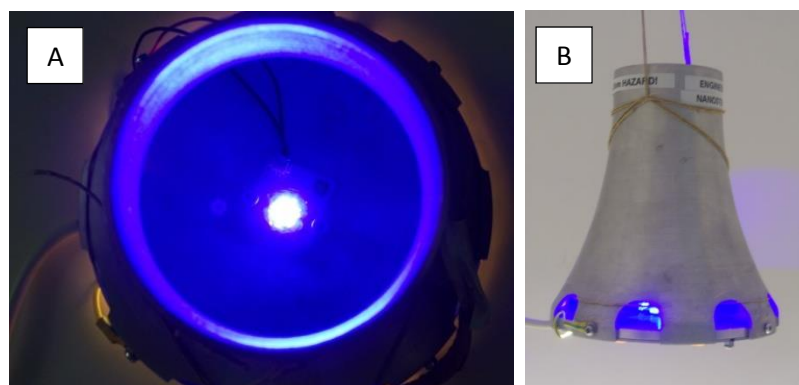
A vizsgálat végén megállapítottam, hogy a kezdeti csíraszám értékek 99,9%-al csökkentek 48 óra eltelte után (**79. ábra**) a kontroll mintákhoz viszonyítva, tehát a réteg egy egészségügyi intézmény helyiségében képes inaktiválni a falfelületeken előforduló mikroorganizmusokat 48 órás kontaktidő után.

6.2. Reaktív nanokompozitok alkalmazása a levegőtisztításban

Ezüsttel funkcionizált fotokatalizátor réteget sikeresen alkalmaztunk levegőtisztításra laboratóriumi körülmények között egy a General Electric Hungary Kft. által konstruált lámpatest belső rétegeként. A lámpa belső felszínét 5 mg/cm^2 rétegvastagságú Ag-TiO₂ fotokatalizátor réteggel vontam be (**80. ábra**), amelyet a lámpa belsejében lévő LED-fényforrás aktivál. A reaktív lámpa szerkezeti felépítését és a fotokatalizátor réteg és belső fényforrás elhelyezkedéséről készült felvételt a **81. ábra** tartalmazza.



80. ábra A reaktív lámpa szerkezetének sematikus ábrája



81. ábra A reaktív lámpa belsejében található LED-fényforrás ($\lambda = 405 \text{ nm}$) (A) és a hőáramlást elősegítő harang alakú palást (B)

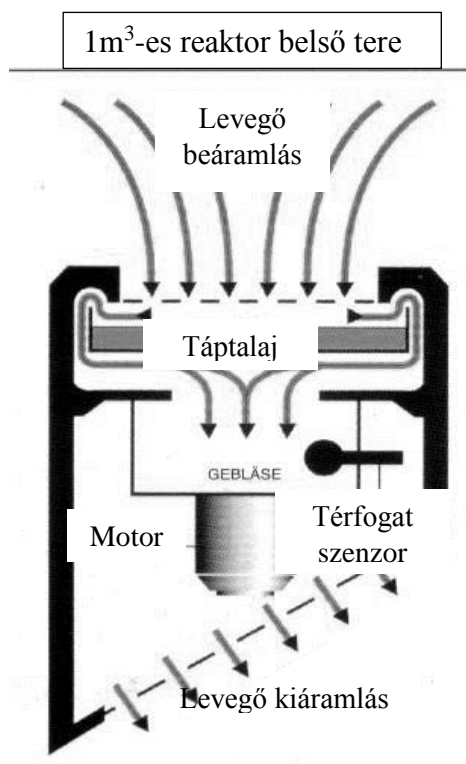
A laboratóriumi tesztet egy 1 m^3 fotoreaktor belsejében végeztük el különböző időpontokban vett csíraszám csökkenés meghatározásával és kontrollmérések elvégzésével. Az 1 m^3 -es

reaktort úgy alakítottam ki, hogy hermetikusan zárt legyen, elkülönítve ezáltal a belső levegőteret a külső tértől (**82. ábra**).



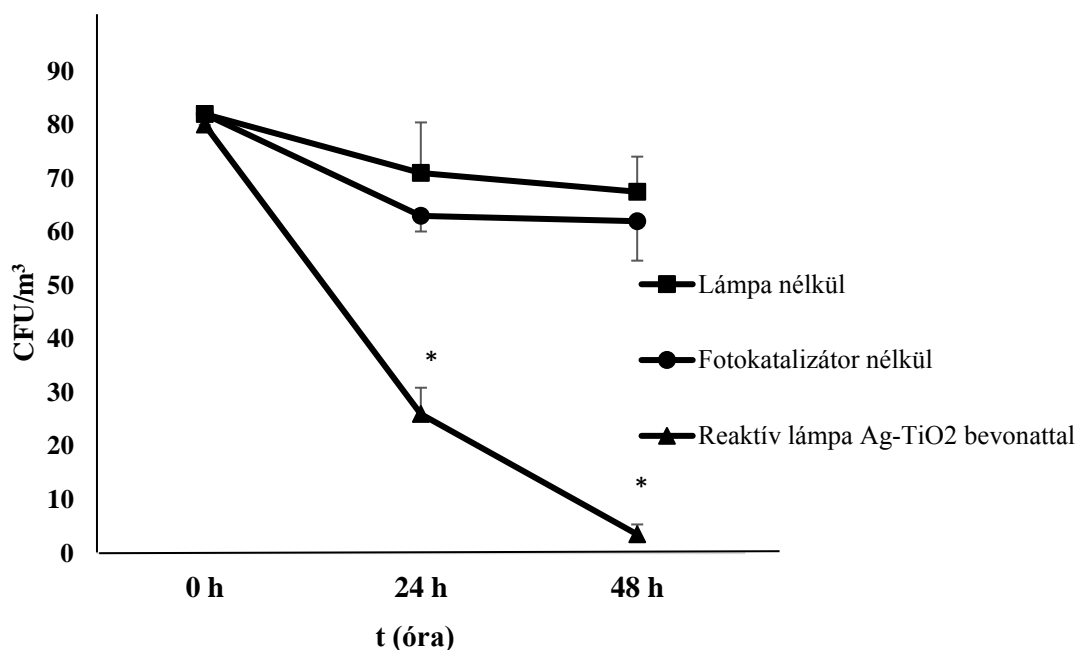
82. ábra A reaktív lámpa antibakteriális hatásának mérése során alkalmazott 1 m³-es fotoreaktor

A mintavétel minden esetben úgy történt, hogy a vizsgálat megkezdése előtt a reaktort kinyitottam, hogy a levegőben természetes módon előforduló mikroorganizmusok a reaktortér belsejébe jussanak, majd a reaktort lezárva 24 óra múlva RCS Plus mikrobiológiai levegő mintavevővel ellenőriztem az eredményt. A levegő mintavevő műszer működési elve a **83. ábrán** látható.



83. ábra Az RCS plus levegő mintavevő működési elve

A levegő mintavevő 1000 liter levegőt szív át egy speciális táptalajcsíkra, amin a levegőben lévő mikroorganizmusok megtapadnak és 16 óra inkubációs idő után látható telepeket alkotnak. Az így növekvő telepek számolhatók, így megállapítható a mintavétel során a levegőben lévő mikroorganizmusok száma, illetve annak változása. A mérések során HYCON Agar Strips TC (Merck, Budapest, Hungary) táptalajcsíkokat alkalmaztam, amely alkalmas a levegőben lévő baktériumok és gombák tenyésztésére. A lámpatest belsejében működés közben cirkuláris hőáramlást jön létre, emiatt a levegőben megtalálható mikroorganizmusok a lámpatest belsejében lévő reaktív felülettel érintkezve elpusztulnak, ezáltal biztosítva a folyamatos levegőtisztítást. A 24 és 48 órás mérési eredmények a **84. ábrán** láthatók, a mérések eredményeit kontrollmérésekkel támasztottam alá, elvégeztem egy párhuzamos mérést lámpa nélkül és egy olyan lámpával is, amely a fotokatalizátor réteget nem tartalmazta. A mérések eredményeit 3 párhuzamos mérés átlagából számoltam és a szórás értékekkel együtt ábrázoltam.



84. ábra A fotokatalizátorral kezelt reaktív lámpa antimikrobás hatása az 1 m³-es reaktorban lévő mikroorganizmusokra (n=3, *P<0,05)

A vizsgálatok során mért eredmények alapján elmondható, hogy a reaktív lámpa normál funkciója mellett képes a levegőben megtalálható mikroorganizmusok inaktiválására 1 m³-es légtérben 24 óra működés után a gombák és baktériumok száma a kezdeti csíraszámhoz képest 74 %-al, 48 órás működés után pedig 98 %-al csökkent.

