

# Znaczenie procesów fotokatalitycznych $\text{TiO}_2/\text{UV}$ , $\text{ZnO}/\text{UV}$ i $\text{MgO}/\text{UV}$ w inaktywacji czynników zakaźnych

JANUSZ BOGDAN, AGNIESZKA JACKOWSKA-TRACZ,  
JOANNA ZARZYŃSKA, JOANNA PŁAWIŃSKA-CZARNAK

Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-766 Warszawa

Otrzymano 05.02.2014

Zaakceptowano 18.03.2014

Bogdan J., Jackowska-Tracz A., Zarzyńska J., Pławińska-Czarnak J.  
**Importance of  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ,  $\text{ZnO}/\text{UV}$  and  $\text{MgO}/\text{UV}$  photocatalytic processes  
in the inactivation of infectious agents**

## Summary

In hospitals, veterinary clinics and food processing plants, infectious agents have emerged that are increasingly resistant to applied drugs and disinfection procedures. Therefore, at present it is even more vital to develop and implement new, more effective methods of their inactivation. An example of the most recent solutions in this field is the application of photocatalysis. Among those processes of photocatalysis that have been most studied in the context of their ability to eradicate viruses, prions, bacteria and moulds are  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ,  $\text{ZnO}/\text{UV}$  and  $\text{MgO}/\text{UV}$ , where, respectively, titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ), zinc oxide ( $\text{ZnO}$ ) and magnesium oxide ( $\text{MgO}$ ) are used as photocatalysts after they have been powdered into nanoparticles (NPs), whereby the ultraviolet radiation (UV) is used as an agent generating free radicals. Nano-sized oxides of titanium, zinc and magnesium are applied to create thin photocatalytic films covering various surfaces that thereby display self-disinfecting properties. The susceptibility of infectious agents to photocatalytic processes presents the following order: (viruses = prions) > gram-negative bacteria > gram-positive bacteria > yeasts > moulds. In the light of the most recent studies, photocatalysis seems to be a very promising tool to help overcome problems related to hygiene and public health protection.

**Keywords:** photocatalysis, reactive oxygen species, viruses, prions, bacteria, yeasts, moulds

Wzmoczone zainteresowanie ditlenkiem tytanu ( $\text{TiO}_2$ ) w przemyśle obserwowane jest od początku XX w. Wówczas barwnik ten zaczęto wykorzystywać do zastępowania toksycznych związków ołowiu stosowanych w wytwarzaniu farb i lakierów. W 2013 r. światowa produkcja  $\text{TiO}_2$ , który – rozdrobniony do mikrocząstek ( $0,1 < \phi \leq 100 \mu\text{m}$ ) – jest bezwonny i amorficzny proszkiem o nieskazitelnie białej barwie, wyniosła ok. 6,2 miliona ton (37), a jego zastosowanie jako białego pigmentu, zwanego potocznie bielą tytanową, pozostaje szerokie. Związek ten używany jest m.in. w produkcji: farb (9), tworzyw sztucznych (10), środków do pielęgnacji ciała (26), artykułów spożywczych (jako barwnik E-171) (12). W przemyśle farbiarskim wykorzystywany jest również tlenek cynku ( $\text{ZnO}$ ), zwany popularnie bielą cynkową. Z kolei tlenek magnezu ( $\text{MgO}$ ), znany pod nazwą magnezji palonej, znajduje zastosowanie w sektorze budowlanym jako składnik cementu.

Każdy z ww. tlenków po rozdrobnieniu do nanocząstek (NPs) ( $1 < \phi \leq 100 \text{nm}$ ) zyskuje niewykazywane wcześniej właściwości fotokatalityczne (52). Dzięki nim nanometryczne tlenki tytanu (nano- $\text{TiO}_2$ ) (13, 43),

cynku (nano- $\text{ZnO}$ ) (28, 60) i magnezu (nano- $\text{MgO}$ ) (11, 24) wykorzystuje się do tworzenia powierzchni fotokatalitycznych, na których inaktywowane są wirusy, bakterie, drożdże i pleśnie. Powierzchnie pokryte cienkimi warstwami fotokatalitycznie aktywnych nanomateriałów (nanomaterials, NMs) określane są terminem powierzchni samodezynfekujących (self-disinfecting surfaces) (9, 15, 24). Uważa się, że wprowadzenie ich do przemysłu spożywczego, produkcji zwierzęcej czy medycyny weterynaryjnej przyczyni się do zmniejszenia liczby zatruc i zakażeń pokarmowych, poprawienia dobrostanu zwierząt, polepszenia warunków zoohigienicznych ich bytowania, jak również do zwiększenia skuteczności terapii antybiotykowych.

## Właściwości fotokatalityczne tlenków tytanu, cynku i magnezu

Właściwości fotokatalityczne nanometrycznych tlenków tytanu, cynku i magnezu zapewnia ich struktura elektronowa. Mają one obsadzone elektronami pasmo podstawowe, zwane również walencyjnym (valence band, VB) i nieobsadzone pasmo przewodnictwa

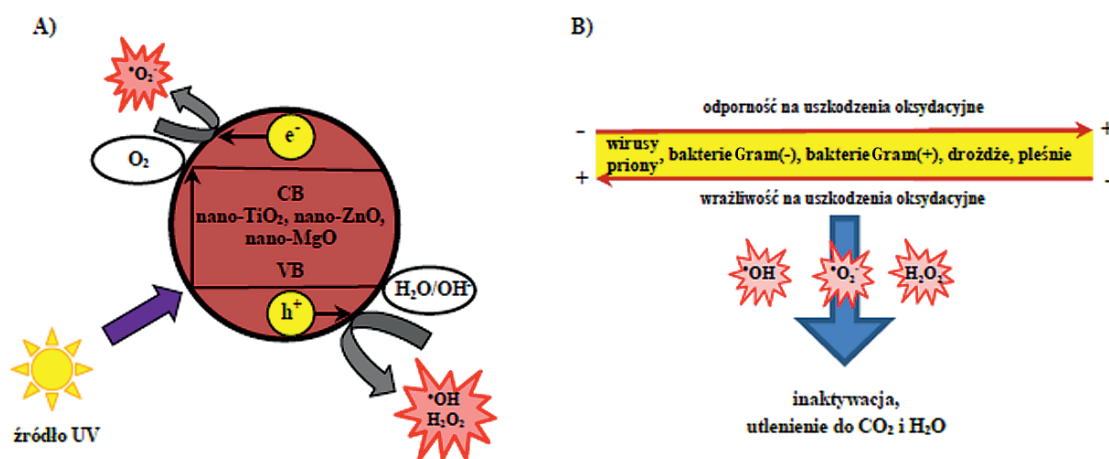
(conduction band, CB). Różnica energii ( $\Delta E$ ) między tymi pasmami, definiowana jako pasmo wzbronione (band gap), to ilość energii, którą trzeba dostarczyć, aby elektron przemieścił się z jednego pasma (VB) do drugiego (CB). Dla nanocząstek  $\text{TiO}_2$  (brukit),  $\text{TiO}_2$  (anataz),  $\text{TiO}_2$  (rutyl),  $\text{ZnO}$  i  $\text{MgO}$  szerokość pasma

wzbronionego wynosi – odpowiednio – 2,9, 3,0, 3,2, 3,4 i 7,8 eV. Energia ta dostarczana jest przez fotony promieniowania elektromagnetycznego o długości fali  $\lambda < 400$  nm. W eksperymentach biologicznych do wzbudzenia fotoaktywnych tlenków metali wykorzystuje się głównie, bezpieczne dla zdrowia człowieka, promieniowanie z zakresu bliskiego ultrafioletu (UV-A,  $\lambda = 315-400$  nm) (32). Za jego sprawą elektron ( $e^-$ ) przechodzi do pasma przewodnictwa, pozostawiając w paśmie walencyjnym dodatnio naładowaną „dziurę elektronową” ( $h^+$ ) i tworząc tym samym swoistą parę „dziura–elektron” ( $h^+ + e^-$ ) (14). Ten wysoce niestabilny stan, zwany ekscytorem (exciton), przejawia silne właściwości utleniająco-redukujące. Dodatnio naładowane „dziury elektronowe” oraz wzbudzone elektrony reagują z cząsteczkami wody, jonami hydroksylowymi lub molekularnym tlenem prowadząc do powstawania reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species, ROS), m.in. rodników hydroksylowych ( $\cdot\text{OH}$ ), anionorodników ponadtlenkowych ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), molekuł nadtlenu wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (14) (ryc. 1A).

