

**ÚJ,  
ANTIBAKTERIÁLIS TULAJDONSÁGOKKAL  
RENDELKEZŐ ZOMÁNCOK  
MEGHATÁROZÁSA,  
AZ ANTIBAKTERIÁLIS HATÁS  
ERŐSSÉGÉNEK VIZSGÁLATA**

**Luca Pignatti**  
SMALTIFLEX S.p.A.  
Olaszország



**XXI International Enamellers Congress**

**2008 Május 18-22, Sanghaj, Kína**

# Új, antibakteriális tulajdonságokkal rendelkező zománcok meghatározása, az antibakteriális hatás erősségének vizsgálata

Luca Pignatti\*, Raffaele Poletti\*, Greta Rossi\*, Alberto Chelli,\*  
Andrea Zucchelli\*\*,  
\*Smaltifelex S.p.A.;\*\*Universiti Bologna

(Fordította: Barta Emil)

## 1. Bevezetés

Az üvegzománc történelmi idők óta használatos üveges bevonat, mely esztétikai és korrózióvédő szerepet tölt be agresszív körülmények alatt. Az üvegzománcot fémek bevonására már régen alkalmazták az ékszerészek, kézművesek. Csak a XVII. században kezdték alkalmazni fémek korrózió elleni védelmére. Napjainkban ezt az anyagot széles körben alkalmazzák számos műszaki területen, mint fém felületét a korróziótól védő bevonatot.

Munkánk célja az ilyen bevonatok felhasználási lehetőségeinek kiterjesztése a biológiai tényezőkkel szembeni védelem, nevezetesen a bakteriális védelem irányába. Azon túl, hogy ezek egy korróziós biofilmet<sup>1,2,3,4</sup> létrehozva képesek megtámadni az anyagokat, köztük a fémeket, kiszámíthatatlan kockázatot jelentenek ez emberi, az állati és a növényi szervezetre<sup>5</sup>.

Sajnos az üvegzománccal kapcsolatban csak kevés tanulmány lát napvilágot, és csak néhány munka foglalkozik annak antibakteriális tulajdonságaival. Mindössze egy tanulmányt, Marzullo<sup>6</sup> munkáját, találtunk, mely felismerte az anyag kiváló antibakteriális tulajdonságait. Az utóbbi években számos kutatócsoport figyelmét felhívta ez a probléma, de nem készült egységes munka módszertani és ipari alkalmazástechnikai szempontból. A kutatócsoportok már aktívak más területeken, mint a zománcok mechanikai tribológiai jellemzése terén<sup>7,8,9,10,11</sup> és születtek elméletek a zománcok bakteriális viselkedésével, az antibakteriális folyamat sebességével, a hatásidővel kapcsolatban.

A napjainkban használatos antibakteriális hatást kiértékelő eljárás a JIZ Z 2801:2000 szabványban van rögzítve. Ez az eljárás, legalább ideiglenesen is, nem immúnis a problémára, és a következő fejezetek alternatív és optimális eljárást adnak, melyek Pfaller <sup>7</sup> munkáján alapulnak.

Elttekintve a hagyományos üvegrománcot alkotó oxidoktól, tanulmányoztuk a kerámia területén alkalmazott bakteriális sejtburjánzást gátló fém-oxidokat. Több tanulmányt találtunk, mely különböző fém kationok antibakteriális hatásával foglalkozik, oldott, vagy kerámiaporokban mozgásra képes, vagy kötött állapotban. A leginkább ismert antibakteriális tulajdonságokkal rendelkező szervetlen oxid természetesen az ezüst-oxid ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ), mely oligodinamikus hatású. Ez azt jelenti, hogy az ezüst igen kis koncentráció mellett is aktív. Sikeresen alkalmazzák, mint fémötvözött víztároló tartályok szerkezeti anyagában. Régen sóit sebek fertőtlenítésére használták <sup>7,8,9,10,11</sup>.