7. Összefoglalás

Munkám során olyan nanokompozitok szintézisét és fejlesztését végeztem, amelyek alkalmasak – akár egészségügyi intézményi területen - a felületen és levegőben lévő mikroorganizmusok inaktíválására. Az antibakteriális hatás kialakítása érdekében a rétegekben TiO_2 és ZnO fotokatalizátorokat, illetve ezüsttel funkcionizált változataikat alkalmaztam. Az ezüsttel funkcionizált fotokatalizátorok szintézise minden esetben fotoredukcióval történt ezüst-nitrát prekursor alkalmazásával. A szintézis során az ezüst TiO_2 -ra vagy ZnO -ra vonatkoztatott koncentrációja 0,25 %, 0,5 % és 1 % volt. A nanokompozit filmekben a fotokatalizátorok koncentrációját $0,5 \text{ mg/cm}^2$, 1 mg/cm^2 és $1,25 \text{ mg/cm}^2$ értékekre állítottam be, ami megfelel a nanokompozit rétegek 40 %, 80% és 100%-os fotokatalizátor tartalmának. A fotokatalizátorok optikai tulajdonságának meghatározása diffúz reflexiós mérésekkel történt. A mérések során megállapítottam, hogy a legjobb fényelnyelés a 0,5 %-os ezüstöt tartalmazó Ag-TiO_2 és 0,25 %-ot ezüstöt tartalmazó ZnO kompozitok esetében valósult meg látható fény tartományban. A mérések során a rétegek mechanikai stabilitását a fotokatalizátor részecskék eltérő hidrofilitású polimerekbe történő ágyazásával növeltem hidrofób tulajdonságú Epoxi gyanta (poli(Bisfenol A-ko-epiklórhidrin), hidrofil tulajdonságú Plextol (poli(etil-akrilát-ko-metil-metakrilát)) és hidrofil tulajdonságú Prolak (poli sztírol-ko-akrilát) alkalmazásával. A hidrofób Epoxi gyanta nanokompozit rétegek szintézise során ún. Sandwich rétegeket hoztam létre, ennek során az első tiszta polimer rétegre került a polimert és fotokatalizátort is tartalmazó nanokompozit réteg annak érdekében, hogy az így kialakított reaktív nanokompozit réteg erősebb tapadási értéket mutasson az őt hordozó üveglap felszínén. A mechanikai stabilitást ISO EN 2409 szabvány alkalmazásával és spektrofotometriás mérésekkel igazoltam. A mérések során megállapítottam, hogy a fotokatalitikus hatékonyság és a mechanikai stabilitási értékek legjobb közelítése a fotokatalizátor/polimer 60/40 arány esetében történt, tehát a legjobb fotokatalitikus hatékonyság és legjobb mechanikai stabilitás 60% fotokatalizátor és 40% polimer alkalmazása esetében adódott. A fotokatalitikus hatékonyságot etanol gőz bontásának gázkromatográfiás méréseivel határoztam meg. A csökkenő etanol koncentrációt hővezető-képességi és lángionizációs detektorral felszerelt Shimadzu GC-14B gázkromatográfjal mértem. A fotokatalizátort tartalmazó rétegek etanol bontását FV-0165 típusú reaktorban mértem, $0,35 \text{ mmol/dm}^3$ kezdő koncentrációjú etanol gőzben egy órán keresztül. A mérések során a rétegeket látható fényt ($\lambda > 400 \text{ nm}$) emittáló

LED-lámpával és UV-fénnyel ($\lambda \leq 254$ nm) is gerjesztettem. Az eredmények kiértékelése során a 30 perc alatt elbontott etanol mennyiségét hasonlítottam össze TiO_2 és ZnO kiindulási katalizátor tartalom mellett. TiO_2 tartalmú minták esetében UV fényben az 1 % ezüst tartalmú minta mutatta a legnagyobb fotokatalitikus aktivitást, látható fényben pedig a 0,5 % Ag tartalom volt a legoptimálisabb a fotooxidációs hatékonyság szempontjából. TiO_2 fotokatalizátor tartalmú rétegek esetében megállapítható, hogy az Ag adalékolás egyértelműen javítja a TiO_2 hatékonyságát, a 0,5 % Ag tartalomnál mért legmagasabb érték ($2,92 \text{ mmol/dm}^3 \text{ EtOH/g katalizátor/30 perc}$) több mint háromszorosa a kiindulási Degussa P25 TiO_2 ($0,79 \text{ mmol/dm}^3 \text{ EtOH/g katalizátor/30 perc}$) katalizátornak. ZnO tartalmú minták esetében a 0,25 % Ag tartalmú minta mutatta a legnagyobb aktivitást fotooxidációs hatékonyság szempontjából UV és látható fénnyel történő gerjesztés esetében is (látható fény: $2,42 \text{ mmol/dm}^3 \text{ EtOH/g katalizátor/30 perc}$; UV-fény: $1,96 \text{ mmol/dm}^3 \text{ EtOH/g katalizátor/30 perc}$). Ezek a bontási értékek látható fényben magasabbnak adódtak, de mindkettő esetben alatta voltak a TiO_2 alapú nanokompozitok esetében mért elbontott etanol koncentráció értékeknek. A látható és az UV-fény bevilágítás alatt az ezüsttel funkcionizált minták jobb fotooxidációs tulajdonságot mutattak a többi fotokatalizátorhoz képest mindkét vizsgált fotokatalizátor esetében. A funkcionizált fotokatalizátorok által disszociált Ag^+ (aq) ionok koncentrációjának meghatározását ezüst ion szelektív elektróddal, potenciometriás mérésekkel végeztem. Az legjobb fotooxidációs tulajdonságokat mutató Ag- TiO_2 esetében az ezüst kioldódása a nanokompozitok esetében 1 hét alatt is az antibakteriális hatást mutató 0,22 ppm alatti értéknek adódott: 0,14 ppm. A méréssel bizonyíthatóvá vált, hogy az antibakteriális hatást kizárólag a rétegeken végbemenő fotokatalízis folyamata és a rétegek esetleges toxikus hatása adja, nem pedig a rétegekből kioldódó ezüst ionok antibakteriális hatása. A nanokompozit rétegek felületén, a fotokatalízis során képződött szabadgyökök koncentrációja luminometriás mérésekkel történt. A nanokompozit rétegek felületén képződő $\text{OH}\cdot$ koncentráció egyenes arányú összefüggést mutat a fotokatalizátor tartalom és a bevilágítási idő változásával. A nanokompozitok adott idejű (30 perces) bevilágítása esetén a hidroxilgyökök koncentrációja az Ag- TiO_2 tartalmú nanokompozitok felületén adódott a legmagasabbnak ($\text{cOH}\cdot = 0,365 \text{ mM}$). Tiszta TiO_2 tartalmú nanokompozitok esetében ez az érték alacsonyabb volt ($\text{cOH}\cdot = 0,294 \text{ mM}$). ZnO és Ag- ZnO tartalmú nanokompozit rétegek esetében a szabadgyökök koncentrációja pedig lényegesen kevesebbnek adódott (ZnO : $\text{cOH}\cdot = 0,151 \text{ mM}$; Ag- ZnO :

cOH• = 0,178 mM). A nanokompozit filmek toxicitását *Allovibrio fischeri* baktérium biolumineszcencia csökkenésének luminometriás mérésével állapítottam meg. A méréseket fényel aktivált nanokompozit filmek és sötétkontroll esetében is elvégeztem. A baktériumok lumineszcenciája a különböző fotokatalizátort (TiO₂, Ag-TiO₂, ZnO, Ag-ZnO) tartalmazó nanohibrid filmekben eltérő mértékű volt. A legerősebb biolumineszcencia csökkenést 120 perc után Ag-ZnO fotokatalizátort tartalmazó nanokompozitok esetében mértem (99%), a legnagyobb különbség pedig a bevilágított és a sötétben végzett mérések értékei között Ag-TiO₂-t tartalmazó rétegek esetében adódott (~66%). A fenti eredmények azt mutatják, hogy míg a legerősebb toxicitást Ag-ZnO esetében mértem bevilágított és sötétben mért rétegek esetében, a fotokatalízis alkotta biolumineszcencia csökkenés Ag-TiO₂ esetében volt mérhető. A fotokatalízis izolált peptidoglikán rétegre kifejtett hatását transzmissziós elektronmikroszkópos és fluoreszcens mikroszkópos technikákkal is megmértem Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok esetében. Az elektronmikroszkópos felvételeken látható, hogy a Gram-pozitív *Staphylococcus aureus* baktérium vastag peptidoglikán rétegén a 60. percben enyhe degradáció figyelhető meg a fotokatalízis során képződött szabadgyökök hatására. A 120. percben a peptidoglikánt alkotó kovalens kötések elszakadnak, a degradált fragmentek nem mutatnak teljes szétesést, csak a réteg jelentős és több helyen is tapasztalható sérülését. Gram-negatív baktériumok esetében a vékony peptidoglikán réteg már a 60. percben erőteljes degradációt mutat, a 120. percben pedig az izolált réteg teljes destrukciója tapasztalható. A fotokatalizátorok és baktériumok között kialakuló elektrosztatikus kölcsönhatásokat – a szakirodalomban elsőként - töltéstitrálós módszerrel jellemeztem az *Escherichia coli* ATCC 29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 baktériumok esetében. Az eredmények alapján a baktériumok felületi töltése *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-nak adódott. A baktériumok esetében mért negatív töltéseket kompenzálja a TiO₂ töltése, amelynek ekvivalens töltése +0,123 meq/g, és ezáltal a pozitív töltésű TiO₂ nanorészecskék képesek beborítani a baktériumok felületét. Az eredményekből látható, hogy a két vizsgált Gram-negatív baktérium esetében *Escherichia coli* ATCC 29522 0,65g TiO₂ részecskét, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 2,02g TiO₂ részecskét kötöttek meg a felszínen, míg a Gram-pozitív methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 2,47g TiO₂