ROS inaktywują groźne dla zdrowia ludzi i zwierząt patogeny, takie jak: wirus zapalenia wątroby typu B (59), *Escherichia coli* (7), *Staphylococcus aureus* (19), *Candida albicans* (1), *Aspergillus niger* (40). Dzięki właściwościom fotokatalitycznym nanometryczne tlenki tytanu, cynku i magnezu mogą być również wykorzystywane w opierających się na procesach zaawansowanego utleniania (advanced oxidation processes, AOPs) metodach rozkładu zanieczyszczeń biologicznych (17, 21, 53) (ryc. 1B).

### Wykorzystanie ditlenku tytanu do inaktywacji wirusów, prionów, drożdży i pleśni

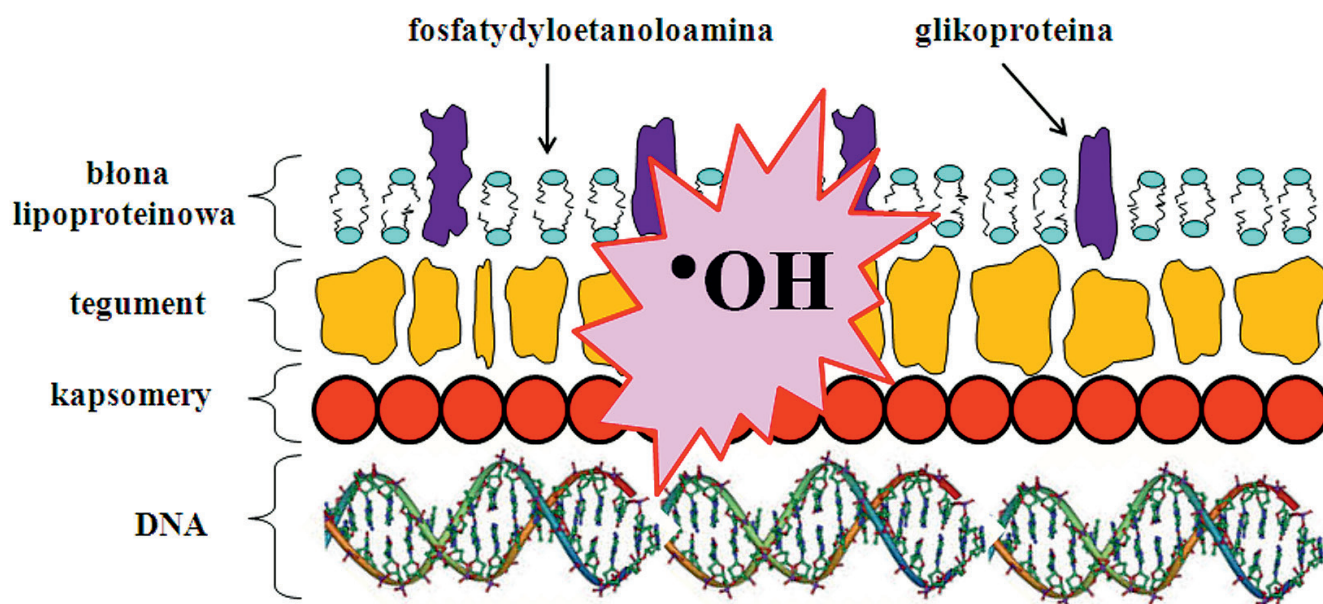
Nanocząstki ditlenku tytanu w środowisku wodnym wykazują nie tylko właściwości przeciwbakteryjne (3, 8, 19), ale i działanie antywirusowe (27, 34). Przeprowadzono liczne badania, z których wynika, że fotokataliza  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  stanowi narzędzie skutecznie niszczące wiele wirusów, takich jak: wirus opryszczki pospolitej typu 1 (41), wirus zapalenia wątroby typu B (59), rotawirus A (44), wirus polio (22), wirus ptasiej



Ryc. 1. Mechanizm powstawania reaktywnych form tlenu na powierzchni nanocząstek tlenków tytanu, cynku i magnezu (A) oraz skutki ich działania na wirusy, priony, bakterie i grzyby (B)

grypy typu H5N2 (17), a także fagów *Escherichia coli*, np. MS2 (6, 33) i T4 (25, 54). W minionej dekadzie choroby wirusowe przenoszone drogą powietrzną kilkakrotnie w poważnym stopniu zagrożiły zdrowiu i życiu wielu ludzi. Ich przykładami są: zespół ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (severe acute respiratory syndrome, SARS), który po raz pierwszy pojawił się w Chinach w 2003 r., oraz epidemia grypy, która rozszerzyła się na cały świat w 2009 r., osiągając niemal charakter pandemii. Zdaniem Knight (31), procesy zaawansowanego utleniania zachodzące na powierzchniach pokrytych nanometrycznym  $\text{TiO}_2$  i poddanych działaniu promieniowania UV-A mogą efektywnie ograniczać rozprzestrzenianie się wirusa SARS. Niespecyficzny charakter reakcji wolnorodnikowych daje podstawy przypuszczać, że fotokataliza  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  mogłaby skutecznie ograniczyć szerzenie się również wielu innych wirusów, np.: grypy, świnki, odry, różyczki, ospy czy zapalenia opon mózgowych. Mazurkova i wsp. (39) wykazali, że na powierzchni pokrytej nano- $\text{TiO}_2$  dochodziło do całkowitej inaktywacji wirusa grypy już po 30 sek. od momentu wzbudzenia  $\text{TiO}_2$  promieniowaniem UV-A. Zdaniem Cho i wsp. (7), sugeruje to wyższą w porównaniu z bakteriami wrażliwość wirusów na procesy fotokatalityczne.

Mechanizm inaktywacji wirusów z udziałem procesów zaawansowanego utleniania jest dość słabo poznany (56). Kashige i wsp. (29) sugerują, że inaktywacja przy pomocy fotokatalizy  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  infekującego *Lactobacillus casei* faga PI-1 jest spowodowana przede wszystkim uszkodzeniem białek kapsydu przez rodniki hydroksylowe i anionorodniki ponadtlenkowe. W następnej kolejności – zdaniem autorów – dochodzi do fragmentacji DNA wirusa. Podobnego zdania są Jolley i wsp. (27) oraz Lee i wsp. (34). Według Xu i wsp., (54) wirusy nagie są bardziej podatne na działanie rodników wodorotlenowych niż wirusy osłonkowe. Ich materiał nukleinowy oddzielony jest od środowiska zewnętrznego jedynie cienką strukturą kapsydu. W przypadku wirusów osłonkowych nukleokapsyd „zabezpieczony” jest przed czynnikami zewnętrznymi dodatkową strukturą zbudowaną z przejętej od komór-



Ryc. 2. Wrażliwość (wyrażona wielkością symbolu ) poszczególnych warstw osłonki otaczającej DNA wirusa opryszczki pospolitej typu 1 na uszkodzenia powodowane przez rodniki hydroksylowe