A másik oxid, amelyik antibakteriális hatást mutat, a réz-oxid ( $\text{CuO}$ ), melynek ezen tulajdonsága elfogadott számos területen. Nemrég elkezdődött egy kutatás az anyag bakteriális sejtburjánzásra gyakorolt hatásának vizsgálatára. Úgy tűnik, hogy bizonyos vizes közegekben,  $\text{Cu}^{2+}$  formában aktív már  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  koncentráció mellett.

Azért hogy tanulmányozni lehessen a baktériumölő hatást támogató összetételt, szem előtt kell tartanunk több mai tanulmányt, melyek azt mutatják be, hogy a  $\text{Cu(II)}$  nem teljes mennyiségben felelős közvetlenül a bakteriális aktivitásért, mely ugyanakkor kismértékben függ a szabad  $\text{Cu}^{2+}$  jelenlététől az *E.coli* e *S. aureus* által abszorbeált szennyeződések oldatában, visszafordíthatatlanul károsítva szerkezetüket.

Ezt a mennyiséget  $\text{pCu}^{7,8,9}$ -ként mérik.

Napjainkban, köszönhetően a katalízis terén tett intenzív kutatásoknak, kimutatták a  $\text{TiO}_2$  antibakteriális hatását. A titán-oxid annak köszönheti antibakteriális hatását, hogy a szerves vegyületeket tönkretévő UV sugárzás hatására lejátszódo fotokatalitikus reakciókat aktiválja. Számos tanulmány van, mely a  $\text{TiO}_2$  fotokatalitikus hatását mutatja be különböző organizmusokon, por, nano-por, oldat, vagy fotokatalitikus bevonat formában <sup>7,8,9,10,11,12</sup>.

Tényekkel bizonyított <sup>7,8,9,10</sup>, hogy a fotokatalitikus hatás a sejtmembrán lipidjeinek, valamint a sejtközi állomány peroxidációjához vezet, ezáltal megöli a baktériumokat. Még más bevonatok, az itt közöltektől eltérőek, kiváló fotobiocid hatást mutatnak, UV sugárzás aktiváló jelenlétét kívánják. Sawai szerint <sup>7,8,9,10,11</sup> még ha a  $\text{ZnO}$ -nak lenne is valamilyen kölcsönhatása a baktériumokra, az inkább baktériumszaporodást gátló,

mint baktériumölő. Ez hatást gyakorol a Gram-pozitív baktériumra, és hatása a szilárd-folyékony határfelületi kölcsönhatásnak lenne tulajdonítható, így a cink alig oldódik és továbbá mint már említettük, hogyan növelhető részecskéinek finomsága, mely által növelni lehet baktériumszaporodást gátló hatását.

A felületi nedvesedés, köszönhetően a felületi -OH csoportoknak, fontos szerepet játszik az antibakteriális aktivitásban: érzékeny a magas hőmérsékletű (1023K) hőkezelésre, ami hidrátmentes szerkezet stabilizációját (63%) okozza a Zn-O kötésekben. Más, ezzel a csoporttal foglalkozó munkákban, kiemelik, hogy a ZnO működési mechanizmusa kapcsolatba hozható az E.coli sejtekben történő riboszóma bomlással. Ez abból a tényből vezethető le, hogy a ZnO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-t fejleszt. Ami az említetteket illeti, utalunk az új, cink-oxidot és cink-borátot tartalmazó antibakteriális tulajdonságokkal rendelkező kerámia és lemez zománcokra érvényes szabványra (WO 2006/099468 A2).

Végül meg kell említenünk egy a nanometrikus kvarc, zink-oxid és titán-dioxid között végzett érdekes összehasonlító tanulmányt <sup>7</sup>. A szerzők utalnak a nanoméretű kristályos kovasav, ha nem is túl erős, de érdekes mikrobaölő képességére. A kovasavnak ez a sajátossága összefüggésben van a kezdetekben bemutatott zománcok alapvető mikrobaellenes viselkedésével.