részecskét volt képes megkötni a felszínén. Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a fotokatalizátorok és baktériumok kölcsönhatásában az elektrosztatikus vonzás mellett szerepet játszik a sejtfal felületén bekövetkező aggregáció mértéke és a 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. A nanokompozit rétegek felszínén fluoreszcens jelölési technikákkal megállapítható a reaktív felületen lévő baktériumok életképessége a sejtfal intaktságának állapota szerint. A fluoreszcens jelölést *Escherichia coli* és *Pseudomonas aeruginosa* baktériumok esetében hajtottam végre Ag-TiO₂-t tartalmazó nanokompozit esetében látható fény bevilágítás mellett. SYTO 9 festékekkel a felületen lévő összes baktérium zöld fény tartományban mutat emissziót, viszont ha a sejtfal sérült, a festék kitben lévő másik, propidium jodid jelölőanyag a sejt belsejébe jutva a zöld fényel emittáló festék fluoreszcens intenzitását csökkenti, egyben pedig a saját vörös fény emisszióját expresszálja. A fluoreszcens jelölési protokoll végére az élő baktériumok zöld fényel, míg az elpusztult baktériumok vörös fényel emittálnak, az eredmény mikroszkóppal és fluorimetriás mérésekkel is igazolható. Az eredmények azt mutatták, hogy mindkét baktériumok esetében már a vizsgálat első perceiben a baktériumok erősen kötődnek a fotokatalizátor aggregátumok felszínére, majd a 120 percet követő bevilágítás hatására inaktiválódnak. A nanokompozit filmek antibakteriális hatását kvantitatívan is megmértem a nanokompozit filmek felületére mesterségesen felvitt baktérium szuszpenzióban lévő csíraszám csökkenés mérésével, amit MSZ EN ISO 27447 szabvány módosított változatával végeztem el. Methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* baktériummal mesterségesen fertőzött reaktív nanokompozit filmeket 405 nm-es 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 (R₀) hányadosából adódott: R/R₀. A polimer hordozók közül a legkisebb toxicitást a hidrofil Plextol tartalmú nanohibrid filmek eredményezték, ezek közül a legjobb fotokatalitikus hatékonyságot az Ag-TiO₂ fotokatalizátort tartalmazó nanokompozit filmek. Hidrofób Epoxi gyanta és hidrofil Prolak hordozók esetében a hordozón sötétben mért antibakteriális kontrollvizsgálatok is jelentős csíraszám csökkenést eredményeztek, a polimer önmagában is jelentős csíraszám csökkentő hatással bír. A ZnO tartalmú filmek esetében az antibakteriális hatás a hordozók toxicitása, a Zn²⁺ (aq) - ionok

toxicitása és a fotokatalízis szinergikus hatásának köszönhető. A vizsgálatok során megállapítottam, hogy az Ag-ZnO tartalmú nanokompozit filmek kisebb mértékű antibakteriális hatást mutattak, mint a kiindulási ZnO-ot tartalmazó filmek, tehát a polimerek toxicitása mellett a fotokatalízis hatásának jelenléte is bizonyított. A fotokatalitikus hatás okozta antibakteriális hatás elérése érdekében a magas toxikusságot mutató hordozókat a vizsgálatokból kizártam, a vizsgálatok végén a három patogén mikroorganizmust csak a Plectol hordozót tartalmazó nanokompozitok esetében végeztem el. A fent leírt nanokompozitok esetében a fajlagos felületet ($1\text{mg} / \text{cm}^2$), a fotokatalizátor és Plectol polimer arányát (60/40%) és koncentrációját (0,6 / 0,4mg) optimalizálva végeztem el a mikrobiológiai vizsgálatot *Escherichia coli* ATCC 29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 és methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* esetében. ZnO fotokatalizátor esetében nem végeztem további mikrobiológiai vizsgálatokat a ZnO fotokatalizátor felületéről disszociált Zn^{2+} – ionok toxikussága miatt, amelyek sötétkontroll esetében is jelentős csíraszám csökkenést mutattak. A szintetizált és kifejlesztett reaktív nanokompozit rétegek 120 perc kontaktidő után jó baktériumölő hatást mutattak ($R \% \pm 90 \%$), mechanikailag stabilak és a környezetre nem ártalmasak, ezért az egészségügyben egy prevenciós stratégiai irányelv főszereplői lehetnek. A fentiekben leírt minősítések elvégzése és kiértékelése után a nanokompozit rétegeket egészségügyi területen történő felhasználás céljából különböző felületen teszteltem. A tesztek során a Szegedi Tudományegyetem Gyermekklinikájáról izolált humán patogén és ESBL-t termelő *Enterobacter cloacae* baktérium életképességét vizsgáltam a reaktív nanokompozitok alkotta felületen. A felületek alkalmasnak bizonyultak klinikai területen történő kipróbálásra, a tesztek során a klinikán egy elkülönített szobában az reaktív felület (Ag-TiO₂ fotokatalizátor diszperziós festékbe keverve) 48 óra alatt sikeresen elpusztította az ott jelenlévő mikroorganizmusok 100%-át. Ezüsttel funkcionizált fotokatalizátor réteget sikeresen alkalmaztam 1m³ farostlemez reaktor levegőjének fertőtlenítésére a General Electric Hungary Kft. által szabadalmaztatott lámpatest belső rétegeként. A reaktív lámpa alkalmas volt a reaktorban lévő mikroorganizmusok közel 100 %-át inaktiválni 48 óra kontaktidő után.

8. Summary

Reactive nanocomposites were developed and synthesized, which are able – in health care facilities too- to inactivate microorganisms on the surface and in the air. In reactive surfaces TiO_2 and ZnO photocatalysts and their silver functionalized forms were used as antibacterial agents. Synthesis of silver functionalized photocatalysts were carried out with photoreduction method with silver nitrate precursor. During the synthesis the concentration of silver was 0.25 %, 0.5 % and 1 % according to the TiO_2 or ZnO content, respectively. The concentration of nanocomposites was 0.5 mg/cm^2 , 1 mg/cm^2 and 1.25 mg/cm^2 , these values are corresponded to 40 %, 80 % and 100 % photocatalyst content of the nanocomposite films. The optical properties of photocatalysts were determined with diffuse reflectance spectroscopy. The absorption of light was the most intensive in case of 0.5 % of silver in Ag- TiO_2 photocatalyst and 0.25% of silver in Ag- ZnO photocatalyst. The mechanical stability of the reactive films were increased with polymer binders with different wettability. These polymers were hydrophobic Epoxi resin (poli(Bisphenol A-co-epichlorhidrin), hydrophilic Prolak (poly styrol-co-acrylate) and hydrophilic Plextol (poly(ethyl-acrylate-co-methyl-metacrylate)). Nanocomposite films with Epoxi resin polymer were synthesized with “Sandwich”-method, which means nanocomposite films with polymer binders are prepared on a pure polymer layer for better mechanical stability and stronger attachment to the glass sample. Mechanical stability were investigated according to standard ISO 2409. Results showed, that the most stable and photocatalytically active reactive film was implemented by 60 wt% of photocatalyst and 40 wt% of polymer content. Photocatalytic effectiveness was determined by gas chromatography of ethanol degradation on nanocomposite films under visible and UV-light. Decreasing ethanol concentration was measured with Shimadzu GC-14B gas chromatograph equipped with thermal conductivity and flame ionization detector. Ethanol concentration was measured for an hour in an FV-0165 reactor with 0.35 mmol/dm^3 of initial ethanol concentration. Reactive surfaces were activated with visible ($\lambda > 400 \text{ nm}$) and UV-light ($\lambda \leq 254 \text{ nm}$). Measurements data were evaluated after 30 minutes of ethanol degradation on visible light activated nanocomposite films with TiO_2 and ZnO content. When UV-light was used as activator of the films, the Ag- TiO_2 with 1% of silver content was the most degradable. When Ag- TiO_2 was illuminated visible light the most ethanol was degraded with the 0,5 % of silver concentration. The functionalization of TiO_2 with Ag can clearly increase the photocatalytic efficiency of TiO_2 , highest value by 0,5 % Ag was (2.92

