

Előzetes eredmények antibakteriális polimerfesték in vitro felhasználhatóságáról

Illés Gergely , Kovács-Weber Mária ,
Pajor Ferenc , Póti Péter

*Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Intézet, 2100 Gödöllő,
Páter Károly u. 1.*

*Received/Érkezett: 25. 05. 2023.
Accepted/Elfogadva: 30. 05. 2024.*

Összefoglalás: A XX. század polimer forradalmának köszönhetően életünk mindennapjait behálózzák a műanyagok. A műanyagoknak azt a típusát, amelyekben a lineáris polimer láncokat keresztükötő egységek kapcsolják össze, polimer térhálóknak nevezzük. A munkánk során célunk volt olyan antibakteriális polimereket kifejleszteni, amelyek segíthetik az állatok egészségi állapotának javítását, növelhetik hasznos élettartamukat. A vizsgálataink célja ezüst-nitrát tartalmú polimerfesték in-vitro körülmények közötti antibakteriális hatásának vizsgálata *Escherichia coli* baktérium tenyészetén. Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy sikeresen állítottunk elő ezüst-nitrát (AgNO_3) tartalmú antibakteriális felületkezelő festéket. A mikrobiológiai vizsgálatok megerősítették, hogy az ezüst-nitrát tartalmú festéknek jelentős gátló hatása van az *E. coli* baktérium növekedésére. A koncentráció növekedése nem növelte az antibakteriális határfokot, viszont az antibakteriális hatás kiegyenlítettébb lett.

Kulcsszavak: polimer festék, állategészségügy, *Escherichia coli*, tartástechnológia, ezüst-nitrát

Preliminary results on in vitro utilisation of antibacterial polymer paint

Gergely Illés , Mária Kovács-Weber,

Ferenc Pajor , Péter Póti,

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Animal Sciences, Páter Károly 1, 2100 Gödöllő, Hungary

Abstract: Thanks to the polymer revolution of the 20th century, plastics have become part of everyday life. The type of plastics in which linear polymer chains are connected by cross-linking units is called polymer crosslinks. During our work, we aimed to develop antibacterial polymers that can help improve the health of animals and increase their useful life. The aim of study was to investigate the antibacterial effect of silver nitrate-containing polymer paint under in-vitro conditions on *Escherichia coli* bacterial cultures. Based on the results, one can conclude that we have successfully produced an antibacterial surface treatment paint containing silver nitrate (AgNO_3). Microbiological tests confirmed that the paint containing silver nitrate has a significant antibacterial effect on the *E. coli* bacteria. The increase in concentration did not increase the antibacterial efficiency, but the antimicrobial effect became more balanced.

Keywords: polymer paint, animal health, *Escherichia coli*, housing technology, silver nitrate

Bevezetés

A szintetikus polimerek megjelenése forradalmi átalakulást eredményezett a XX. század első felében. Baekland 1907-es (US Patent, 2010) polikondenzációs polimerre történt szabadalmának beadását követően a műanyagok elterjedése rohamos fejlődésnek indult. A gyors ütemű fejlődést tovább fokozta Hermann Staudinger német kémikus 1922-es felfedezése (Hermann Staudinger and the Foundation of Polymer Science, 1999), mely szerint számos szerves anyag, például kaucsuk, nagyon hosszú molekulaláncokból makromolekulákból áll. Ezért a felfedezésért 1953-ban Nobel-díjat (Hermann Staudinger - Biographical, 2018) kapott. Azokat a makromolekulákat nevezzük polimer térhálóknak, amelyek lineáris polimer láncait keresztkötő egységek kapcsolják össze, és ezeknek a kötések olyan oldószerben sem oldódnak fel, amelyek a lineáris polimer láncot jól oldják (O'dian et al., 1991; Illés et al., 2016).

A Jól ismert, hogy termelni csak egészséges állatokkal lehet, jól termelni pedig csak akkor, ha annak biológiai igényeit is kielégítjük. A legnagyobb szerepe a takarmányozás- és tartástechnológiának van, hiszen nem csak a termelésre vannak hatással, hanem meghatározzák az állatok ellenálló képességét, tűrőképességét, vagyis egészségi állapotát is (Bőő, 2002). Az állattartásban az egyik jelentős higiéniai problémát az *Escherichia coli* jelenti. Az *Escherichia coli* az *Escherichia* nemzetség és az Enterobacteriaceae család legismertebb faja, amely melegvérű állatok tápcsatornájának hátsó szakaszában élő Gram-negatív baktérium. A legtöbb típusuk teljesen ártalmatlan, egyesek viszont, mint például a Shiga-toxint termelő *E. coli* patotípus, különösen veszélyes az emberi egészségre (Vogt