Mint mostanáig bizonygattuk, elmondható, a szerves oxidok képessége arra, hogy antibakteriális szerepet töltsenek be, az alábbiaktól függhet:

1. az antibakteriális hatás átvitelétől, a kationok formájától, a baktériumot tartalmazó oldattól
2. azon szerves vegyületek fotokatalitikus oxidációjától, melyekből a baktérium származtatható
3. az oxidáló elemek, mint a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, katalitikus úton történő képződésétől

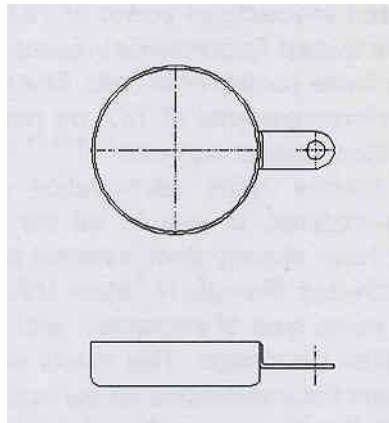
Munkánk célja tanulmányozni az ilyen és más anyagok antibakteriális hatékonyságát, amikor azok lemezzománcok alkotóelemeiként szerepelnek.

## 2. Kísérletek

### 2.1 Mintakészítés

A zománcok alkalmazhatóságának figyelembevételével három mintát készítettünk: AMB1 (fehér zománc), AMB2 (bojler zománc) és AMB3 (saválló zománc)

Alacsony széntartalmú DC04ED lemezből készült Petri csésze alakú próbatestet (**1.ábra**) a rendelkezésre álló iszappal bevontuk.



**1.ábra**

**A mikrobiológiai vizsgálatoknál használt Petri-féle csésze rajza**

A mintákat 850 °C-on 6,5 percre égettük. Hogy értékelhessük az analitikai eljárást, egy szett Petri-mintájú edényt nem antibakteriális hatású zománcbevonattal láttunk el. Ezt STANDARD-nak neveztük el.

### 2.2 Az antibakteriális aktivitás elemzésének módszere

Az ebből a kutató munkából nyert adatok olyan, mikrobiológiai vizsgálatok eredményeire támaszkodnak, melyek kifejezetten azzal a céllal készültek, hogy minimalizálják a kísérleti tévedéseket és hogy felgyorsítsák ez elemzést.

A JIS Z 2801:2000 szabványban rögzítettekre és a Nemzetközi Klinikai Szabvány Bizottság (NCCLS) Time-Kill eljárásban tett ajánlásaira alapozva egy eljárást dolgoztunk ki a felületi antibakteriális hatás időben történő változásának elemzésére. Ennek alapvető lépése egy Petri típusú edényke készítése, melynek baktériumtenyészetet tartalmazó táptalajjal érintkező belső felülete azzal a bevonattal van ellátva, mely bevonat antibakteriális hatását vizsgálni szándékozunk.

A vizsgálatokat APT baktérium szuszpenzióval és normál mikrobiológiai szabvány szerinti koncentrációjú,  $10^8$  CFU/ml, Escherichia Coli e Staphylococcus aureus fiziológiai oldattal végeztük. Minden teszt kezdetén a két baktérium oldat ismert mennyi-

ségével, általában 10 ml vagy az egész edényke bevonására elegendő mennyiség, oltottuk be a bevonattal ellátott Petri-típusú edénykéket és szűz mintaként szereplő Standard Petri-edénykét. Majd sötét és fényel megvilágított 37°C-os inkubátorba helyeztük őket. A beoltás pillanatától számított 6, 20 és 72 órában 10 µL baktérium szuszpenziót pipettáztunk ki az edénykékből a vizsgálatok végzésére és a CFU maradékot meghatároztuk agar táptalaj eljárással.

A vázolt eljárás egyik változataként  $10^3$  CFL/ml APT oldatot használtunk, mellyel a STANDARD minta tesztjeit végeztük, hogy eloszlássunk minden kétséget az ajánlott eljárással szemben, Ebben a változatban a mintavételt 0,2 ; 1; 2; 3; 4; 20 és 72 óra elteltével végeztük.