mmol/dm³ EtOH/g catalyst/30 min), which is three times more than value measured by pure TiO₂. Using ZnO as photocatalyst the degradation of ethanol was the highest, when ZnO was functionalized with 0.25 % Ag even if samples were irradiated with visible light or UV-light (visible light: 2.42 mmol/dm³ EtOH/g catalyst/30 min; UV-light: 1.96 mmol/dm³ EtOH/g catalyst/30 perc). These values were higher when visible light was used, but smaller than values in case of nanocomposite with TiO₂ photocatalyst content. The concentration of dissociated Ag⁺ (aq) ions was determined with silver selective electrode with potentiometric measurements. The dissociation of silver in case of Ag-TiO₂ (with the best photooxidation properties) was 0.22 ppm in a week, which is under the literature value causing antibacterial effect. With this measurement it was proved, that antibacterial effect is because of photocatalysis on the surface of nanocomposites and not result of dissolution of silver. The concertation of free radicals was determined with luminometric measurements. The OH[•] concertation is directly proportional with photocatalyst content and time. After 30 minutes of illumination OH[•] concertation was highest on nanocomposites with Ag-TiO₂ (cOH[•] = 0.365 mM). On nanocomposites with TiO₂ the measured values were lower (cOH[•] = 0,294 mM). Lowest values were measured on nanocomposites with ZnO and Ag-ZnO content (ZnO: cOH[•] = 0.151 mM; Ag-ZnO: cOH[•] = 0.178 mM). Toxicity of nanocomposite films was measured with luminometric measuring of decrease of bioluminescence in *Allovibrio fischeri*. Investigations were carried out under visible light and in the dark as a control. Bioluminescence was different on nanocomposites with different photocatalyst content. After 120 minutes of illumination the most intensive bioluminescence decrease was observed on nanocomposites with Ag-ZnO (99 %). The highest difference between illuminated and dark control measurement was on nanocomposites with Ag-TiO₂ (~66 %). Results showed that surfaces with Ag-ZnO were the most toxic, and the antibacterial effect was expressed mostly on nanocomposites with Ag-TiO₂ because of visible light activated photocatalysis. Photocatalytic effect (Ag-TiO₂) on peptidoglycan was measured in case of Gram-positive and Gram-negative bacteria with electron microscopy and fluorescence microscopy. On TEM pictures low degradation can be seen on Gram-pozitive *Staphylococcus aureus* peptidoglycan layer after 60 minutes of photocatalysis, because of the produce of hydroxyl radicals. Covalent bounds break up after 120 minutes of photocatalysis, but peptidoglycan fragments stay compact, only degradations can be seen on many places of the surface. In case of Gram-negative bacteria strong degradation can be

seen after 60 minutes of photocatalysis and after 120 minutes peptidoglycan is fully disintegrated. Electrostatic interactions between photocatalysts and bacteria was measured with charge titration method (in literature first time) in case of *Escherichia coli* ATCC 29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 bacteria. Surface charge of bacteria were according to measured values was in case of *Escherichia coli* $-1,33 \mu\text{eq}/10^9 \text{ CFU}$, in case of *Pseudomonas aeruginosa* $-3,19 \mu\text{eq}/10^9 \text{ CFU}$ and in case of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* $-0,89 \mu\text{eq}/10^9 \text{ CFU}$. Negative charge of bacteria was compensated with positively charged TiO_2 particles ($+0,123 \text{ meq/g}$), so bacteria can be enfolded with positively charged TiO_2 particles. Results showed, that *Escherichia coli* ATCC 29522 could bind 0.65 g, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 could bind 2.02 g and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* could bind 0.65 g of TiO_2 particles on the surface. Conclusions were reached, intensity of aggregation and specific structure of cell wall play important role in interactions between photocatalysts and bacteria beside electrostatic interactions. TiO_2 particles attach stronger to the cell wall of Gram-positive bacteria, than Gram-negative bacteria because of position of peptidoglycan in cell wall. Viability of bacteria on the surface of nanocomposites can be determined with fluorescence microscopy techniques from the information of the intactness of the bacterial cell wall. Fluorescence labelling was carried out on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* on nanocomposite with Ag- TiO_2 under visible light illumination. When SYTO 9 fluorescence dye is used, all bacteria are emitting green light, but if cell wall is degraded, propidium iodide can penetrate the cell wall with red light fluorescence and can degrade SYTO 9 in the bacterial cell. At the end of fluorescence labelling protocol live bacteria can be seen with red fluorescence and live bacteria can be seen with green fluorescence. Results can be evaluated with fluorescence microscopy and fluorimetric measurements. In initial point of the experiment bacteria are strongly attached to the photocatalyst aggregates. After 120 minutes of illumination bacteria are inactivated by photocatalysis on the surface of Ag- TiO_2 . Antibacterial effect of nanocomposites were measured quantitatively with decrease of bacterial count on the surface of nanocomposites according to modified MSZ EN ISO 27447 standard. Decrease of CFU was measured as the function of time under LED-light illumination ($\lambda = 405 \text{ nm}$). Intensity of decrease (%) was calculated from the ratio of CFU connected to illuminated time (R) and CFU of initial point of the experiment (R_0) : R/R_0 . The lowest toxicity was, when Plextol polymer was used as a polymer binder and highest

photocatalytic effect was, when Ag-TiO₂ was used as photocatalyst in nanocomposite films. Hydrophobic Epoxi resin and hydrophilic Prolak has high toxicity, these polymer binders has antibacterial effect even under dark conditions. Nanocomposites with ZnO content are toxic because of the synergistic effect of toxicity of dissociated Zn²⁺ (aq) – ions and photocatalysis. Nanocomposites with Ag-ZnO showed lower antibacterial toxicity, than with pre ZnO content so the effect of visible light photocatalysis was proven in these cases. Because of the above mentioned facts, only Plextol polymer binder was used in further microbiological experiments. The specific surface area (1 mg/cm²), ratio (photocatalyst:60wt% ; polymer:40 wt%) and concentration of the polymer and photocatalyst (0.6 mg/0.4 mg) was optimized and with these optimized values microbiological investigations were carried out with three pathogen bacteria, namely *Escherichia coli* ATCC 29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Nanocomposites with ZnO content were excluded from further investigations, because of the toxicity of these photocatalysts, which results significant high antibacterial effect under dark conditions (without photocatalysis). Synthesized and developed reactive nanocomposite films showed appropriate antibacterial effect (R % ± 90 %) after 120 minutes of illumination with visible light, they are non-harmful and mechanically stable, so they can be the main actor in a directive of a prevention strategy in the health care. After above mentioned and evaluated characterizations reactive nanocomposites were tested in medical fields. Viability of ESBL producing *Enterobacter cloacae* (isolated from Department of Pediatrics Newborn at University of Szeged), was determined on nanocomposite created surfaces. Nanocomposites with silver content were successfully applied in separated room of Department of Pediatrics Newborn at University of Szeged, where walls was treated with dispersion paint with Ag-TiO₂ content. In the experimental room the nanocomposite film can degrade naturally occurring microorganisms after 48 hours of contact time. Silver functionalized photocatalyst surface was successfully applied under laboratory conditions for air cleaning as an inner layer in a reactive lamp (constructed by General Electric Hungary Kft.; patent number: US 2013/00942204). Reactive lamp was able to inactivate airborne microorganisms (R = 100%) after 48 hours of contact time.

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 nano hybrid 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)

$\Sigma_{IF} = 7,521$

Egyéb közlemények:

- [5.] Ágota Deák, László László Janovák, Szabolcs Péter Tallósy, Tamás Bitó, Dániel Sebők, Norbert Buzás, István Pálinkó, Imre Dékány. Spherical LDH-Ag⁰-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)

$\Sigma_{IF} = 12.712$

Könyvfejezetek:

- [9.] Dékány Imre, Janovák László, Tallósy Szabolcs Péter: A napfény energiájának hasznosítása különböző szennyezett felületek, vizek és talajok tisztítására, Környezetipar, újraparositás 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 **(előadás)**
2. Tallósy Szabolcs Péter: Reaktív hibrid nanokompozit felületek antibakteriális hatásának vizsgálata; Anyagtudományi előadássorozat, Szegedi Akadémiai Bizottság Székháza 2014. április 1. **(előadás)**
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. **(előadás)**
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. **(előadás)**
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. **(előadás)**

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. (előadás)

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. (poszter)
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. (poszter)
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 Nanoboicomposites, Joint meeting of WG2 –WG4, COST action CM1101-Szeged-2013; (poszter)
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 Nanoboicomposites, Joint meeting of WG2 – WG4, COST action CM1101-Szeged-2013; (poszter)
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 (poszter)
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. (poszter)

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 (**poszter**)
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 (**poszter**)
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 (**poszter**)
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 (**poszter**)
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 (**poszter**)

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: **6**

ebből az értekezés témájában: 4
ebből az értekezés témájában: 7,521
ebből az értekezés témájában: 6

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőimnek, Dr. Nagy Erzsébet Professzor Asszonynak és Dr. Dékány Imre Professzor Úrnak, hogy munkám során hasznos elméleti és gyakorlati tanácsokkal láttak el. Köszönöm a szakmai beszélgetéseket, amelyekkel fejleszthettem kreatív gondolkodásomat, és a lehetőséget, hogy a dolgozatom témájában további ismereteket szerezhsek hazai és külföldi konferenciák alkalmával. Hálás vagyok, hogy a tudomány mellett az életre is tanítottak.

