

Streszczenie pracy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Pietrzak
Praca doktorska wykonana pod opieką dr hab. Beaty Gutarowskiej, prof. nadzw.

Nanosrebro jako mikrobiocyd do dezynfekcji materiałów technicznych

Rozprawa doktorska jest spójnym tematycznie zbiorem siedmiu artykułów w czasopismach naukowych (International Biodeterioration and Biodegradation – 2 publikacje, Metallomics, Acta Biochimica Polonica, Textile Research Journal, Current Nanoscience, Journal of Cultural Heritage) posiadających 5-letni współczynnik wpływu (Impact Factor) wynoszący sumarycznie 14,674. Udział procentowy w zebranych publikacjach wynosi od 56,7% do 80,0%.

Brak badań dotyczących mechanizmów działania nanocząstek srebra (AgNPs) na grzyby strzępkowe oraz potrzeba znalezienia nowej, alternatywnej do istniejących metody dezynfekcji obiektów zabytkowych, były podstawą do postawienia celu rozprawy doktorskiej, który obejmował ustalenie wrażliwości drobnoustrojów wyizolowanych z muzeów, biblioteki i archiwum na nanocząstki srebra oraz określenie mechanizmów ich działania na grzyby strzępkowe. Ponadto badania zmierzały do optymalizacji metody zamgławiania nanocząstkami srebra i zastosowania jej do dezynfekcji materiałów technicznych i obiektów zabytkowych.

W pierwszym etapie ustalono szereg wrażliwości drobnoustrojów wyizolowanych z muzeów, archiwum i biblioteki na nanocząstki srebra (od najbardziej wrażliwych): bakterie z rodzajów *Escherichia*, *Sphingomonas* i *Nocardia*, drożdże *Candida* sp. i *Rhodotorula* sp., grzyby strzępkowe z rodzajów *Alternaria*, *Cladosporium* i *Mucor*, bakterie *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp. i *Staphylococcus* sp. oraz grzyby strzępkowe z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Rhizopus*. Stwierdzono, iż dezynfekcja AgNPs jest skuteczniejsza wobec form wegetatywnych drobnoustrojów, niż przetrwalników bakterii i zarodników grzybów strzępkowych. Niższą wrażliwością na AgNPs charakteryzują się drobnoustroje wyizolowane ze środowisk muzealnych, w porównaniu do drobnoustrojów pochodzących z kolekcji czystych kultur. Grzyby strzępkowe, odpowiedzialne za biodeteriorację obiektów zabytkowych, należą do mikroorganizmów wrażliwych na nanosrebro. Czas potrzebny do zahamowania ich wzrostu w wyniku działania AgNPs (stężenie 45 ppm, ϕ 10-80 nm) jest krótszy o 3-5 godzin w porównaniu do bakterii.

W drugim etapie wykonano badania dotyczące wpływu nanocząstek srebra na grzyby strzępkowe. Wykazano istotne zmiany morfologiczne pod wpływem AgNPs, m.in. plazmolizę, skrócenie strzępek grzybni oraz wielokierunkowe zmiany w ultrastrukturze komórkowej: wakuolizację, zagęszczenie struktur błoniastych, akumulację materiału lipidowego, deformację i rozpad organelli, w tym jądra komórkowego, kondensację i fragmentację chromatyny, tworzenie ciałek apoptotycznych oraz wewnętrznej przegrody komórkowej. Na podstawie badania metabolomu pleśni stwierdzono tworzenie w ich komórkach adduktów srebrowych z wieloma związkami, m.in. koenzymem A, fenyloglicyną, peptydem LeuSerAlaLeuGlu, monoglicerydami i glicerofosfolipidami oraz eliminowanie lub ograniczanie aktywności wielu metabolitów. Ponadto, AgNPs zmniejszały produkcję kwasów organicznych (m.in. cytrynowego, szczawiowego, bursztynowego i jabłkowego) oraz mikotoksyn (m.in. Fumonizyny B1, Aflatoksyn B1, B2, G1, G2 i Ochrotoksyny A), a także zmieniały profil enzymów zewnątrzkomórkowych oraz obniżały ogólną cytotoksyczność badanych grzybów strzępkowych.