### **3. Eredmények és magyarázatok**

#### **3.1 Az eljárás erősségei**

Hogy ellenőrizzük a bakteriális fertőzöttség csökkenés elemzési eljárásának hatékonyságát,  $10^3$  CFU/ml baktérium koncentráció mellett is elvégeztük a méréseket az összes variánszal. A STANDARD zománccal is, melyben a helyettesítő oxidok mennyisége minimális, és egy készlet Petri csészén is. A vizsgálatokat minden egyes esetben 5-ször megismételtük. A **2.ábrán** tisztán látható, az ATP-ben levő E.coli görbék emelkedése, a fényviszonyok függvényében. Látható, hogy a kétféle Petri edény esetében a görbék szinte azonosan futnak. S. aureus esetében hasonló eredmények születtek. Látható, hogy mindkét Petri edény esetében néhány óra elteltével az APT oldat baktérium koncentrációja  $10^8$  CFU/ml kezdeti értéket vesz fel.

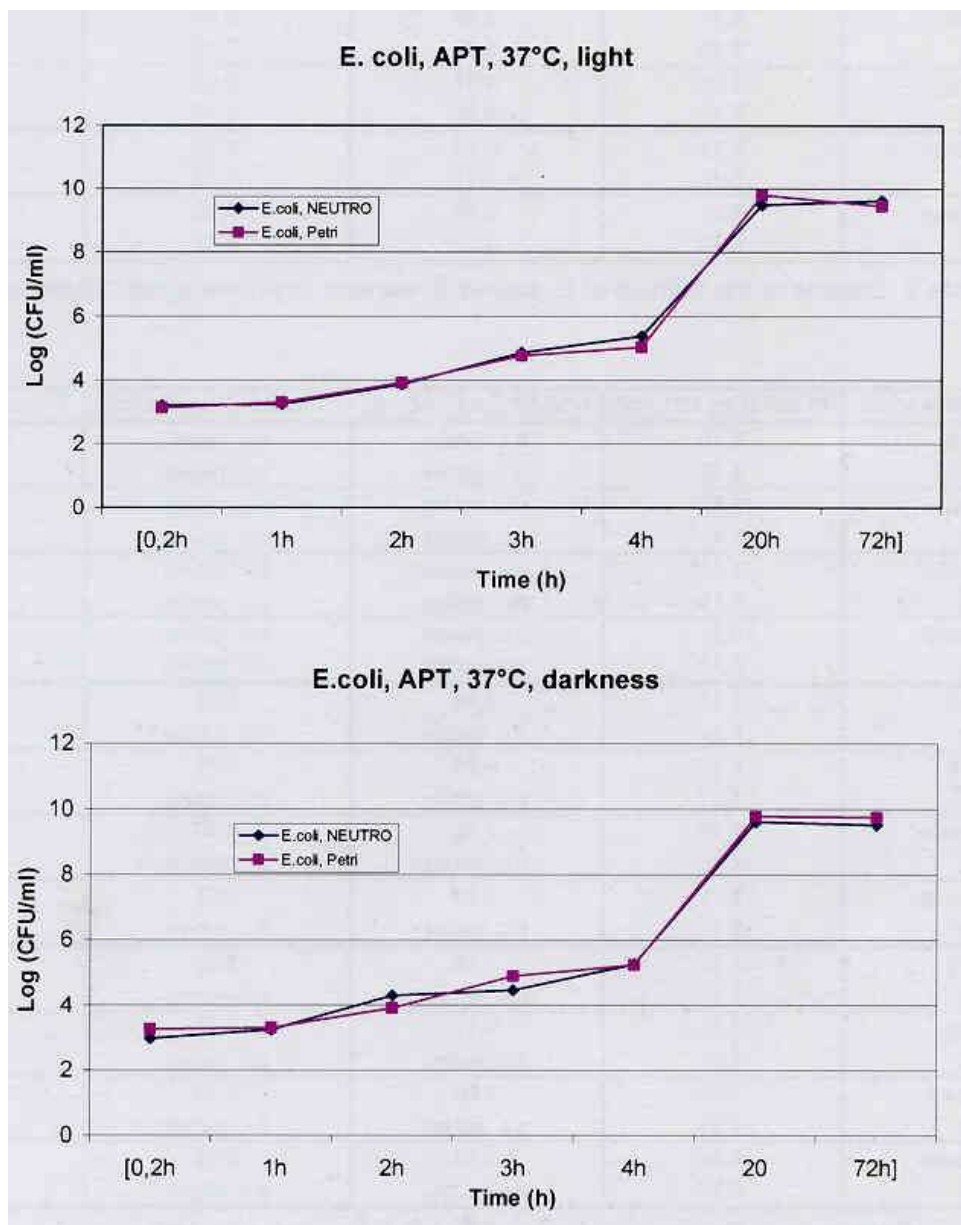
#### **3.2 Az antibakteriális hatás kiértékelése**