Köszönettel tartozom a Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, ill. a Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet valamennyi munkatársának, akik témám során a megszámlálhatatlan kérdésemre türelemmel válaszoltak és segítettek a felmerült elméleti, illetve gyakorlati problémák megoldásában.

Nagyon köszönöm a segítségét Juhászné Dr. Csapó Editnek, aki precizitásával óriási segítséget adott a munkámban.

Köszönöm barátaimnak, Dr. Janovák Lászlónak és Dr. Sebők Dánielnek, hogy minden türelmetlenségükkel a céljaim elérése felé vezettek és minden barátomnak, hogy hittek bennem.

Külön köszönettel tartozom feleségemnek, aki szeretetével, megértésével és kitartó gondoskodásával nyugodt körülményeket biztosított a munkám végzéséhez.

Köszönettel tartozom családomnak, akik a nehéz pillanatokban is mellettem álltak, szüleimnek, akik a nevelésem során a tudományos élet szépségeit megmutatták.

És végül köszönöm azoknak, akik már nincsenek közöttünk, Édesanyámnak, aki a legmélyebb szeretetben felnevelt és Bella Péter barátomnak, aki társam volt a biológia tudományának megismerésében.

10. Irodalomjegyzék

- [1] A. Fujishima and K. Honda, "Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode.," *Nature*, vol. 238, no. 5358, pp. 37–8, Jul. 1972.
- [2] D. J. Payne, M. N. Gwynn, D. J. Holmes, and D. L. Pompliano, "Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery.," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 6, no. 1, pp. 29–40, Jan. 2007.
- [3] S. N. Banerjee, T. G. Emori, D. H. Culver, R. P. Gaynes, W. R. Jarvis, T. Horan, J. R. Edwards, J. Tolson, T. Henderson, and W. J. Martone, "Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980–1989," *Am. J. Med.*, vol. 91, no. 3, pp. S86–S89, Sep. 1991.
- [4] C. A. Muto, J. A. Jernigan, B. E. Ostrowsky, H. M. Richet, W. R. Jarvis, J. M. Boyce, and B. M. Farr, "SHEA Guideline for Preventing Nosocomial Transmission of Multidrug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*," *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 24, no. 5, pp. 362–386, May 2003.
- [5] E. C. for D. P. and C. (ECDC)-H. C. U.-E. editorial team, "The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) pilot point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use." European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) - Health Communication Unit.
- [6] Z. Barna and M. Kádár, "The risk of contracting infectious diseases in public swimming pools. A review," *Ann. Ist. Super. Sanita*, vol. 48, no. 4, pp. 374–386, Dec. 2012.
- [7] M. Buonanno, G. Randers-Pehrson, A. W. Bigelow, S. Trivedi, F. D. Lowy, H. M. Spotnitz, S. M. Hammer, and D. J. Brenner, "207-nm UV light - a promising tool for safe low-cost reduction of surgical site infections. I: in vitro studies.," *PLoS One*, vol. 8, no. 10, p. e76968, Jan. 2013.
- [8] A. A. Arrage, T. J. Phelps, R. E. Benoit, and D. C. White, "Survival of subsurface microorganisms exposed to UV radiation and hydrogen peroxide.," *Appl. Envir. Microbiol.*, vol. 59, no. 11, pp. 3545–3550, Nov. 1993.
- [9] S. C. Basak, S. Bertelsen, and G. D. Grunwald, "Use of graph theoretic parameters in risk assessment of chemicals," *Toxicol. Lett.*, vol. 79, no. 1–3, pp. 239–250, Sep. 1995.
- [10] Y. Baba, "[Nanotechnology in medicine].," *Nihon Rinsho.*, vol. 64, no. 2, pp. 189–98, Feb. 2006.
- [11] M. Longmire, P. L. Choyke, and H. Kobayashi, "Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agents: considerations and caveats.," *Nanomedicine (Lond.)*, vol. 3, no. 5, pp. 703–17, Oct. 2008.
- [12] A. C. Joshi, S. K. Haram, and G. B. Markad, *Rudimentary simple method for the decoration of graphene oxide with silver nanoparticles: Their application for the amperometric detection of glucose in the human blood samples*. ScienceWorldlib, 2015.
- [13] *Synthetic Nano-low Density Lipoprotein as Targeted Drug Delivery Vehicle for Glioblastoma Multiforme*. ProQuest, 2007.
- [14] M. M. Arab, A. Yadollahi, M. Hosseini-Mazinani, and S. Bagheri, "Effects of antimicrobial activity of silver nanoparticles on in vitro establishment of G×N15 (hybrid of almond×peach) rootstock," *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 12, no. 2, pp. 103–110, Dec. 2014.
- [15] L. Mei, Z. Lu, W. Zhang, Z. Wu, X. Zhang, Y. Wang, Y. Luo, C. Li, and Y. Jia, "Bioconjugated nanoparticles for attachment and penetration into pathogenic bacteria.," *Biomaterials*, vol. 34, no. 38, pp. 10328–37, Dec. 2013.
- [16] S. Liu, T. H. Zeng, M. Hofmann, E. Burcombe, J. Wei, R. Jiang, J. Kong, and Y. Chen, "Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress.," *ACS Nano*, vol. 5, no. 9, pp. 6971–80, Sep. 2011.
- [17] B. Szalay, E. Tátrai, G. Nyíró, T. Vezér, and G. Dura, "Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in in vivo and in vitro experiments.," *J. Appl. Toxicol.*, vol. 32, no. 6, pp. 446–53, Jun. 2012.
- [18] H. Pingle, P.-Y. Wang, H. Thissen, S. McArthur, and P. Kingshott, "Colloidal crystal based plasma polymer patterning to control *Pseudomonas aeruginosa* attachment to surfaces.," *Biointerphases*, vol. 10, no. 4, p. 04A309, Jan. 2015.
- [19] A. Almaguer-Flores, P. Silva-Bermudez, R. Galicia, and S. E. Rodil, "Bacterial adhesion on amorphous and crystalline metal oxide coatings.," *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, vol. 57, pp. 88–99, Dec. 2015.
- [20] R. A. Sperling and W. J. Parak, "Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles.," *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, vol. 368, no. 1915, pp. 1333–83, Mar. 2010.