és Dippold, 2005; Perrin et al., 2015). Veszélytelen törzsek az emésztőrendszerben K_2 -vitamint termelnek (Bentley és Meganathan, 1982). Gátolják egyes, a vastagbélben jelen lévő patogének szaporodását (Hudault et al., 2001; Reid et al., 2001). Ezen túlmenően az *E. coli* baktériumot gyakran izolálják nyerstejből, az *E. coli* baktérium jelenléte a nyerstejben (fejés során a megfelelő higiénia be nem tartása miatti) bélsár szennyezettségre utal, ezért a tej minőségére vonatkozó indikátorként is használják (Condoleo et al., 2020). Ezenkívül szubklinikai és klinikai tőgygyulladást okozhat a tejtermelő kérődző állományokban (Bergonier et al., 2003).

A megfelelő higiéniai színvonal biztosításával az állattartó telepen nem csak az állatorvosi költségeket csökkenthetjük, hanem kedvezőbb körülményeket biztosíthatunk az állatok termeléséhez. Az általános higiéniai követelmények – a fertőtlenítő szerek és rendszeres tisztítás mellett – egyre inkább fordulunk olyan anyagok felé, melyek segíthetnek a baktériumszám csökkentésében. Ilyen ígéretes anyagok lehetnek az antimikrobiális hatású polimerek is. Mivel a polimer térhálók alkalmasak különböző nanoméretű részecskéket tartalmazó kompozitok előállítására (Mezey et al., 2009; Krumpfer et al., 2013; Tóth et al., 2014). Az nanoezüstöt is tartalmazhatnak ilyen típusú polimerek, többféle polimer alkalmas polimer-nanoezüst kompozit létrehozására, ilyen polimer például a poli(vinil-alkohol) (Lu et al., 2007), a keményítő (Bozanic et al., 2007), a poli(etilén-glikol) (Luo et al., 2005), és a Poli(metil-metakrilát) is (Singh et al., 2007; Wada et al., 2007). A legújabb eredmények növényi olajok, illetve nano-részecskeméretű fémek alkalmazásáról és antimikrobiális hatásukról laboratóriumi körülmények között már beszámoltak (Diez-Pascual, 2019, Maciejewska et al., 2019; Murgia et al., 2019).

A vizsgálataink célja ezüst-nitrát tartalmú polimerfestékek in-vitro körülmények közötti antimikrobiális hatásának vizsgálata *E. coli* baktérium tenyészetben.

Anyag és módszer

A vizsgálat leírása

Célunk olyan, az állattenyésztésben használható antibakteriális hatásmechanizmussal rendelkező polimer felületbevonó anyagok előállítása volt, amelyek a speciális tulajdonságuk ellenére gazdaságosan előállíthatóak. Munkánk első lépéseként kristályos ezüst-nitrát és desztillált víz felhasználásával tömény ezüst-nitrát törzsoldatot állítottunk elő. Az ezüst nitrát moláris tömege 169,78 g/mol, oldhatósága desztillált vízben 2160 g/liter. A kísérletsorozathoz 20 ml törzsoldatot készítettünk a következő beméréseknek megfelelően: bemért ezüst nitrát (AgNO_3) mennyisége 4,3872 g, bemért desztillált víz mennyisége 20,0 ml, az ezüst nitrát moláris tömege 169,87 g/mol. Az ezüst nitrát koncentrációja 0,21936 g/ml, valamint a törzsoldat moláris térfogata 1,29134 mol/l volt.

Egy 50 ml-es barna üvegbe bemértük az AgNO_3 -ot és a desztillált vizet, majd egy keverőbatát dobtunk az üveg aljára. A homogén AgNO_3 oldat elérése érdekében, fűthető (20 °C) mágneses keverővel 10 percig kevertettük az oldatot. Az AgNO_3 oldatot a fénytől való védelem érdekében felhasználásig barna lezárt üvegben tároltuk. A törzsoldatunk elkészítését követően fém felületen alkalmazható vizes bázisú felületkezelő anyagokat alapul véve, 3 különböző ezüst koncentrációjú antibakteriális tulajdonsággal rendelkező polimer felületkezelő anyagot állítottunk elő a kontrol kezelés mellett (1. táblázat).