A hármféle bevonat esetében kapott kísérleti eredmények fiziológiai és APT oldatban a **2.-3. táblázatban** található. A **3-4. ábrán** az E.coli és S aureus szaporodási görbéje látható fiziológiai és APT oldatban a legjobb eredményt mutató AMB3 zománcbevonat esetében.

Mint már említettük, a vakpróbák semelyik esetben sem mutattak bakteriális aktivitást. Ezzel szemben az AMB3-el készített, fényben és sötétben inkubált, Petri-szerű mintaedényben beoltott fiziológiai oldat szuszpenziójában végzett baktérium számlálás eredményeiből kapott görbék a kezdeti baktériumtenyészet számszerű csökkenését mutatják mintegy három nagyságrendben.

Részletesen, az E.coli fiziológiai oldatban fényben és sötétben, már három óra elteltével három nagyságrendnyi csökkenés figyelhető meg, mely eléri a 7 nagyságrendet a 20. órában.

Az S.aureus fiziológiai oldatban a kezdeti érték már hat óra elteltével 7 nagyságrendet csökken.



**2.ábra**  
Az APT-ben levő E.coli szaporodás görbéje  
STANDARD és Petri csésze esetén

Zománc	Körülmény	Baktérium	15 perc (log CFU/ml)	6 óra (log CFU/ml)	20 óra (log CFU/ml)	72 óra (log CFU/ml)
AMB1	Fény	E.coli	8,34	8,03	5,98	5,82
		Petri	8,16	8,09	7,75	7,64
	Sötét	E.coli	8,36	8,12	6,07	6,01
		Petri	8,42	8,22	7,83	7,51
	Fény	S. aureus	8,11	7,26	6,21	5,36
		Petri	8,17	7,81	7,65	7,23
	Sötét	S. aureus	8,01	7,04	5,94	5,01
		Petri	8,30	8,21	8,08	7,49
AMB2	Fény	E.coli	8,22	5,08	1,36	0,45
		Petri	8,14	8,06	7,29	7,25
	Sötét	E.coli	8,24	5,11	1,45	0,85
		Petri	8,34	8,16	7,49	7,33
	Fény	S. aureus	8,09	1,97	1,40	-0,02
		Petri	8,32	7,11	7,02	6,75
	Sötét	S. aureus	8,12	2,65	1,75	0,98
		Petri	8,34	7,56	7,35	7,21
AMB3	Fény	E.coli	8,34	4,78	0,95	-0,05
		Petri	8,26	8,18	7,78	7,74
	Sötét	E.coli	8,36	4,91	0,95	-0,05
		Petri	8,45	8,26	7,79	7,56
	Fény	S. aureus	8,11	0,95	1,30	-0,05
		Petri	8,30	8,15	8,12	7,98
	Sötét	S. aureus	8,01	0,95	0,95	0,78
		Petri	8,30	8,21	8,01	7,85