- [21] M. L. Saccà, C. Fajardo, M. Nande, and M. Martín, “Effects of nano zero-valent iron on *Klebsiella oxytoca* and stress response.,” *Microb. Ecol.*, vol. 66, no. 4, pp. 806–12, Nov. 2013.
- [22] K.-P. Yu, Y.-T. Huang, and S.-C. Yang, “The antifungal efficacy of nano-metals supported TiO₂ and ozone on the resistant *Aspergillus niger* spore.,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 261, pp. 155–62, Oct. 2013.
- [23] C. Dahms, N.-O. Hübner, F. Wilke, and A. Kramer, “Mini-review: Epidemiology and zoonotic potential of multiresistant bacteria and *Clostridium difficile* in livestock and food.,” *GMS Hyg. Infect. Control*, vol. 9, no. 3, p. Doc21, Jan. 2014.
- [24] R. Nakano, M. Hara, H. Ishiguro, Y. Yao, T. Ochiai, K. Nakata, T. Murakami, J. Kajioka, K. Sunada, K. Hashimoto, A. Fujishima, and Y. Kubota, “Broad Spectrum Microbicidal Activity of Photocatalysis by TiO₂,” *Catalysts*, vol. 3, no. 1, pp. 310–323, Mar. 2013.
- [25] J. K. R. Julie Gorchynski, “Complications of MRSA Treatment: Linezolid-induced Myelosuppression Presenting with Pancytopenia,” *Western Journal of Emergency Medicine*, vol. 9, no. 3. California Chapter of the American Academy of Emergency Medicine (Cal/AAEM), p. 177, 01-Aug-2008.
- [26] A. D. S. Krishna, R. K. Mandraju, G. Kishore, and A. K. Kondapi, “An Efficient Targeted Drug Delivery through Apotransferrin Loaded Nanoparticles,” *PLoS One*, vol. 4, no. 10, p. e7240, Oct. 2009.
- [27] I. Dékány, Ed., *Adsorption and Nanostructure*, vol. 117. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2002.
- [28] X. Zhang, H. Kono, Z. Liu, S. Nishimoto, D. A. Tryk, T. Murakami, H. Sakai, M. Abe, and A. Fujishima, “A transparent and photo-patternable superhydrophobic film,” *Chem. Commun.*, no. 46, p. 4949, Nov. 2007.
- [29] D. Reyes-Coronado, G. Rodríguez-Gattorno, M. E. Espinosa-Pesqueira, C. Cab, R. de Coss, and G. Oskam, “Phase-pure TiO₂ nanoparticles: anatase, brookite and rutile,” *Nanotechnology*, vol. 19, no. 14, p. 145605, Apr. 2008.
- [30] M. Landmann, E. Rauls, and W. G. Schmidt, “The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO₂,” *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 24, no. 19, p. 195503, May 2012.
- [31] H. Yamashita, M. Harada, J. Misaka, M. Takeuchi, Y. Ichihashi, F. Goto, M. Ishida, T. Sasaki, and M. Anpo, “Application of ion beam techniques for preparation of metal ion-implanted TiO₂ thin film photocatalyst available under visible light irradiation: metal ion-implantation and ionized cluster beam method,” *J. Synchrotron Radiat.*, vol. 8, no. Pt 2, pp. 569–71, Mar. 2001.
- [32] I. Ilisz, A. Dombi, K. Mogyorósi, A. Farkas, and I. Dékány, “Removal of 2-chlorophenol from water by adsorption combined with TiO₂ photocatalysis,” *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 39, no. 3, pp. 247–256, Dec. 2002.
- [33] Á. Veres, T. Rica, L. Janovák, M. Dömök, N. Buzás, V. Zöllmer, T. Seemann, A. Richardt, and I. Dékány, “Silver and gold modified plasmonic TiO₂ hybrid films for photocatalytic decomposition of ethanol under visible light,” *Catal. Today*, vol. 181, no. 1, pp. 156–162, Feb. 2012.
- [34] J. Menesi, R. Kekesi, V. Zöllmer, and et al., “Photooxidation of ethanol on Cu-layer silicate/TiO₂ composite thin films,” *React. Kinet. Catal. Lett.*, vol. 96, no. Nr.2, pp. 367–377, 2009.
- [35] R. KUN, K. MOGYOROSI, and I. DEKANY, “Synthesis and structural and photocatalytic properties of TiO₂/montmorillonite nanocomposites,” *Appl. Clay Sci.*, vol. 32, no. 1–2, pp. 99–110, Apr. 2006.
- [36] E. Brun, F. Barreau, G. Veronesi, B. Fayard, S. Sorieul, C. Chanéac, C. Carapito, T. Rabilloud, A. Mabondzo, N. Herlin-Boime, and M. Carrière, “Titanium dioxide nanoparticle impact and translocation through ex vivo, in vivo and in vitro gut epithelia.,” *Part. Fibre Toxicol.*, vol. 11, p. 13, Jan. 2014.
- [37] L. Colla, L. Marinelli, L. Fedele, S. Bobbo, and O. Manca, “Characterization and Simulation of the Heat Transfer Behaviour of Water-Based ZnO Nanofluids.,” *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 15, no. 5, pp. 3599–609, May 2015.
- [38] J. K. Seok, J. Y. Kwak, G. W. Choi, S. M. An, J.-H. Kwak, H.-H. Seo, H.-J. Suh, and Y. C. Boo, “*Scutellaria radix* Extract as a Natural UV Protectant for Human Skin.,” *Phytother. Res.*, Dec. 2015.
- [39] X. Wang, F. Yang, W. Yang, and X. Yang, “A study on the antibacterial activity of one-dimensional ZnO nanowire arrays: effects of the orientation and plane surface,” *Chem. Commun.*, no. 42, p. 4419, Nov. 2007.
- [40] J. Zhang, C. Wang, and C. Bowen, “Piezoelectric effects and electromechanical theories at the nanoscale.,” *Nanoscale*, vol. 6, no. 22, pp. 13314–27, Nov. 2014.
- [41] P. Petkova, A. Francesko, I. Perelshtein, A. Gedanken, and T. Tzanov, “Simultaneous sonochemical-enzymatic coating of medical textiles with antibacterial ZnO nanoparticles.,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 29, pp. 244–50, Mar. 2016.

- [42] Á. Veres, J. Ménesi, Á. Juhász, O. Berkesi, N. Ábrahám, G. Bohus, A. Oszkó, G. Pótári, N. Buzás, L. Janovák, and I. Dékány, "Photocatalytic performance of silver-modified TiO₂ embedded in poly(ethyl-acrylate-co-methyl metacrylate) matrix," *Colloid Polym. Sci.*, vol. 292, no. 1, pp. 207–217, Sep. 2013.
- [43] R. KUN, M. SZEKERES, and I. DEKANY, "Photooxidation of dichloroacetic acid controlled by pH-stat technique using TiO₂/layer silicate nanocomposites," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 68, no. 1–2, pp. 49–58, Oct. 2006.
- [44] I. Ilisz, K. Föglein, and A. Dombi, "The photochemical behavior of hydrogen peroxide in near UV-irradiated aqueous TiO₂ suspensions," *J. Mol. Catal. A Chem.*, vol. 135, no. 1, pp. 55–61, Sep. 1998.
- [45] N. Nakayama and T. Hayashi, "Preparation and characterization of TiO₂ and polymer nanocomposite films with high refractive index," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 105, no. 6, pp. 3662–3672, Sep. 2007.
- [46] X. Zhang, W. Li, and Z. Yang, "Toxicology of nanosized titanium dioxide: an update.," *Arch. Toxicol.*, vol. 89, no. 12, pp. 2207–17, Dec. 2015.
- [47] X. Meng, D. Liu, X. Dai, H. Pan, X. Wen, L. Zuo, and G. Qin, "Novel stable hard transparent conductors in TiO₂-TiC system: design materials from scratch.," *Sci. Rep.*, vol. 4, p. 7503, Jan. 2014.
- [48] S. Natarajan, J. Kumari, D. S. Lakshmi, A. Mathur, M. Bhuvaneshwari, A. Parashar, M. Pulimi, N. Chandrasekaran, and A. Mukherjee, "Differences in antibacterial activity of PMMA/TiO₂/Ag nanocomposite on individual dominant bacterial isolates from packaged drinking water, and their consortium under UVC and dark conditions," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 362, pp. 93–101, Jan. 2016.
- [49] O. Akhavan and E. Ghaderi, "Photocatalytic Reduction of Graphene Oxide Nanosheets on TiO₂ Thin Film for Photoinactivation of Bacteria in Solar Light Irradiation," *J. Phys. Chem. C*, vol. 113, no. 47, pp. 20214–20220, Nov. 2009.
- [50] A. Kumar, A. K. Pandey, S. S. Singh, R. Shanker, and A. Dhawan, "Cellular uptake and mutagenic potential of metal oxide nanoparticles in bacterial cells.," *Chemosphere*, vol. 83, no. 8, pp. 1124–32, May 2011.
- [51] L. V Zhukova, "Evidence for Compression of Escherichia coli K12 Cells under the Effect of TiO₂ Nanoparticles.," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, no. 49, pp. 27197–205, Dec. 2015.
- [52] K. M. Ramkumar, C. Manjula, G. Gnanakumar, M. A. Kanjwal, T. V Sekar, R. Paulmurugan, and P. Rajaguru, "Oxidative stress-mediated cytotoxicity and apoptosis induction by TiO₂ nanofibers in HeLa cells.," *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft für Pharm. Verfahrenstechnik e.V.*, vol. 81, no. 2, pp. 324–33, Jun. 2012.
- [53] A. Mathur, J. Kumari, A. Parashar, L. T, N. Chandrasekaran, and A. Mukherjee, "Decreased Phototoxic Effects of TiO₂ Nanoparticles in Consortium of Bacterial Isolates from Domestic Waste Water.," *PLoS One*, vol. 10, no. 10, p. e0141301, Jan. 2015.
- [54] D. Sharma, A. Huijser, J. Savolainen, G. Steen, and J. L. Herek, "Active and passive control of zinc phthalocyanine photodynamics.," *Faraday Discuss.*, vol. 163, pp. 433–45–43, Jan. 2013.
- [55] H. Shintani, S. Kurosu, A. Miki, F. Hayashi, and S. Kato, "Sterilization efficiency of the photocatalyst against environmental microorganisms in a health care facility.," *Biocontrol Sci.*, vol. 11, no. 1, pp. 17–26, Mar. 2006.
- [56] P. Morganti, "Use and potential of nanotechnology in cosmetic dermatology.," *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, vol. 3, pp. 5–13, Jan. 2010.
- [57] T. Niwa, T. Watanabe, K. Suzuki, H. Hayashi, H. Ohta, A. Nakayama, M. Tsuchiya, K. Yasuda, N. Murakami, and Y. Itoh, "Early optimization of antimicrobial therapy improves clinical outcomes of patients administered agents targeting methicillin-resistant Staphylococcus aureus.," *J. Clin. Pharm. Ther.*, Dec. 2015.
- [58] A. Fiorentino, G. Ferro, M. C. Alferez, M. I. Polo-López, P. Fernández-Ibañez, and L. Rizzo, "Inactivation and regrowth of multidrug resistant bacteria in urban wastewater after disinfection by solar-driven and chlorination processes.," *J. Photochem. Photobiol. B.*, vol. 148, pp. 43–50, Jul. 2015.
- [59] N. C. Soares, P. Spät, J. A. Méndez, K. Nakedi, J. Aranda, and G. Bou, "Ser/Thr/Tyr phosphoproteome characterization of Acinetobacter baumannii: comparison between a reference strain and a highly invasive multidrug-resistant clinical isolate.," *J. Proteomics*, vol. 102, pp. 113–24, May 2014.
- [60] M. Song, R. Zhang, Y. Dai, F. Gao, H. Chi, G. Lv, B. Chen, and X. Wang, "The in vitro inhibition of multidrug resistance by combined nanoparticulate titanium dioxide and UV irradiation.," *Biomaterials*, vol. 27, no. 23, pp. 4230–8, Aug. 2006.
- [61] D. P. Dutta, A. Singh, and A. K. Tyagi, "Ag doped and Ag dispersed nano ZnTiO₃: Improved photocatalytic organic pollutant degradation under solar irradiation and antibacterial activity," *J.*