W trzecim etapie badawczym wykonano optymalizację warunków dezynfekcji metodą zamglawiania nanocząstkami srebra materiałów technicznych. Wykazano, że proces dezynfekcji z zastosowaniem zamglawiania nanocząstkami srebra (ϕ 10-80 nm) w zaprojektowanej komorze dezynfekcyjnej jest najefektywniejszy przy parametrach: czas 8 godzin, stężenie preparatu 90 ppm i horyzontalno – wertykalnym ustawieniu dysz natryskujących. Zaleca się również kilkugodzinne wstępne kondycjonowanie dezynfekowanego materiału w podwyższonej wilgotności względnej powietrza w celu aktywacji form przetrwalnych drobnoustrojów. Ustalona w badaniach ilość nanocząstek srebra osadzonych podczas dezynfekcji zależy od rodzaju materiału technicznego i wynosi od 1,2 do 7,0 ppm. Najwyższą skuteczność dezynfekcji AgNPs (65-92%) można uzyskać na materiałach celulozowych (len, bawełna, papier sosnowy i świerkowy), najniższą (62-67%) uzyskuje się na drewnie, skórze, jedwabiu i wełnie. Podwyższenie wilgotności masowej materiałów technicznych do poziomu 84% dla tkanin i 40% dla papieru, zwiększa istotnie skuteczność dezynfekcji AgNPs. Powyżej tych wartości nie obserwuje się zwiększenia efektywności procesu. Zamglawianie nanocząstkami srebra zabezpiecza materiały techniczne przed rozwojem drobnoustrojów przez okres co najmniej 3 miesięcy. Po tym czasie liczba drobnoustrojów na zabezpieczonym materiale była niższa o 32-93%, w porównaniu do powierzchni niepoddanych działaniu AgNPs.

Badania dotyczące bezpieczeństwa procesu zamglawiania nanocząstkami srebra dla środowiska i pracownika wykazały, że w trakcie procesu zamglawiania AgNPs w komorze dezynfekcyjnej należy zachować ostrożność i stosować środki ochrony osobistej podczas 8-godzinnego czasu pracy, ze względu na przekroczenie limitu stężenia nanocząstek węgla w powietrzu ustalonych przez Amerykańską Administrację ds. Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (OSHA).

Czwarty etap badań, dotyczący określenia wpływu metody zamglawiania nanocząstkami srebra na zmiany parametrów mechanicznych i optycznych różnych materiałów technicznych pozwolił stwierdzić, że dezynfekcja AgNPs nie powoduje istotnych zmian wytrzymałości mechanicznej (wydłużenia, siły zrywającej, wskaźnika zerwania i przedarcia, naprężenia niszczącego) i parametrów barwy (białości R457, CIE L*a*b*, ΔE) badanych materiałów technicznych (papieru, drewna, bawełny, wełny). Dezynfekcja AgNPs nie jest wskazana dla materiałów, takich jak jedwab, skóra, papier świerkowy w szczególności sztucznie starzonych i zabytkowych, ze względu na zmiany parametrów barwy.

W ostatnim, piątym etapie badań wykonano dezynfekcję AgNPs obiektów zabytkowych (fragmentów drewnianej podłogi, papierowej mapy, pergaminu, krajki z lnianego płótna obrazu oraz prekolumbijskich tkanin wełnianych, bawełnianych i sizalowych), wykazując, że proces ma działanie hamujące wzrost bakterii i grzybów (30,1-99,9%) i nie powoduje zmian w strukturze chemicznej oraz pH materiałów tekstylnych.

Opracowana w ramach rozprawy doktorskiej metoda zamglawiania nanocząstkami srebra materiałów technicznych, w tym wybranych materiałów zabytkowych, może w przyszłości stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych metod dezynfekcji, ze względu na wysoką skuteczność hamowania wzrostu drobnoustrojów oraz brak negatywnego wpływu na parametry mechaniczne i barwę materiału.