

# PRACA DOKTORSKA

**Ocena właściwości biobójczych  
i możliwości zastosowania  
nanocząstek metalicznych i tlenkowych  
zapobiegających biodeterioracji  
produktów chemii budowlanej**

mgr Renata Szczygłowska

Promotor: dr hab. inż. Marcin Banach, prof. nadzw. PK

Promotor pomocniczy: dr inż. Jolanta Pulit-Prociak

Wrocław 2017

„Cokolwiek zamierzasz zrobić,  
O czymkolwiek marzysz, zacznij działać.  
Śmiałość zawiera w sobie geniusz, siłę i magię.”

Johann Wolfgang Goethe

Składam serdeczne podziękowania mojemu promotorowi  
Panu prof. dr hab. inż. Marcinowi Banachowi za ukierunkowanie tematyczne,  
merytoryczną opiekę, przekazaną wiedzę i cenne sugestie naukowe.  
Dziękuję również za poświęcony czas, wyrozumiałość i zaufanie.

Dziękuję również promotorowi pomocniczemu Pani dr inż. Jolancie Pulić-Prociak za  
nieocenioną pomoc, życzliwość i wsparcie.

Dziękuję dr hab. Agnieszce Zdybickiej-Barabas  
z Wydziału Biologii i Biotechnologii UMCS w Lublinie za otwartość, chęć podzielenia  
się wiedzą i doświadczeniem naukowym.

Dziękuję inż. Zenonowi Lewkowi - Dyrektorowi Spółki Wodnej „Strzegowa”  
za motywację do napisania niniejszej pracy.

Dziękuję moim bliskim,  
Mężowi i Synom, którzy wykazali wiele cierpliwości.  
I wszystkim, którzy wnosili inspirację i wiarę...

# SPIS TREŚCI

<b>STRESZCZENIE.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>I. WSTĘP.....</b>	<b>11</b>
<b>II. CZĘŚĆ LITERATUROWA .....</b>	<b>13</b>
1. Biodeterioracja materiałów.....	13
2. Środki konserwujące stosowane w produktach chemii budowlanej.....	19
3. Mechanizm działania środków biobójczych na bakterie i grzyby.....	24
4. Skuteczność oddziaływania środków biobójczych na drobnoustroje.....	27
5. Nanotechnologia jako źródło materiałów o nowych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych .....	29
5.1. Nanocząstki metali .....	33
5.1.1. Nanocząstki srebra.....	33
5.1.2. Nanocząstki złota.....	36
5.1.3. Nanocząstki miedzi .....	38
5.2. Nanocząstki tlenków metali.....	39
5.2.1. Nanocząstki tlenku miedzi (II) .....	39
5.2.2. Nanocząstki tlenku cynku.....	40
5.2.3. Nanocząstki ditlenku cyrkonu .....	41
6. Mechanizm działania bójczego nanocząstek .....	43
7. Działanie nanocząstek metali i tlenków metali na organizmy.....	49
7.1. Wpływ nanocząstek metali i tlenków metali na na organizmy <i>Prokaryota</i> i <i>Eukaryota</i> .....	49
7.2. Działanie wybranych nanocząstek metali i tlenków metali na ssaki.....	57
7.3. Działanie wybranych nanocząstek metali i tlenków metali na ludzi.....	62
8. Zachowanie się nanocząstek w środowisku .....	69
9. Analiza narażenia na nanocząstki w świetle obowiązujących wymagań prawnych oraz danych literaturowych .....	75
10. Aktualny stan wiedzy na temat stosowania nanomateriałów o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych w produktach chemii budowlanej .....	83