- Environ. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 4, pp. 2177–2187, Dec. 2014.
- [62] M. Iwasaki, M. Hara, H. Kawada, H. Tada, and S. Ito, “Cobalt Ion-Doped TiO₂ Photocatalyst Response to Visible Light,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 224, no. 1, pp. 202–204, Apr. 2000.
- [63] Q. Li, B. Guo, J. Yu, J. Ran, B. Zhang, H. Yan, and J. R. Gong, “Highly efficient visible-light-driven photocatalytic hydrogen production of CdS-cluster-decorated graphene nanosheets,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 133, no. 28, pp. 10878–84, Jul. 2011.
- [64] T. Ohno, M. Akiyoshi, T. Umebayashi, K. Asai, T. Mitsui, and M. Matsumura, “Preparation of S-doped TiO₂ photocatalysts and their photocatalytic activities under visible light,” *Appl. Catal. A Gen.*, vol. 265, no. 1, pp. 115–121, Jun. 2004.
- [65] T. Ohno, T. Mitsui, and M. Matsumura, “Photocatalytic Activity of S-doped TiO₂ Photocatalyst under Visible Light,” *Chem. Lett.*, vol. 32, no. 4, pp. 364–365, Mar. 2003.
- [66] S. Sato, “Photocatalytic activity of NO_x-doped TiO₂ in the visible light region,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 123, no. 1–2, pp. 126–128, Jan. 1986.
- [67] J. Tang, Z. Zou, and J. Ye, “Efficient photocatalytic decomposition of organic contaminants over CaBi₂O₄ under visible-light irradiation,” *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 43, no. 34, pp. 4463–6, Aug. 2004.
- [68] X. Zong, H. Yan, G. Wu, G. Ma, F. Wen, L. Wang, and C. Li, “Enhancement of photocatalytic H₂ evolution on CdS by loading MoS₂ as cocatalyst under visible light irradiation,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, no. 23, pp. 7176–7177, Jun. 2008.
- [69] J. Keleher, J. Bashant, N. Heldt, L. Johnson, and Y. Li, “Photo-catalytic preparation of silver-coated TiO₂ particles for antibacterial applications,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 18, no. 2, pp. 133–139.
- [70] Y. Liu, X. Wang, F. Yang, and X. Yang, “Excellent antimicrobial properties of mesoporous anatase TiO₂ and Ag/TiO₂ composite films,” *Microporous Mesoporous Mater.*, vol. 114, no. 1–3, pp. 431–439, Sep. 2008.
- [71] A. Mukhopadhyay, S. Basak, J. K. Das, S. K. Medda, K. Chattopadhyay, and G. De, “Ag-TiO₂ nanoparticle codoped SiO₂ films on ZrO₂ barrier-coated glass substrates with antibacterial activity in ambient condition,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 2, no. 9, pp. 2540–6, Sep. 2010.
- [72] T.-S. Wu, K.-X. Wang, G.-D. Li, S.-Y. Sun, J. Sun, and J.-S. Chen, “Montmorillonite-supported Ag/TiO₂ nanoparticles: an efficient visible-light bacteria photodegradation material,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 2, no. 2, pp. 544–50, Feb. 2010.
- [73] B. Yu, K. M. Leung, Q. Guo, W. M. Lau, and J. Yang, “Synthesis of Ag-TiO₂ composite nano thin film for antimicrobial application,” *Nanotechnology*, vol. 22, no. 11, p. 115603, Mar. 2011.
- [74] A. Balamurugan, S. Kannan, and S. Rajeswari, “Evaluation of TiO₂ coatings obtained using the sol-gel technique on surgical grade type 316L stainless steel in simulated body fluid,” *Mater. Lett.*, vol. 59, no. 24–25, pp. 3138–3143, Oct. 2005.
- [75] J.-X. Liu, D.-Z. Yang, F. Shi, and Y.-J. Cai, “Sol-gel deposited TiO₂ film on NiTi surgical alloy for biocompatibility improvement,” *Thin Solid Films*, vol. 429, no. 1–2, pp. 225–230, Apr. 2003.
- [76] G. Villatte, C. Massard, S. Descamps, Y. Sibaud, C. Forestier, and K.-O. Awitor, “Photoactive TiO₂ antibacterial coating on surgical external fixation pins for clinical application,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 10, pp. 3367–75, Jan. 2015.
- [77] A. W. Wren, A. Coughlan, K. E. Smale, S. T. Misture, B. P. Mahon, O. M. Clarkin, and M. R. Towler, “Fabrication of CaO-NaO-SiO₂/TiO₂ scaffolds for surgical applications,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 23, no. 12, pp. 2881–91, Dec. 2012.
- [78] S. B. Vučetić, O. L. Rudić, S. L. Markov, O. J. Bera, A. M. Vidaković, A. S. S. Skapin, and J. G. Ranogajec, “Antifungal efficiency assessment of the TiO₂ coating on façade paints,” *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, vol. 21, no. 19, pp. 11228–37, Oct. 2014.
- [79] H. Shintani, “Effect of Humidity on Sterilization Using Photocatalyst,” *Pharm. Regul. Aff. Open Access*, vol. 3, no. 5, Dec. 2014.
- [80] T. Sawada, T. Sawada, T. Kumasaka, N. Hamada, T. Shibata, T. Nonami, and K. Kimoto, “Self-cleaning effects of acrylic resin containing fluoridated apatite-coated titanium dioxide,” *Gerodontology*, vol. 31, no. 1, pp. 68–75, Mar. 2014.
- [81] I. Ditta, A. Steele, C. Liptrott, J. Tobin, H. Tyler, H. Yates, D. Sheel, and H. Foster, “Photocatalytic antimicrobial activity of thin surface films of TiO₂, CuO and TiO₂/CuO dual layers on Escherichia coli and bacteriophage T4,” *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer Verlag, 21-Oct-2008.
- [82] J. E. Lee and G. Ko, “Norovirus and MS2 inactivation kinetics of UV-A and UV-B with and without TiO₂,” *Water Res.*, vol. 47, no. 15, pp. 5607–13, Oct. 2013.
- [83] J. Lee, K. Zoh, and G. Ko, “Inactivation and UV disinfection of murine norovirus with TiO₂ under