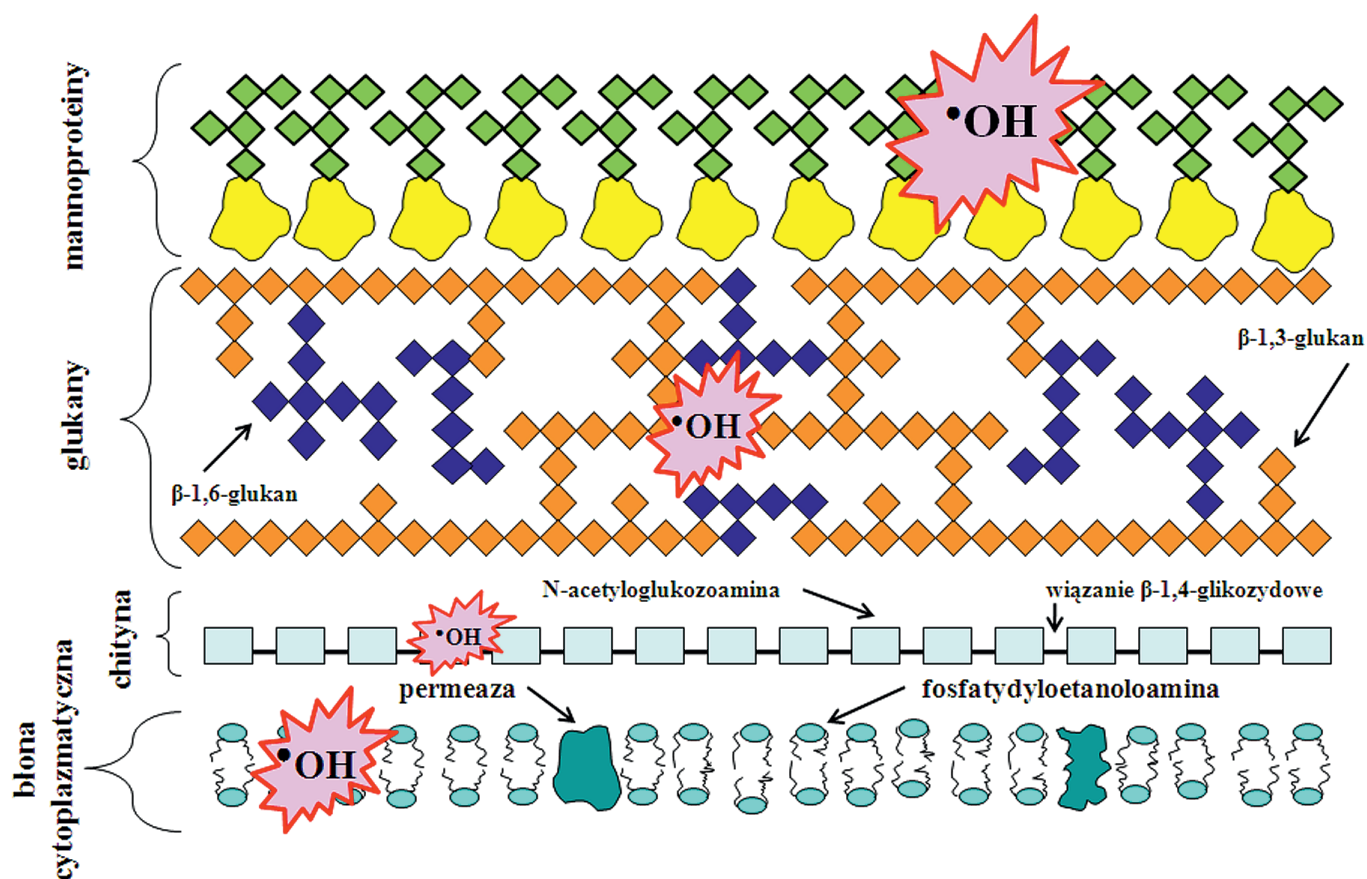
ki gospodarza błony lipidowej i wytworzonych przez wirus glikoprotein. W budowie herpeswirusów wyróżnia się ponadto białkowy tegument (41). Jolley i wsp. (27) twierdzą, że różnice pomiędzy wirusami nagimi a osłonkowymi we wrażliwości na procesy fotokatalityczne wynikają w większym stopniu z różnej grubości otoczki oddzielającej materiał nukleinowy wirusa od środowiska zewnętrznego, aniżeli z wrażliwości na uszkodzenia oksydacyjne poszczególnych jej warstw (ryc. 2).

Reaktywne formy tlenu, które powstają na powierzchni nanocząstek  $\text{TiO}_2$  poddanych działaniu promieniowania UV-A, utleniają także białkowe czynniki infekcyjne, tzw. priony. Paspaltsis i wsp. (42) obserwowali całkowitą degradację  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  (białka powodującego chorobę kłusową kóz i owiec – scrapie) po 6 min. naświetlania promieniowaniem UV-A w obecności 0,4% P-25 (połączenie dwóch form polimorficznych ditlenku tytanu – anatazu i rutyli, zmieszanych ze sobą w proporcji 4 : 1). Autorzy ci stwierdzili jednocześnie, że rozkład  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  – białka komórkowego nie wywołującego choroby – następował już po 2 min. procesu  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ . Większą odporność  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  na oksydacyjne działanie reaktywnych form tlenu tłumaczy się prawdopodobnie różnicami w strukturze II-rzędowej tego białka, które nadają mu odmienne właściwości fizykochemiczne. Paspaltsis i wsp. (42) podkreślają, że struktura przestrzenna  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  wciąż pozostaje hipotetyczna. Niemożliwe jest bowiem – z uwagi na nierozpuszczalność w wodzie – poddanie  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  badaniu z użyciem spektrometrii magnetycznego rezonansu jądrowego (Nuclear Magnetic Resonance, NMR).

Drożdże i pleśnie – wraz z innymi czynnikami biologicznymi, a także chemicznymi i fizycznymi – stanowią o jakości powietrza w pomieszczeniach. Zanieczyszczenia budynków wielokrotnie są przyczyną

złego samopoczucia przebywających w nich osób (sick building syndrome) (18). Alergie, astma czy infekcje dróg oddechowych to tylko nieliczne z wielu dolegliwości, które wynikają z obecności grzybów i innych mikroorganizmów w przestrzeniach zamkniętych. Uważa się, że procesy zaawansowanego utleniania zachodzące na powierzchniach pokrytych nanometrycznym ditlenkiem tytanu mogą stanowić narzędzie skutecznie ograniczające szerzenie się nie tylko uciążliwych dla zdrowia ludzi i zwierząt wirusów czy bakterii, ale także drożdży i pleśni (40, 55).