## 2. táblázat

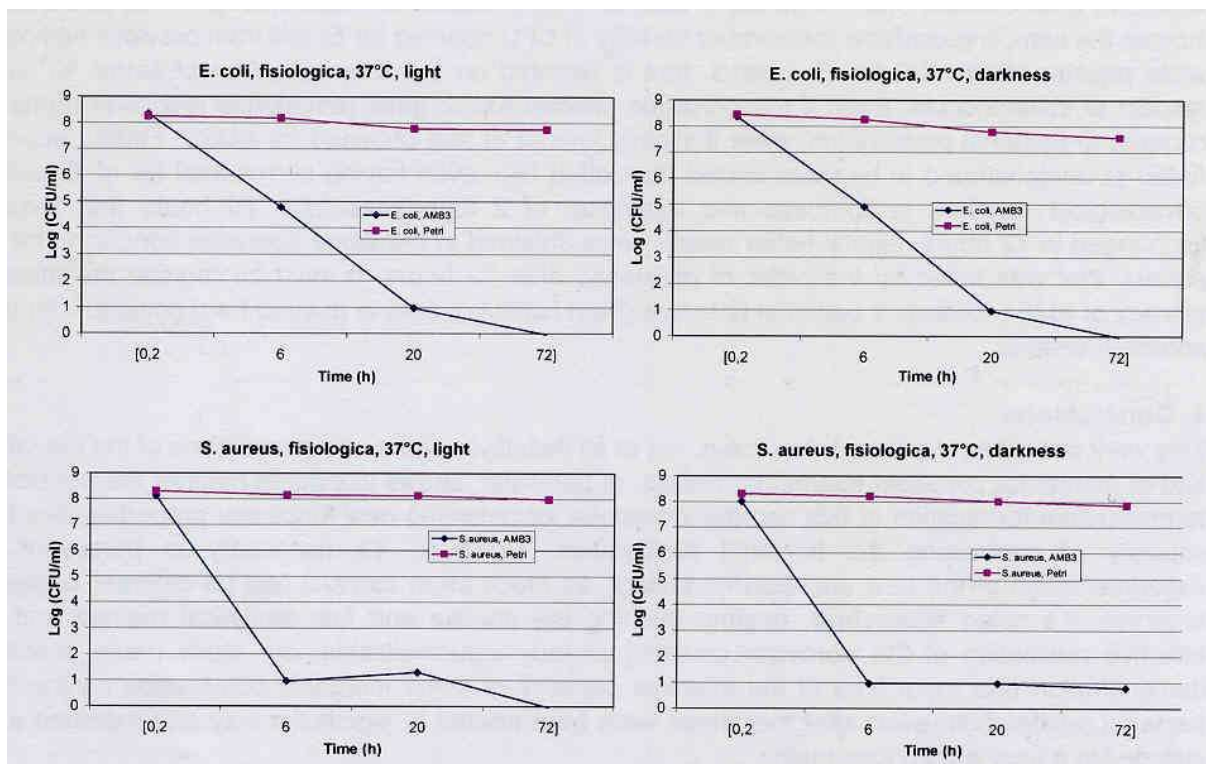
*Az E.coli és S.aureus szaporodási vizsgálati eredményei fiziológiai oldatban*

Zománc	Körülmény	Baktérium	15 perc (log CFU/ml)	6 óra (log CFU/ml)	20 óra (log CFU/ml)	72 óra (log CFU/ml)
AMB1	Fény	E.coli	8,16	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
		Petri	8,24	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Sötét	E.coli	8,62	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
		Petri	8,41	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Fény	S. aureus	8,17	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
		Petri	8,19	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Sötét	S. aureus	8,34	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
		Petri	8,30	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
AMB2	Fény	E.coli	8,12	7,44	5,25	5,20
		Petri	8,26	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Sötét	E.coli	8,31	6,99	5,71	5,64
		Petri	8,27	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Fény	S. aureus	8,39	7,36	5,40	4,76
		Petri	8,25	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Sötét	S. aureus	8,25	7,34	8,81	4,42
		Petri	8,02	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
AMB3	Fény	E.coli	8,31	7,18	5,05	5,00
		Petri	8,33	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Sötét	E.coli	8,25	7,11	5,22	5,14
		Petri	8,41	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Fény	S. aureus	8,02	7,00	5,30	4,15
		Petri	8,33	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina
	Sötét	S. aureus	8,20	7,04	5,51	4,42
		Petri	8,27	n.c. patina	n.c. patina	n.c. patina