<b>III.</b>	<b>CEL I ZAKRES PRACY .....</b>	<b>87</b>
1.	Główny cel badawczy.....	87
2.	Cele badawcze szczegółowe.....	87
3.	Zakres badań.....	88
<b>IV.</b>	<b>CZĘŚĆ BADAWCZA .....</b>	<b>89</b>
1.	Materiały badawcze.....	89
1.1.	Charakterystyka i podział badanych nanomateriałów z uwzględnieniem różnych metod ich otrzymywania .....	89
1.1.1.	Nanocząstki złota, srebra i miedzi otrzymane z wykorzystaniem pojedynczej substancji o właściwościach redukujących i stabilizujących.....	89
1.1.2.	Nanocząstki srebra otrzymane metodą z wykorzystaniem ekstraktu z malin .....	91
1.1.3.	Nanometryczne tlenki: tlenek miedzi, tlenek cynku, ditlenek cyrkonu.....	91
1.1.4.	Kompozycja z nanocząstkami srebra .....	92
1.1.5.	Charakterystyka użytych surowców .....	92
1.1.6.	Charakterystyka fizykochemiczna nanocząstek .....	96
1.1.6.1.	Spektroskopia UV-Vis.....	96
1.1.6.2.	Technika dynamicznego rozpraszania światła (DLS) oraz pomiar potencjału elektrokinetycznego.....	98
1.1.6.3.	Atomowa spektrometria emisyjna z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP-OES) ..	99
1.1.6.4.	Mikroskopia sił atomowych (AFM).....	99
1.1.6.5.	Skaningowa mikroskopia elektronowa ze spektroskopią z dyspersją energii (SEM-EDS).....	100
1.2.	Charakterystyka szczepów testowych wytypowanych do ustalenia MIC i MBC niepożądanych w środowisku życia człowieka .....	103
1.2.1.	<i>Escherichia coli</i> .....	104
1.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	104
1.2.3.	<i>Candida albicans</i> .....	105
1.3.	Charakterystyka szczepów testowych wytypowanych do ustalenia MIC i MBC zakażających produkty chemii budowlanej .....	106
1.3.1.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145 .....	106
1.3.2.	<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC 15233 varietas <i>melanigenum</i> .....	107
1.3.3.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ( <i>Aspergillus niger</i> van Tieghem) ATCC 9642 .....	108
1.4.	Szczepy testowe wybrane do badania suchych powłok produktów chemii budowlanej .....	109

1.4.1.	Szczepy grzybów o większej skłonności do porostania w warunkach zewnętrznych .....	109
1.4.1.1.	<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC 15233 .....	109
1.4.1.2.	<i>Alternaria alternata</i> Ł 0410 .....	110
1.4.1.3.	<i>Cladosporium cladosporioides</i> ATCC 16022 .....	111
1.4.2.	Szczepy grzybów o większej skłonności do porostania w warunkach wewnętrznych.....	112
1.4.2.1.	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ATCC 66034.....	112
1.4.2.2.	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642.....	113
1.4.3.	Szczepy glonów zastosowane w badaniach suchych powłok.....	113
1.4.3.1.	<i>Nostoc commune</i> SAG 1453-3 .....	113
1.4.3.2.	<i>Klebsormidium flaccidum</i> SAG 335-5 .....	114
1.5.	Podłoża użyte w badaniach.....	115
1.5.1.	Podłoża płynne .....	115
1.5.1.1.	Woda destylowana.....	115
1.5.1.2.	Bulion TSB (kazeinowo-sojowy).....	115
1.5.1.3.	Bulion SD ( <i>Sabouraud</i> ).....	116
1.5.1.4.	Płyn Ringera .....	116
1.5.1.5.	Rozcieńczalnik do zawiesiny zarodników grzybów .....	116
1.5.1.6.	Roztwór odżywczy dla glonów .....	116
1.5.2.	Podłoża stałe.....	116
1.5.2.1.	Tryptic Soy Agar (TSA).....	116
1.5.2.2.	<i>Sabouraud</i> Dextrose Agar (SD) .....	116
1.5.2.3.	Pożywka ze słodem .....	117
1.5.2.4.	Pożywka Bolda.....	117
2.	Metody badawcze.....	118
2.1.	Przegląd metod badawczych w zakresie wyznaczenia i oceny działania przeciwdrobnoustrojowego .....	118
2.1.1.	Zawiesinowa metoda wyznaczenia MIC i MBC/MFC .....	119
2.2.	Mechanizm działania bójczego nanocząstek .....	125
2.2.1.	Metody oceny właściwości biochemicznych szczepów (testy API) .....	125
2.2.2.	Obserwacja działania nanocząstek wobec bakterii z użyciem mikroskopu sił atomowych (AFM) .....	127
2.2.2.1.	Ocena morfologii komórek bakterii kontrolnych i poddanych działaniu nanocząstek.....	127