Pierwsze badania oceny skuteczności fotokatalizy  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  w inaktywacji drożdży zostały przeprowadzone w 1985 r. przez Matsunga i wsp. (38). Wykazały one, że ilość zainaktywowanych komórek *Saccharomyces cerevisiae* po 120 min. naświetlania ich promieniowaniem UV-A wzrosła z 72% do blisko 98% wskutek zastosowania nano- $\text{TiO}_2$ . Działanie grzybobójcze nanometrycznego ditlenku tytanu potwierdzono także na przykładzie innego przedstawiciela drożdży – *Candida albicans* (40, 47). W przypadku obydwu gatunków formy wegetatywne charakteryzowały się wyraźnie większą niż przetrwalniki wrażliwością na AOPs (47). Wyniki wielu badań podkreślają mniejszą w porównaniu z bakteriami wrażliwość drożdży na procesy fotokatalityczne (35, 47). Reakcję tę tłumaczy się różnicami w budowie ściany komórkowej tych mikroorganizmów. Miejsce obecne w ścianie komórkowej bakterii, mało podatnego na uszkodzenia oksydacyjne peptydoglikanu (peptidoglycan, PG) (30) zajęła u grzybów chityna – związek jeszcze bardziej odporny na utleniające działanie ROS (1). Jest to liniowy polisacharyd złożony ze 100-160 reszt N-acetyloglukozoaminy połączonych wiązaniami  $\beta$ -1,4-glikozydowymi. U drożdży wielocukier ten stanowi zaledwie 1-3% s.m. ściany komórkowej i obecny jest w głębszych jej warstwach. Główne składniki ściany



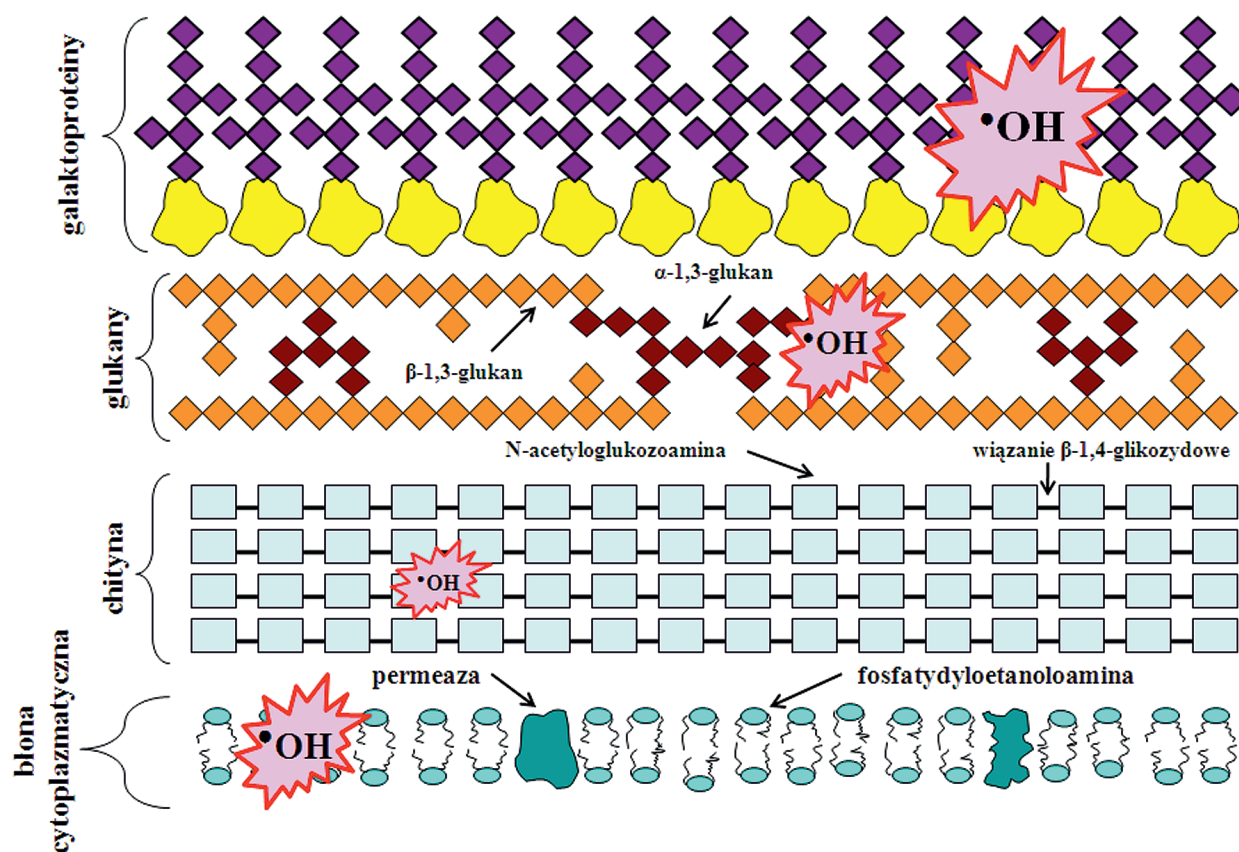
Ryc. 3. Wrażliwość (wyrażona wielkością symbolu  $\star$ ) poszczególnych warstw ściany komórkowej drożdży na uszkodzenia powodowane przez rodniki hydroksylowe

komórkowej drożdży to – tylko nieznacznie ustępujące chitynie pod względem odporności na oksydacyjne działanie rodników hydroksylowych – polisacharydy z grupy glukanów. Są nimi słabo rozgałęziony i dominujący  $\beta$ -1,3-glukan oraz znacznie silniej rozgałęziony, pozostający w mniejszości  $\beta$ -1,6-glukan. Zewnętrzna część ściany komórkowej drożdży zbudowana jest głównie z dość wrażliwych na uszkodzenia oksydacyjne mannoprotein – połączeń białkowo-cukrowych, stanowiących ok. 40% s.m. ściany komórkowej. Zbliżoną do mannoprotein podatnością na uszkodzenia oksydacyjne charakteryzuje się granicząca z cytozolem i zbudowana przede wszystkim z fosfatydyloetanolaminy (phosphatidylethanolamine, PE) błona cytoplazmatyczna (35) (ryc. 3).

Inaktywujące działanie wzbudzonego nano-TiO<sub>2</sub> obserwowano również w stosunku do wielu przedstawicieli pleśni (grzybów strzępkowych), m.in. *Fusarium verticillioides* (48), *Aspergillus niger* (40, 47, 58), *Penicillium expansum* (36).

Chen i wsp. (5) stwierdzili, że wrażliwość pleśni na reakcje wolnorodnikowe zachodzące na powierzchni nanometrycznego TiO<sub>2</sub> jest znacznie mniejsza niż wirusów, bakterii, a nawet drożdży. Autorzy ci potrzebowali aż 20 dni, aby zahamować przy pomocy promieniowania UV-A wzrost grzybni *Aspergillus niger* porastającej wilgotne drewno pokryte cienką warstwą nano-TiO<sub>2</sub>. Mimo tak długiego czasu napromieniowywania w obec-

ności fotokatalitycznie aktywnego ditlenku tytanu przetrwalniki grzyba pozostały żywotne. Po usunięciu źródła promieniowania obserwowano kiełkowanie spor i ponowny wzrost pleśni. Z badań Seven i wsp. (47) wynika, że oparta na AOPs dezynfekcja wody również nie była w stanie zniszczyć zarodników *Aspergillus niger*. W eksperymentach Sichel i wsp. (48) spory innego przedstawiciela grzybów strzępkowych – *Fusarium oxysporum* – zostały zainaktywowane po 16 dniach trwania procesu TiO<sub>2</sub>/UV. Podobne wyniki dla tego gatunku otrzymali Wolfrum i wsp. (55) oraz Mitoraj i wsp. (40). Badanie przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego (scanning electron microscopy, SEM) ujawniło, że ściany komórkowe przetrwalników *A. niger* i *F. oxysporum* były chropowate i pomarszczone, a mimo to w komórkach nie stwierdzono obecności nano-TiO<sub>2</sub> (32). U podstaw wysokiej odporności pleśni na uszkodzenia oksydacyjne leży znaczna (sięgająca 15% s.m.) zawartość chityny w ich ścianie komórkowej (5, 49). Polisacharyd ten stanowi bezpośrednią ochronę błony cytoplazmatycznej, która jest wrażliwa na działanie utleniające reaktywnych form tlenu. Stosunkowo grubą warstwę chityny pokrywa równie odporna na stres oksydacyjny, choć cieńsza niż u drożdży, warstwa glukanów. Jej głównym składnikiem jest  $\beta$ -1,3-glukan, któremu towarzyszy silnie rozgałęziony i nieobecny u grzybów z rodziny *Saccharomycetaceae*  $\alpha$ -1,3-glukan. Zewnętrzną część ściany komórkowej grzybów strzęp-



Ryc. 4. Wrażliwość (wyrażona wielkością symbolu  $\star$ ) poszczególnych warstw ściany komórkowej pleśni na uszkodzenia powodowane przez rodniki hydroksylowe

kowych tworzy wrażliwa na uszkodzenia oksydacyjne warstwa galaktoprotein – połączeń białkowo-cukrowych, stanowiących ok. 45% s.m. ściany komórkowej (1) (ryc. 4).