- various environmental conditions.," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 74, no. 7, pp. 2111–7, Apr. 2008.
- [84] M. V Liga, S. J. Maguire-Boyle, H. R. Jafry, A. R. Barron, and Q. Li, "Silica decorated TiO₂ for virus inactivation in drinking water--simple synthesis method and mechanisms of enhanced inactivation kinetics.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 12, pp. 6463–70, Jun. 2013.
- [85] X. Sang, T. G. Phan, S. Sugihara, F. Yagyu, S. Okitsu, N. Maneeakarn, W. E. G. Müller, and H. Ushijima, "Photocatalytic inactivation of diarrheal viruses by visible-light-catalytic titanium dioxide.," *Clin. Lab.*, vol. 53, no. 7–8, pp. 413–21, Jan. 2007.
- [86] R. Xu, X. Liu, P. Zhang, H. Ma, G. Liu, and Z. Xia, "The photodestruction of virus in Nano-TiO₂ suspension," *J. Wuhan Univ. Technol. Sci. Ed.*, vol. 22, no. 3, pp. 422–425, Sep. 2007.
- [87] X. Zheng, D. Chen, zhiwei Wang, Y. Lei, and R. Cheng, "Nano-TiO₂ membrane adsorption reactor (MAR) for virus removal in drinking water," *Chem. Eng. J.*, vol. 230, pp. 180–187, Aug. 2013.
- [88] P. Hajkova, P. Spatenka, J. Horsky, I. Horska, and A. Kolouch, "Photocatalytic Effect of TiO₂ Films on Viruses and Bacteria," *Plasma Process. Polym.*, vol. 4, no. S1, pp. S397–S401, Apr. 2007.
- [89] K. Kowal, P. Cronin, E. Dworniczek, J. Zeglinski, P. Tiernan, M. Wawrzynska, H. Podbielska, and S. A. M. Tofail, "Biocidal effect and durability of nano-TiO₂ coated textiles to combat hospital acquired infections," *RSC Adv.*, vol. 4, no. 38, p. 19945, Apr. 2014.
- [90] M. Radetić, "Functionalization of textile materials with TiO₂ nanoparticles," *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.*, vol. 16, pp. 62–76, Sep. 2013.
- [91] M. J. Uddin, F. Cesano, D. Scarano, F. Bonino, G. Agostini, G. Spoto, S. Bordiga, and A. Zecchina, "Cotton textile fibres coated by Au/TiO₂ films: Synthesis, characterization and self cleaning properties," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 199, no. 1, pp. 64–72, Sep. 2008.
- [92] N. von Goetz, C. Lorenz, L. Windler, B. Nowack, M. Heuberger, and K. Hungerbühler, "Migration of Ag- and TiO₂-(Nano)particles from textiles into artificial sweat under physical stress: experiments and exposure modeling.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 17, pp. 9979–87, Sep. 2013.
- [93] International Standard, "ISO 2409 - Paints and varnishes - Cross-cut test," 2013. [Online]. Available: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=51923. [Accessed: 05-Apr-2016].
- [94] International Standard, "ISO 2409 - Paints and varnishes - Cross-cut test," 2013. [Online]. Available: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=37487.
- [95] C. Kim, H. Park, S. Cha, and J. Yoon, "Facile detection of photogenerated reactive oxygen species in TiO₂ nanoparticles suspension using colorimetric probe-assisted spectrometric method.," *Chemosphere*, vol. 93, no. 9, pp. 2011–5, Nov. 2013.
- [96] D. Wang, L. Zhao, L.-H. Guo, and H. Zhang, "Online detection of reactive oxygen species in ultraviolet (UV)-Irradiated nano-TiO₂ suspensions by continuous flow chemiluminescence.," *Anal. Chem.*, vol. 86, no. 21, pp. 10535–9, Nov. 2014.
- [97] F. A. (Frank A. Cotton and F. A. (Frank A. Cotton, *Advanced inorganic chemistry*. Wiley, 1999.
- [98] E. K. Hodgson and I. Fridovich, "THE ROLE OF O₂ - IN THE CHEMILUMINESCENCE OF LUMINOL*," *Photochem. Photobiol.*, vol. 18, no. 6, pp. 451–455, Dec. 1973.
- [99] H. W. Schneider, "A new, long-lasting luminol chemiluminescent cold light," *J. Chem. Educ.*, vol. 47, no. 7, p. 519, Jul. 1970.
- [100] C. A. Isoni, E. A. Borges, C. A. Veloso, R. T. Mattos, M. M. Chaves, and J. A. Nogueira-Machado, "cAMP activates the generation of reactive oxygen species and inhibits the secretion of IL-6 in peripheral blood mononuclear cells from type 2 diabetic patients.," *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2, no. 5, pp. 317–21, Jan. .
- [101] V. M. Lee, P. A. Quinn, S. C. Jennings, and L. L. Ng, "Neutrophil activation and production of reactive oxygen species in pre-eclampsia.," *J. Hypertens.*, vol. 21, no. 2, pp. 395–402, Feb. 2003.
- [102] *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- [103] B. S. Winkler, M. E. Boulton, J. D. Gottsch, and P. Sternberg, "Oxidative damage and age-related macular degeneration.," *Mol. Vis.*, vol. 5, p. 32, Nov. 1999.
- [104] H. Suzuki, Y. Nishimura, S. Yasuda, A. Nishimura, M. Yamada, and Y. Hirota, "Murein-lipoprotein of Escherichia coli: a protein involved in the stabilization of bacterial cell envelope.," *Mol. Gen. Genet.*, vol. 167, no. 1, pp. 1–9, Nov. 1978.
- [105] A. Ursinus, F. van den Ent, S. Brechtel, M. de Pedro, J.-V. Höltje, J. Löwe, and W. Vollmer, "Murein (peptidoglycan) binding property of the essential cell division protein FtsN from Escherichia coli.," *J. Bacteriol.*, vol. 186, no. 20, pp. 6728–37, Oct. 2004.
- [106] J. Royet and R. Dziarski, "Peptidoglycan recognition proteins: pleiotropic sensors and effectors of antimicrobial defences.," *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 5, no. 4, pp. 264–77, Apr. 2007.
- [107] J. van Heijenoort, "Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan.,"

- Glycobiology*, vol. 11, no. 3, p. 25R–36R, Mar. 2001.
- [108] F. Sifaoui, M. Arthur, L. Rice, and L. Gutmann, “Role of Penicillin-Binding Protein 5 in Expression of Ampicillin Resistance and Peptidoglycan Structure in *Enterococcus faecium*,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, no. 9, pp. 2594–2597, Sep. 2001.
- [109] B. L. de Jonge, F. B. Wientjes, I. Jurida, F. Driehuis, J. T. Wouters, and N. Nanninga, “Peptidoglycan synthesis during the cell cycle of *Escherichia coli*: composition and mode of insertion,” *J. Bacteriol.*, vol. 171, no. 11, pp. 5783–94, Nov. 1989.
- [110] B. Glauner, “Separation and quantification of mucopeptides with high-performance liquid chromatography,” *Anal. Biochem.*, vol. 172, no. 2, pp. 451–464, Aug. 1988.
- [111] J. Krýsa, E. Musilová, and J. Zita, “Critical assessment of suitable methods used for determination of antibacterial properties at photocatalytic surfaces,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 195, pp. 100–6, Nov. 2011.
- [112] J. A. Myers, B. S. Curtis, and W. R. Curtis, “Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density,” *BMC Biophys.*, vol. 6, no. 1, p. 4, Jan. 2013.
- [113] C.-L. Cheng, D.-S. Sun, W.-C. Chu, Y.-H. Tseng, H.-C. Ho, J.-B. Wang, P.-H. Chung, J.-H. Chen, P.-J. Tsai, N.-T. Lin, M.-S. Yu, and H.-H. Chang, “The effects of the bacterial interaction with visible-light responsive titania photocatalyst on the bactericidal performance,” *J. Biomed. Sci.*, vol. 16, p. 7, Jan. 2009.
- [114] E. de Boer, J. T. M. Zwartkruis-Nahuis, B. Wit, X. W. Huijsdens, A. J. de Neeling, T. Bosch, R. A. A. van Oosterom, A. Vila, and A. E. Heuvelink, “Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 134, no. 1–2, pp. 52–6, Aug. 2009.
- [115] “ISO 11348-3:2007 - Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) -- Part 3: Method using freeze-dried bacteria.” [Online]. Available: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=40518. [Accessed: 06-Apr-2016].
- [116] N. Strigul, L. Vaccari, C. Galdun, M. Wazne, X. Liu, C. Christodoulatos, and K. Jasinkiewicz, “Acute toxicity of boron, titanium dioxide, and aluminum nanoparticles to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*,” *Desalination*, vol. 248, no. 1–3, pp. 771–782, Nov. 2009.
- [117] L. Liu, J. Barford, K. L. Yeung, and G. Si, “Non-UV based germicidal activity of metal-doped TiO₂ coating on solid surfaces,” *J. Environ. Sci. (China)*, vol. 19, no. 6, pp. 745–50, Jan. 2007.
- [118] G. Zhao and S. E. Stevens, “Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion,” *Biometals*, vol. 11, no. 1, pp. 27–32, Jan. 1998.
- [119] W. J. Schreurs and H. Rosenberg, “Effect of silver ions on transport and retention of phosphate by *Escherichia coli*,” *J. Bacteriol.*, vol. 152, no. 1, pp. 7–13, Oct. 1982.
- [120] T. Preočanin and N. Kallay, “Point of Zero Charge and Surface Charge Density of TiO₂ in Aqueous Electrolyte Solution as Obtained by Potentiometric Mass Titration,” *Croatica Chemica Acta*. Hrvatsko kemijsko društvo, 15-May-2006.
- [121] J. Cheng and M. Sprik, “Acidity of the Aqueous Rutile TiO₂(110) Surface from Density Functional Theory Based Molecular Dynamics,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 6, no. 3, pp. 880–9, Mar. 2010.
- [122] F. C. Neuhaus and J. Baddiley, “A continuum of anionic charge: structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria,” *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, vol. 67, no. 4, pp. 686–723, Dec. 2003.
- [123] J. Weiss, M. Victor, and P. Elsbach, “Role of charge and hydrophobic interactions in the action of the bactericidal/permeability-increasing protein of neutrophils on gram-negative bacteria,” *J. Clin. Invest.*, vol. 71, no. 3, pp. 540–9, Mar. 1983.
- [124] A. J. Kora and J. Arunachalam, “Assessment of antibacterial activity of silver nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* and its mechanism of action,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 27, no. 5, pp. 1209–1216, Sep. 2010.
- [125] “ISO 27447:2009 - Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) -- Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials.” [Online]. Available: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=44156. [Accessed: 06-Apr-2016].

A referencialistát Mendeley 1.16.1 referencia kezelő szoftver segítségével készítettem el.