1. táblázat. A Antibakteriális felületkezelő anyagok bemérései

Kezelések(1)	Ismétlések száma(2)	Bemért felületkezelő anyag (ml)(3)	Bemért AgNO ₃ törzsoldat (ml)(4)	Bemért desztillált víz (ml)(5)	Festék AgNO ₃ koncentrációja (g/ml)(6)
1	5x	20,0	0	2,0	0
2		20,0	0,2	1,8	0,00199
3		20,0	1,0	1,0	0,00997
4		20,0	2,0	0	0,01994

Table 1. Measurements of antimicrobial surface materials treatments (1), number of repeating (2), amount of added paints, ml (3), amount of added silver nitrate solution, ml (4), amount of added distilled water, ml (5), concentration of silver nitrate, g/ml (6)

A festékeknek a tesztelt mikroorganizmusokra gyakorolt hatását vizsgáltuk. Sterilizált szűrőpapír korongokat (átmérő 0,5 cm) átittattunk különböző koncentrációjú festékekkel. A különböző ezüst tartalmú anyagok baktériumölő hatását a gátlási zóna mérésével dokumentáltuk. A mikrobiológiai vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézetének törzsgyűjteményéből származó *E. coli* baktérium törzs felhasználásával végeztük. A törzsek tiszta tenyészetéből steril fiziológiás sóoldat segítségével baktérium szuszpenziót készítettünk (108 sejt/ml) és Nutrient agar felületére szélesztettük, 5 ismétlést használva.

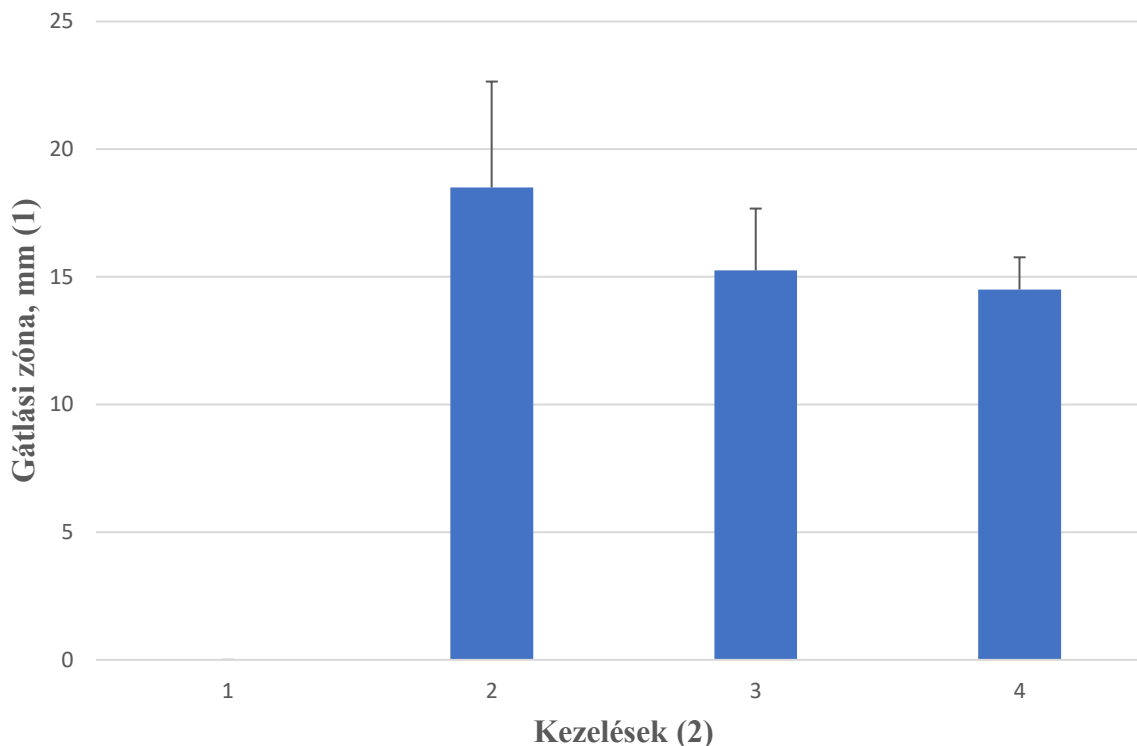
A festék antimikrobiális hatását korong diffúziós módszerrel határoztuk meg a CLSI M02 szabványa alapján. A tesztelt baktériumok (*Escherichia coli*) 24 h tenyészetéből 0,5 McFarland töménységű szuszpenziót készítettünk fiziológiás sóoldatban. A szuszpenziókból 50-50 µl-t szélesztettünk Mueller-Hinton táptalajokra, majd beszárítottuk steril fülkékben. 6-6 mm átmérőjű sterilizált szűrőpapír korongokra steril közegben eltérő koncentrációjú 10-10 µl festéket mértünk automata pipettával, és annak a korongba történő egyenes bejutásáig vártunk. Majd a tesztelni kívánt baktériumtörzsszel előzőekben leírt módszer alapján előkészített táptalajok felszínére (4 db/csésze) helyeztük, nagyjából egymástól azonos távolságra. A Petri-csészéket 17±1 órán keresztül 35±1 °C-on inkubáltuk, majd milliméter pontossággal lemértük a gátlási zónák átmérőit. Minden esetben csak az oldószer(víz) tartalmazó kontroll is beállításra került.