Niewiele jest prac poświęconych ocenie skuteczności rozkładu mikotoksyn przy pomocy procesów fotokatalitycznych. Badania Calderón-Villagómez i wsp. (4) sygnalizują możliwość wykorzystania fotokatalizy  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  do rozkładu fumonizyny B1 i B2 – toksyn produkowanych m.in. przez *Fusarium verticillioides*. Prace Savi i wsp. (46) dowodzą z kolei wysokiej skuteczności procesu  $\text{ZnO}/\text{UV}$  w degradacji aflatoksyny A1 oraz zearalenonu. Istnieje zatem możliwość wykorzystania w niedalekiej przyszłości nanometrycznych tlenków tytanu, cynku i magnezu nie tylko do inaktywacji mikroorganizmów, ale i do rozkładu produkowanych przez nie toksyn.

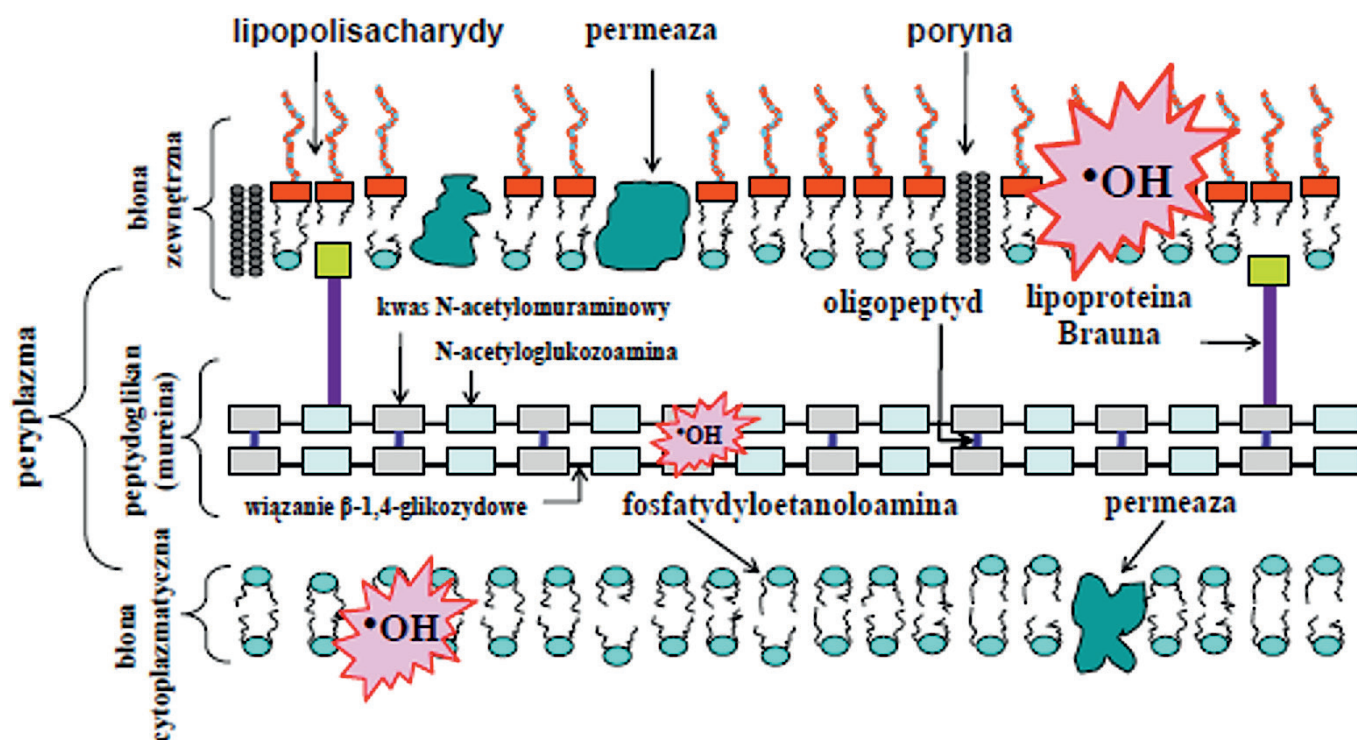
### Znaczenie praktyczne nanocząstek tlenków cynku i magnezu w inaktywacji bakterii

Pomimo znaczących osiągnięć współczesnej medycyny i weterynarii w zakresie zapobiegania i leczenia chorób bakteryjnych obserwuje się wzrost oporności wielu patogennych drobnoustrojów na kolejne antybiotyki. Wśród bakterii opornych na powszechnie stosowane chemioterapeutyki znajdują się m.in. gronkowce złociste oporne na metycylinę (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) i wankomycynę (vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA) oraz

pneumokoki oporne na penicylinę (penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, PRSP) (16, 20), stąd też nieustannie poszukuje się nowych substancji, które byłyby bójcze dla lekoopornych bakterii, a przy tym bezpieczne dla człowieka (23). Obiecujących wyników w tym obszarze dostarczają badania dotyczące wykorzystania nanocząstek – nie tylko ditlenku tytanu ( $\text{TiO}_2$ ), ale także tlenków cynku ( $\text{ZnO}$ ) i magnezu ( $\text{MgO}$ ).

### Tlenek cynku

Fotokataliza  $\text{ZnO}/\text{UV}$ , podobnie jak proces  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ , jest przykładem narzędzia skutecznie niszczącego drobnoustroje. Dzieje się tak za sprawą antybakteryjnych właściwości nanometrycznego tlenku cynku, które związek ten wykazuje w środowisku wodnym w obecności promieniowania UV (2, 28, 57). Zdaniem Yamamoto (57), działanie bakteriobójcze wzbudzonego tlenku cynku jest wprost i odwrotnie proporcjonalne do – odpowiednio – stężenia i średnicy jego cząstek. Inaktywację drobnoustrojów na powierzchniach pokrytych nano- $\text{ZnO}$  i poddanych działaniu UV-A obserwowali m.in. Jones i wsp. (28), przy czym stopień zahamowania wzrostu był wyraźnie silniejszy w przypadku bakterii Gram-ujemnych. Innego zdania są Sapkota i wsp. (45) oraz Sui i wsp. (51), według których nanometryczny  $\text{ZnO}$  w jednakowym stopniu ogranicza wzrost *Escherichia coli* (bakterii Gram-ujemnej) i *Staphylococcus aureus* (bakterii Gram-dodatniej). Wyniki zdecydowanej większości eksperymentów