2.2.2.2.	Ocena statystyczna wyników pomiarów szorstkości powierzchni kontrolnych komórek bakterii i poddanych działaniu nanocząstek .....	131
2.3.	Metody oceny skuteczności konserwacji suchych powłok materiałów budowlanych.....	132
2.3.1.	Otrzymywanie suchych powłok budowlanych z dodatkiem nanocząstek srebra	132
2.3.2.	Test wymywania nanocząstek – “water leaching test” .....	134
2.3.3.	Metody oceny skuteczności konserwacji suchych powłok materiałów budowlanych wobec grzybów .....	135
2.3.4.	Metoda oceny skuteczności konserwacji suchych powłok materiałów budowlanych wobec glonów .....	138
3.	WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA .....	140
3.1.	Wyznaczanie MIC i MBC nanocząstek.....	140
3.1.1.	Ustalenie występowania właściwości biobójczych nanocząstek wobec wybranych szczepów niepożądanych w środowisku życia człowieka.....	140
3.1.2.	Ustalenie występowania właściwości biobójczych wybranych nanocząstek metalicznych, tlenkowych oraz nanokompozycji wobec wybranych szczepów bakterii i grzybów charakterystycznych dla materiałów budowlanych.....	153
3.2.	Mechanizm działania bójczego nanocząstek .....	164
3.2.1.	Wpływ wybranych nanocząstek na właściwości biochemiczne szczepów .....	164
3.2.1.1.	Wpływ nanocząstek na właściwości biochemiczne szczepu <i>E. coli</i> ATCC 8739 .....	164
3.2.1.2.	Wpływ działania nanocząstek na właściwości biochemiczne szczepu <i>S. aureus</i> ATCC 6538 .....	173
3.2.1.3.	Wpływ nanocząstek na właściwości biochemiczne szczepu <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	180
3.2.1.4.	Podsumowanie wpływu nanocząstek na właściwości biochemiczne testowanych szczepów.....	185
3.2.2.	Obserwacja działania nanocząstek wobec bakterii z użyciem mikroskopu sił atomowych AFM.....	187
3.2.2.1.	Ocena morfologii komórek bakterii kontrolnych i poddanych działaniu nanocząstek.....	187
3.2.2.2.	Ocena statystyczna wyników pomiarów szorstkości powierzchni komórek bakterii kontrolnych i poddanych działaniu nanocząstek .....	202
3.3.	Badania skuteczności konserwacji suchych powłok materiałów budowlanych ..	208
3.3.1.	Ocena starzenia suchych powłok zakonserwowanych nanocząstkami srebra na podstawie testu wymywania.....	208
3.3.2.	Badania skuteczności konserwacji suchych powłok wobec grzybów pleśniowych przed i po teście wymywania.....	212

3.3.3.	Badania skuteczności konserwacji suchych powłok wobec grzybów drożdżakowatych i pleśniowych przed i po teście wmywania .....	216
3.3.4.	Badania skuteczności konserwacji suchych powłok wobec grzybów drożdżakowatych przed i po teście wmywania .....	220
3.3.5.	Badania skuteczności konserwacji suchych powłok wobec glonów po teście wmywania.....	221
3.4.	Analiza uzyskanych wyników i ustalenie zależności między zaobserwowanymi właściwościami biobójczymi i fizykochemicznymi testowanych nanomateriałów .....	223
3.5.	Ocena możliwości zastosowania nanocząstek w produktach chemii budowlanej .....	224
3.6.	Ocena możliwości stosowania nanocząstek w aspekcie bezpieczeństwa środowiska i zdrowia ludzi .....	228
<b>V.</b>	<b>PODSUMOWANIE I WNIOSKI .....</b>	<b>235</b>
<b>VI.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>242</b>