Statisztikai analízis

Az adatok statisztikai kiértékelésekor a Kolmogorov-Smirnov tesztet, a Levene-féle tesztet és az egyutas varianciaanalízist alkalmaztuk az SPSS 27.0 programcsomag felhasználásával.

Eredmények és értékelésük

A minták laboratóriumi petricsészés mikrobiológiai vizsgálatainak eredményeit az alábbi ábra tartalmazza (1. ábra).



1. ábra. A vizsgált festék eltérő koncentrációjának in vitro antibakteriális hatása (gátlási zónák, mm) az *E. coli* növekedésére

Figure 1. In vitro antibacterial activity of the analysed paint (inhibition zones, mm) at different concentrations on growing of *E. coli*
zone of inhibition (1), treatments (2)

A vizsgálat eredményeiből láthatjuk, hogy az ezüstöt nem tartalmazó kontrol minták esetében az antibakteriális hatás egyáltalán nem tapasztalható. A 2-es, a 3-as és a 4-es ezüst-nitrát tartalmú kezeléseknél egyértelműen látszik a vizsgált baktériumokkal szemben kifejtett antibakteriális hatás. Ugyanakkor az ábrán jól megfigyelhető, hogy a 2-es kezelésnél ötször nagyobb ezüst-nitrát tartalmú 3-as kezelés antibakteriális hatása számottevően nem nagyobb, sőt némileg kisebb, mint a 2-es kezelésé. A tendencia folytatódik a 4-es kezelés esetén. A kezelések között szignifikáns különbséget nem tudtunk kimutatni ($P=0,154$). Azonban jól kimutatható, hogy a kezelések szórásértékei csökkennek, azaz a kezelés hatása kiegyenlítettebbé vált. Ezen eredmények azt sugallják, hogy a nagyobb koncentrációjú ezüst-nitrát kezelések egyenletesebb antimikrobiális hatást gyakoroltak az *E. coli* baktériumokkal szemben. Továbbá az eredmények azt jelzik, hogy a koncentráció növelésével az antibakteriális hatás nem lineárisan változik.

Köveztetések és javaslatok

Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy sikeresen állítottunk elő ezüst-nitrát (AgNO_3) tartalmú antibakteriális felületkezelő festéket. A mikrobiológiai vizsgálatok megerősítették, hogy az ezüst-nitrát tartalmú festéknek jelentős antibakteriális hatása van az *E. coli* baktériumra. A koncentráció növekedése nem növelte a gátlás hatásfokát,

viszont az antibakteriális hatás kiegyenlítettebb lett. A sikeres laboratóriumi tesztek folytatásaként javasoljuk a készítmények üzemi körülmények közötti tesztelését.