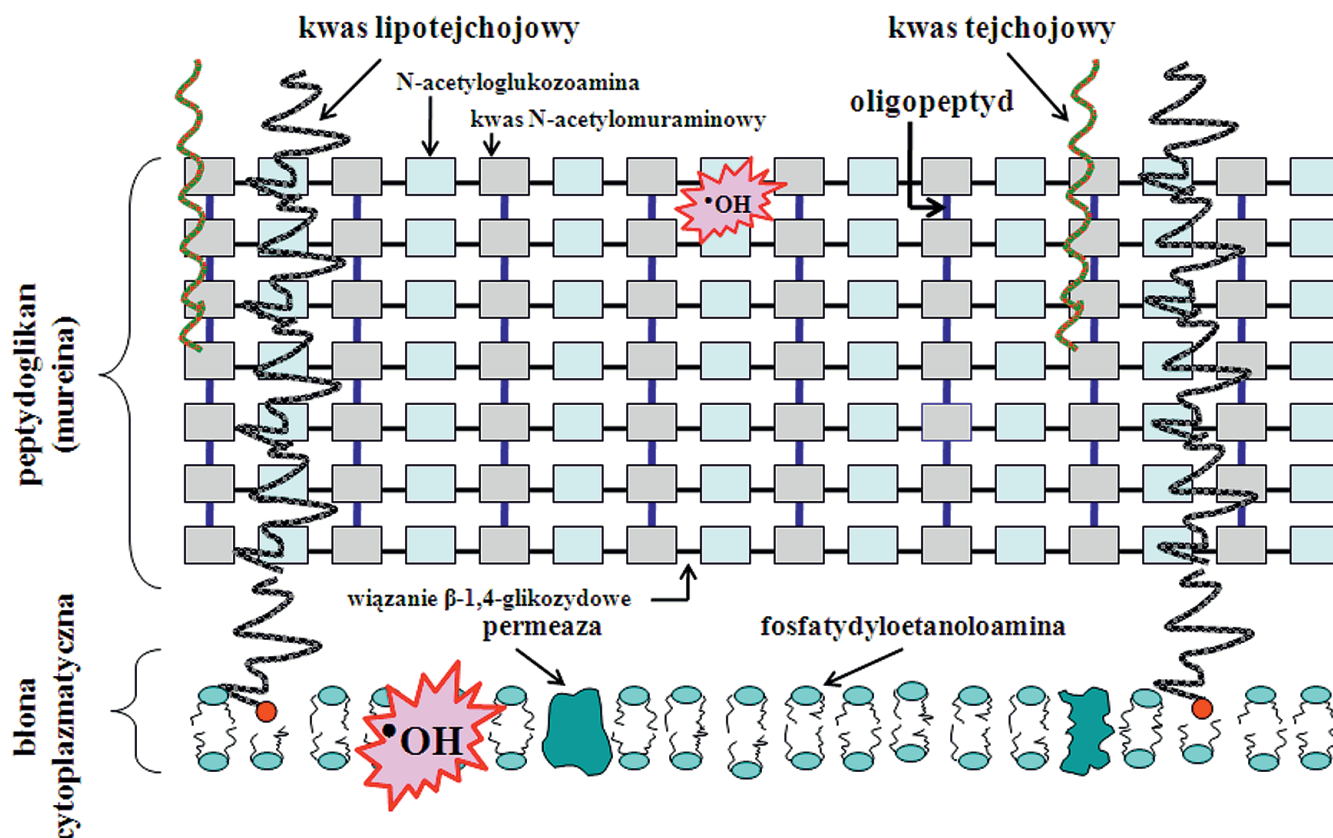
Ryc. 5. Wrażliwość (wyrażona wielkością symbolu  $\cdot\text{OH}$ ) poszczególnych warstw ściany komórkowej bakterii Gram(-) na uszkodzenia powodowane przez rodniki hydroksylowe

potwierdzają jednak wyższą w porównaniu z bakteriami Gram-dodatnimi (np. *Staphylococcus aureus*) wrażliwość bakterii Gram-ujemnych (np. *Escherichia coli*) na fotokatalizę ZnO/UV (2, 28, 60). Różnicę tę tłumaczy się m.in. odmienną budową ściany komórkowej tych drobnoustrojów. Bakterie Gram(-) mają znacznie cieńszą ścianę komórkową w porównaniu z bakteriami Gram(+), a zawartość peptydoglikanu (PG) – komponentu stosunkowo odpornego na uszkodzenia oksydacyjne – jest w ich ścianie komórkowej niewielka. Yamamoto (57) twierdzi, że podstawową rolę w inaktywacji drobnoustrojów przy pomocy procesu ZnO/UV odgrywają zdolne do przenikania przez ich ścianę komórkową rodniki hydroksylowe i molekuly  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Badania Gordon i wsp. (15) wykazały, że znacznie łatwiejsza – w porównaniu z peptydoglikanem – do penetracji przez ROS i podatniejsza na uszkodzenia oksydacyjne jest fosfatydyloetanolamina, która stanowi dominujący składnik ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Jeszcze większą wrażliwością na utleniające działanie rodników hydroksylowych charakteryzują się – obecne wyłącznie w ścianie komórkowej bakterii Gram-ujemnych – lipopolisacharydy (lipopolysaccharide, LPS) (ryc. 5). Stąd też ściany komórkowe *Escherichia coli* są łatwiej penetrowane i uszkodzane przez rodniki hydroksylowe oraz cząsteczki  $\text{H}_2\text{O}_2$ , aniżeli ściany komórkowe *Staphylococcus aureus* (28, 60). Gordon i wsp. (15) podają ponadto, że obdarzone ładunkiem ujemnym anionorodniki nadadtlenkowe znacznie trudniej przenikają przez silnie elektroujemną ścianę komórkową *Escherichia coli* aniżeli przez wykazującą mniejszą gęstość ładunku ujemnego, zbudowaną głównie z PG, ścianę komórkową bakterii Gram-dodatnich

(ryc. 6). Tym też autorzy tłumaczą wyższą w porównaniu z *Escherichia coli* wrażliwość *Staphylococcus aureus* na anionorodniki nadadtlenkowe.

### Tlenek magnezu

Innym związkiem wykazującym właściwości antibakteryjne jest nanometryczny tlenek magnezu (11, 24). Główną rolę w inaktywacji drobnoustrojów przy pomocy fotokatalizy MgO/UV, podobnie jak w przypadku procesów ZnO/UV i  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ , odgrywają rodniki hydroksylowe, do powstania których dochodzi na powierzchni cząstek wzbudzonego tlenu magnezu (50, 61). Niszczeniu drobnoustrojów sprzyja adsorpcja ich ujemnie naładowanych komórek na obdarzonej ładunkiem dodatnim cienkiej warstwie fotokatalizatora (24). Z badań przeprowadzonych przez Stoimenov i wsp. (50) wynika, że nano-MgO stanowi skuteczny środek dezynfekujący w środowisku wodnym. Autorzy ci obserwowali inaktywację wszystkich objętych eksperymentem komórek *Escherichia coli* i *Bacillus magaterium* (drobnoustrojów reprezentujących, odpowiednio, bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie) po, odpowiednio, 8 i 21 min. procesu MgO/UV. Deckers i wsp. (11) sugerują, że wrażliwość bakterii na nanocząstki tlenu magnezu może być pochodną stopnia rozdrobnienia fotokatalizatora, zaobserwowali bowiem, że o ile inaktywacja *Staphylococcus aureus* po 20 min. procesu MgO/UV nie zależała od rozmiaru nano-MgO i dotyczyła 98,8% ogólnej liczby drobnoustrojów, o tyle odsetek zniszczonych form wegetatywnych doświadczalnej populacji *Bacillus subtilis* w opinii autorów wydawał się determinowany wielkością nanocząstek tlenu magnezu i przedstawiał się po analogicznym czasie następująco:



Ryc. 6. Wrażliwość (wyrażona wielkością symbolu  $\star$ ) poszczególnych warstw ściany komórkowej bakterii Gram(+) na uszkodzenia powodowane przez rodniki hydroksylowe

97,5% w przypadku cząstek o średnicy 10-20 nm oraz 88,5% w przypadku cząstek o wielkości 20-80 nm. Zdaniem Deckers i wsp. (11), im mniejsza jest średnica nanocząstek MgO, tym łatwiejsza jest penetracja przez nie ściany komórkowej drobnoustrojów. Ponadto mniejsze cząstki, z uwagi na większą powierzchnię czynną, generują powstawanie większej ilości reaktywnych form tlenu, przez co proces inaktywacji bakterii jest bardziej efektywny. Uwalnianie z powierzchni nano-MgO rodniki hydroksylowe utleniają m.in. grupy karbonyłowe wiązań peptydowych obecnych w peptydoglikanie (mureinie) oraz białkach błonowych i enzymatycznych (61). Prowadzi to do uszkodzenia ściany komórkowej bakterii i zahamowania ich aktywności metabolicznej, a w efekcie końcowym do śmierci drobnoustrojów.