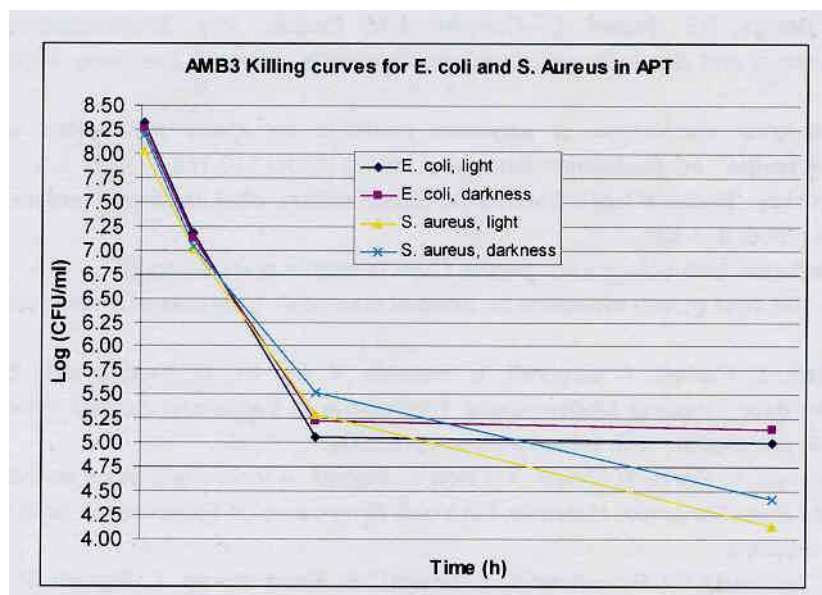
## 3. táblázat

*Az E.coli és S.aureus szaporodási vizsgálati eredményei APT oldatban*





**3.ábra**  
 Az *E. coli* és *S. aureus* növekedési görbéje  
 fiziológiai oldatban AMB3 bevonaton



**4.ábra**  
 Az *E. coli* és *S. aureus* növekedési görbéje  
 ATP oldatban AMB3 bevonaton;  
 0,2; 6; 20; és 72 órás érintkezést követő pontok

Ennél a két baktériumfajánál az APT oldatnál AMB3 bevonattal érintkezve, fényben és sötétben, a kezdeti beoltott baktériumszám nem több mint 1 nagyságrendnyi csökkenést mutatott 6 óra után és három nagyságrendnyi csökkenést 20 óra után. 72 óra után az E.coli szám konstans értékre állt be. Míg az S. aureus-nál későbbi esést regisztráltunk, mely bizonyítottan 4 nagyságrendnyi értéket mutatott. Még ha a bakteriális sejtburjánzás szempontjából az AMB2 bevonat említésre méltó eredményeket adott is, mégis kicsit gyengébb, mint az AMB3 bevonat. Végül az AMB1 bevonat csak korlátozott erősséget mutatott, még ha az E.coli két nagyságrendnyi csökkenését tette is lehetővé a fiziológiai oldatban, sötétben és fényben, 20 óra elteltével. Kicsit jobb eredmények születtek S.aureus esetében ami 72 óra elteltével esett egy nagyságrendet. Az AMB1 zománc esetében a hatékonyság hiányát kellett megállapítanunk mindkét baktériumtörzssel szemben Petri csészében és Petri-féle edénykékben egyaránt.

#### **4. Következtetések**

Munkánk új lehetőségeket kínál a zománckutatás és a zománc piac számára. Pontosabban, kézenfekvő módszert mutat ezen bevonatok összetételének lehetséges változtatására új funkcionális tulajdonságok, mint a baktérium burjánzás gátlása, elérése érdekében. Természetesen szükséges egy új antibakteriális tényező kikísérletezése, valamint a különböző baktérium törzsekkel végzett vizsgálatok elvégzése.

Végül megemlíjtük, hogy munkánk során bemutattuk, hogyan fejt ki néhány szervetlen vegyület baktériumszaporodásra kifejtett gátló hatását, még ha hőkezelésen és üvegmátrixba történő beépítésen ment is keresztül.