Irodalomjegyzék

- Bentley R, Meganathan R. (1982): Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. *Microbiological Reviews*, 46, 3, 241–280, <https://doi.org/10.1128/mr.46.3.241-280.1982>
- Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. (2003): Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, 34, 689–716, <https://doi.org/10.1051/vetres:2003030>
- Bőő I. (2002): Gazdasági állataink védelmében. Szaktudás Kiadó Ház Rt., Budapest, 32 p.
- Bozanic, D.K., Djokovic, V., Blanusa, J., Nair, P.S., Georges, M.K., Radhakrishnan, T. (2007): Preparation and properties of nano-sized Ag and Ag₂S particles in biopolymer matrix. *European Physical Journal E*, 22, 51, <https://doi.org/10.1140/epje/e2007-00008-y>
- Diez-Pascual, A.M. (2019): Antibacterial Nanocomposites Based on Thermosetting Polymers Derived from Vegetable Oils and Metal Oxide Nanoparticles. *Polymers*, 11, 11, 1790, <https://doi.org/10.3390/polym11111790>
- Hermann Staudinger and the Foundation of Polymer Science (1999): International Historic Chemical Landmarks. Freiburg, Baden-Wurtemberg, April 19, American Chemical Society.
- Hudault S, Guignot J, Servin AL (2001): Escherichia coli strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against Salmonella typhimurium infection. *Gut*, 49(1), 47–55, <https://doi.org/10.1136/gut.49.1.47>
- Garside, M. (2019): Global plastic production 1950-2018, <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/> (utolsó letöltés: 2019. november 8)
- Maciejewska, M.B., Wychowaniec, J.K., Woźniak-Budych, M., Popenda, L., Warowicka, A., Golba, K., Litowczenko, J., Fojud, Z., Wereszczyńska, B., Jurga, S (2019): UV cross-linked polyvinylpyrrolidone electrospun fibres as antibacterial surfaces. *Science and Technology of Advanced Materials*, 20(1), 979–991, <https://doi.org/10.1080/14686996.2019.1667737>
- Illés G., Pajor F., Póti P. (2016): Szarvasmarha istállók új típusú polimer padozata. *Animal Welfare, Etológia és Tartástechnológia*, 11(1), 48–52, <https://doi.org/10.17205/SZIE.AWETH.2015.1.48>
- Krumpfer, J.W., Schuster, T., Klapper, M., Müllen, K. (2013): Make it nano-Keep it nano. *Nano Today*, 8, 417–438, <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2013.07.006>
- Lu, Y., Spyra, P., Mei, Y., Ballauff, M., Pich, A. (2007): Composite hydrogels: robust carriers for catalytic nanoparticles. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208, 254, <https://doi.org/10.1002/macp.200600534>
- Luo, C., Zhang, Y., Zeng, X., Zeng, Y., Wang, Y.J. (2005): The role of poly (ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 288, 444, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.005>
- Mezey P. (2009): Poli(N,N-dimetil-akrilamid)-l-poliizobutilén amfil kotérhálók előállítása, szerkezeti jellemzése és nanohibridjeik, PhD értekezés, ELTE TTK Kémia Doktori Iskola, Budapest.
- Murgia, D., Angellotti, G., D'Agostino, F., De Caro, V. (2019): Bioadhesive Matrix Tablets Loaded with Lipophilic Nanoparticles as Vehicles for Drugs for Periodontitis Treatment: Development and Characterization. *Polymers*, 11(11), 1801, <https://doi.org/10.3390/polym11111801>
- Odian, G. (1991): Principles of Polymerization. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Perrin, F., Tenenhaus-Aziza, F., Michel, V., Mischczycha, S., Bel, N., Sanaa, M. (2015): Quantitative risk assessment of haemolytic and uremic syndrome linked to O157:H7 and non-O157:H7 Shiga-

- toxin producing *Escherichia coli* strains in raw milk soft cheeses. *Risk Analysis*, 35, 109–128, <https://doi.org/10.1111/risa.12267>
- Reid G, Howard J, Gan BS (2001): Can bacterial interference prevent infection? *Trends in Microbiology*, 9, 9, 424–428, [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02132-1](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02132-1)
- Singh, N. Khanna, P.K. Mater. (2007): In situ synthesis of silver nano-particles in polymethylmethacrylate. *Materials Chemistry and Physics*, 104, 367–372. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2007.03.026>
- US Patent (2010): Patently American blogspot, No. 942,699.
- Tóth R.V. (2014): Poli(N-vinil-imidazol)-l-poli(tetrahidrofurán) kotérhálók tulajdonságai és palládiummal alkotott hibridjei, MSc szakdolgozat, ELTE TTK Kémiai Intézet, Szerves Kémiai Tan-szék
- Vogt, R.L., Dippold, L. (2005): *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with consumption of ground beef. June-July 2002. *Public Health Reports*, 120 (2), 174–178, <https://doi.org/10.1177/003335490512000>
- Wada, Y., Kobayashi, T., Yamasaki, H., Sakata, T., Hasegawa, N., Mori, H., Tsukahara, Y. (2007): Nanohybrid polymer prepared by successive polymerization of methacrylate monomer containing silver nanoparticles in situ prepared under microwave irradiation. *Polymer*, 48. 1441, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.01.047>

A műre a Creative Commons4.0 standard licenc alábbi típusa vonatkozik: CC-BY-NC-ND-4.0.

This work is licensed under aCreative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License.