Nanotechnologia jest stosunkowo młodą, dynamicznie rozwijającą się dziedziną wiedzy, łączącą osiągnięcia biologii, chemii, fizyki, informatyki i mechaniki. Nanomateriały są w coraz większym stopniu wykorzystywane w tak odległych od siebie dziedzinach, jak budownictwo, przemysł spożywczy czy medycyna. Różnorodność zastosowań łączy wspólny cel – poprawa skuteczności inaktywacji drobnoustrojów na powierzchniach użytkowych. Coraz śmieiej mówi się, że w XXI w. to nie mikrobiolodzy odgrywać będą decydującą rolę w walce z mikroorganizmami, lecz inżynierowie zajmujący się nanotechnologią. Jedno z osiągnięć tej dyscypliny, mogących w istotny sposób przyczynić się do ograniczania szerzenia się czynników

zakaźnych, stanowią powierzchnie samodezynfekujące. Ich kluczowymi składnikami nie są antybiotyki, lecz tlenki niektórych metali, np.  $\text{TiO}_2$ , ZnO, MgO. Związki te po rozdrobnieniu do nanocząstek wykazują działanie antywirusowe, przeciwbakteryjne i grzybobójcze. U podstaw tych właściwości leżą procesy fotokatalityczne indukowane promieniowaniem UV. Zastosowanie fotokatalizy do inaktywacji czynników zakaźnych przynosi obiecujące rezultaty. Stanowią one istotny argument za kontynuowaniem prac nad wykorzystaniem innowacyjnych rozwiązań z zakresu nanotechnologii w badaniach nad eliminacją patogenów z powierzchni użytkowych w szpitalach, przychodniach czy zakładach produkujących żywność.

### Piśmiennictwo

1. Akiba N., Hayakawa I., Keh E. S., Watanabe A.: Antifungal effects of a tissue conditioner coating agent with  $\text{TiO}_2$  photocatalyst. *J. Med. Dent. Sci.* 2005, 52, 223-227.
2. Azam A., Ahmed A. S., Oves M., Khan M. S., Habib S. S., Memic A.: Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria: a comparative study. *Int. J. Nanomed.* 2012, 7, 6003-6009.
3. Bonetta S., Bonetta S., Motta F., Strini A., Carraro E.: Photocatalytic bacterial inactivation by  $\text{TiO}_2$ -coated surfaces. *AMB Express* 2013, 3, 59.
4. Calderón-Villagómez H. E., Thagarasu P., Carvajal M., Burillo G., Peña-Betancourt S. D.: Photo-degradation of fumonisins B1 and B2, toxins of the fungus *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg from corn (*Zea mays* L.), by ultraviolet radiation with titanium dioxide. *Rev. Mex. Fitopatol.* 2006, 23, 254-260.
5. Chen F., Yang X., Wu Q.: Antifungal capability of  $\text{TiO}_2$  coated film on moist wood. *Build. Environ.* 2009, 44, 1088-1093.
6. Cho M., Cates E. L., Kim J. H.: Inactivation and surface interactions of MS-2 bacteriophage in a  $\text{TiO}_2$  photoelectrocatalytic reactor. *Water Res.* 2011, 45, 2104-2110.

7. Cho M., Chung H., Choi W., Yoon J.: Different inactivation behaviors of MS-2 phage and *Escherichia coli* in TiO<sub>2</sub> photocatalytic disinfection. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005, 71, 270-275.
8. Chorianopoulos N. G., Tsoukleris D. S., Panagou E. Z., Falaras P., Nychas G. J.: Use of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) photocatalysts as alternative means for *Listeria monocytogenes* biofilm disinfection in food processing. *Food Microbiol.* 2011, 28, 164-170.
9. Colling J. H., Dunderdale J.: The durability of paint films containing titanium dioxide – contraction, erosion and clear layer theories. *Prog. Org. Coat.* 1981, 9, 47-84.
10. Day R. E.: The role of titanium dioxide pigments in the degradation and stabilization of polymers in plastics industry. *Polym. Degrad. Stab.* 1990, 21, 73-92.
11. Deckers A. S., Loo S., L'Hermite M. M., Boime N. H., Menguy N., Reynaud C., Gouget B., Carrière M.: Size- composition- and shape-dependent toxicological impact of metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes towards bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43, 8423-8429.
12. Frazer L.: Titanium dioxide: environmental white knight? *Environ. Health Perspect.* 2001, 109, 174-177.
13. Friedmann D., Mendive C., Bahnemann D.: TiO<sub>2</sub> for water treatment: parameters affecting the kinetics and mechanisms of photocatalysis. *Appl. Catal. B* 2010, 99, 398-406.
14. Fujishima A., Rao T. N., Tryk D. A.: Titanium dioxide photocatalysis. *J. Photochem. Photobiol. C* 2000, 1, 1-21.
15. Gordon T., Perlstein B., Houbara O., Felner I., Banin E., Margel S.: Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids Surf. A* 2011, 374, 1-8.
16. Guarner F., Malagelada J. R.: Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003, 361, 512-519.
17. Guillard C., Bui T. H., Felix C., Moules V., Lina B., Lejeune P.: Microbiological disinfection of water and air by photocatalysis. *C. R. Chim.* 2008, 11, 107-113.
18. Guo P., Yokoyama K., Piao F., Sakai K., Khalequzzaman M., Kamijima M., Nakajima T., Kitamura F.: Sick building syndrome by indoor air pollution in Dalian, China. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10, 1489-504.
19. Gupta K., Singh R. P., Pandey A., Pandey A.: Photocatalytic antibacterial performance of TiO<sub>2</sub> and Ag-doped TiO<sub>2</sub> against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. *Beilstein J. Nanotechnol.* 2013, 4, 345-351.
20. Haenle M., Fritsche A., Zietz C., Bader R., Heidenau F., Mittelmeier W., Gollwitzer H.: An extended spectrum bactericidal titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) coating for metallic implants: in vitro effectiveness against MRSA and mechanical properties. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2011, 22, 381-387.
21. Hajkova P., Spatenka P., Horsky J., Horska I., Kolouch A.: Photocatalytic effect of TiO<sub>2</sub> films on viruses and bacteria. *Plasma Process. Polym.* 2007, 4, 397-401.
22. Heaselgrave W., Patel N., Kilvington S., Kehoe S. C., McGuigan K. G.: Solar disinfection of poliovirus and *Acanthamoeba polyphaga* cysts in water – a laboratory study using simulated sunlight. *Lett. Appl. Microbiol.* 2006, 43, 125-130.
23. Hedin G., Rynbäck J., Loré B.: Reduction of bacterial surface contamination in the hospital environment by application of a new product with persistent effect. *J. Hosp. Infect.* 2010, 75, 112-115.
24. Huang L., Li D. Q., Lin Y. J., Wei M., Evans D. G., Duan X.: Controllable preparation of nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *J. Inorg. Biochem.* 2005, 99, 986-993.
25. Ishiguro H., Nakano R., Yao Y., Kajioaka J., Fujishima A., Sunada K., Minoshima M., Hashimoto K., Kubota Y.: Photocatalytic inactivation of bacteriophages by TiO<sub>2</sub>-coated glass plates under low-intensity, long-wavelength UV irradiation. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2011, 10, 1825-1829.
26. Jaroenworarluck A., Sunsaneeyametha W., Kosachan N., Stevens R.: Characteristics of silica-coated TiO<sub>2</sub> and its UV absorption for sunscreen cosmetic applications. *Surf. Interface Anal.* 2006, 38, 473-477.
27. Jolley C., Klem M., Harrington R., Parise J., Douglas T.: Structure and photoelectrochemistry of a virus capsid-TiO<sub>2</sub> nanocomposite. *Nanoscale* 2011, 3, 1004-1007.
28. Jones N., Ray B., Ranjit K. T., Manna A. C.: Antimicrobial activity of ZnO nanoparticles suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 2008, 279, 71-76.
29. Kashige N., Kakita Y., Nakashima Y., Miake F., Watanabe K.: Mechanism of the photocatalytic inactivation of *Lactobacillus casei* phage PL-1 by titania thin film. *Curr. Microbiol.* 2001, 42, 184-189.
30. Kiwi J., Nadtochenko V.: New evidence for TiO<sub>2</sub> photocatalysis during bilayer lipid peroxidation. *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 17657-17684.
31. Knight H.: Sars wars. *Engineer* 2003, 292, 27-35.
32. Kühn K. P., Chaberny I. F., Massholder K., Stickler M., Benz V. W., Sonntag H. G., Erdinger L.: Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere* 2003, 53, 71-77.
33. Lee J. E., Ko G.: Norovirus and MS2 inactivation kinetics of UV-A and UV-B with and without TiO<sub>2</sub>. *Water Res.* 2013, 47, 5607-5613.
34. Lee J. E., Zoh K., Ko G.: Inactivation and UV disinfection of murine norovirus with TiO<sub>2</sub> under various environmental conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008, 74, 2111-2117.
35. Lonnen J., Kilvington L. J., Kehoe S. C., Al-Toutai F., McGuigan K. G.: Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water. *Water Res.* 2005, 39, 877-883.
36. Maneerat C., Hayata Y.: Antifungal activity of TiO<sub>2</sub> photocatalysis against *Penicillium expansum* in vitro and in fruit tests. *Int. J. Food Microbiol.* 2006, 107, 99-103.
37. Matsunaga T., Tomoda R., Nakajima T., Wake H.: Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiol. Lett.* 1985, 29, 211-214.
38. Mazurkova N. A., Spitsyna Y. E., Shikina N. V., Ismagilov Z. R., Zagrebel'nyi S. N., Ryabchikova E. I.: Interaction of titanium dioxide nanoparticles with Influenza virus. *Nanotechnol. Russia* 2010, 5, 417-420.
39. Mitoraj D., Jańczyk A., Strus M., Kisch H., Stochel G., Heczko P. B., Macyk W.: Visible light inactivation of bacteria and fungi by modified titanium dioxide. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2007, 6, 642-648.
40. Molen R. G. van der, Garssen J., de Klerk A., Claas F. H., Norval M., van Loveren H., Koerten H. K., Mommaas A. M.: Application of a systemic herpes simplex virus type 1 infection in the rat as a tool for sunscreen photoimmunoprotection studies. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002, 1, 592-596.
41. Paspaltsis I., Kotta K., Lagoudaki R., Grigoriadis N., Poullos I., Sklaviadis T.: Titanium dioxide photocatalytic inactivation of prions. *J. Gen. Virol.* 2006, 87, 3125-3130.
42. Pleskova S. N., Golubeva I. S., Verevkin I. K., Pershin E. A., Burenina V. N., Korolikhin V. V.: Photoinduced bactericidal activity of TiO<sub>2</sub> films. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 2011, 47, 28-32.
43. Robichaud C. O., Uyar A. E., Darby M. R., Zucker L. G., Wiesner M. R.: Estimates of upper bounds and trends in nano-TiO<sub>2</sub> production as a basis for exposure assessment. *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43, 4227-4233.
44. Sang X., Phan T. G., Sugihara S., Yagyu F., Okitsu S., Maneekarn N., Müller W. E., Ushijima H.: Photocatalytic inactivation of diarrheal viruses by visible-light-catalytic titanium dioxide. *Clin. Lab.* 2007, 53, 413-421.
45. Sapkota A., Anceno A. J., Baruah S., Shipin O. V., Dutta J.: Zinc oxide nanorod mediated visible light photoinactivation of model microbes in water. *Nanotechnology* 2011, 22, 215-703.
46. Savi G. D., Bortoluzzi A. J., Scussell V. M.: Antifungal properties of Zinc-compounds against toxigenic fungi and mycotoxin. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013, 48, 1834-1840.
47. Seven O., Dindar B., Aydemir S., Metin D., Ozinel A., Icli S.: Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO<sub>2</sub>, ZnO and Sahara desert dust. *J. Photochem. Photobiol. A* 2004, 165, 103-107.
48. Sichel C., Tello J., de Cara M., Fernández-Ibáñez P.: Effect of UV solar intensity and dose on the photocatalytic disinfection of bacteria and fungi. *Catal. Today* 2007, 129, 152-160.
49. Staniszevska M., Bondaryk M., Rabczenko D., Smoleńska-Sym G., Kurzatkowski W.: Cell wall carbohydrates content of pathogenic *Candida albicans* strain morphological forms. *Exp. Med. Microbiol.* 2013, 65, 119-128.
50. Stoinenov P. K., Klinger R., Marchin G. L., Klabunde K. J.: Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir* 2002, 18, 6679-6686.
51. Sui M., Zhang L., Sheng L., Huang S., She L.: Synthesis of ZnO coated multi-walled carbon nanotubes and their antibacterial activities. *Sci. Total Environ.* 2013, 452-453, 148-154.
52. Sun D. D., Tay J. H., Tan K. M.: Photocatalytic degradation of *E. coli* form in water. *Water Res.* 2003, 37, 3452-3462.
53. Suty H., de Traversay C., Cost M.: Applications of advanced oxidation processes: present and future. *Water Sci. Technol.* 2004, 49, 227-233.
54. Wang G., He X., Xu G., Chen L., Zhu Y., Zhang X., Wang L.: Detection of T4 polynucleotide kinase activity with immobilization of TiO<sub>2</sub> nanotubes and amplification of Au nanoparticles. *Biosens. Bioelectron.* 2013, 43, 125-130.
55. Wolfrum E. J., Huang J., Blake D. M., Maness P. C., Huang Z., Fiest J., Jacoby W. A.: Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 2002, 36, 3412-3419.
56. Xu R., Liu X., Zhang P., Ma H., Liu G., Xia Z.: The photodestruction of virus in nano-TiO<sub>2</sub> suspension. *J. Wuhan Univ. Technol. Mater. Sci. Ed.* 2007, 22, 422-425.
57. Yamamoto O.: Influence of particle size on the antimicrobial activity of zinc oxide. *Int. J. Inorg. Mater.* 2001, 3, 643-646.
58. Yu K. P., Huang Y. T., Yang S. C.: The antifungal efficacy of nano-metals supported TiO<sub>2</sub> and ozone on the resistant *Aspergillus niger* spore. *J. Hazard. Mater.* 2013, 261, 155-162.
59. Zan L., Fa W., Peng T., Gong Z. H.: Photocatalysis effect of nanometer TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>-coated ceramic plate on Hepatitis B virus. *J. Photochem. Photobiol. B* 2007, 86, 165-169.
60. Zhang L., Ding Y., Povey M., York D.: ZnO nanofluids – a potential antibacterial agent. *Prog. Nat. Sci.* 2008, 18, 939-944.
61. Zhang K., An Y., Zhang L., Dong Q.: Preparation of controlled nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *Chemosphere* 2012, 89, 1414-1418.