

Paweł Nawrotek¹*, Adrian Augustyniak¹

¹Katedra Immunologii, Mikrobiologii i Chemii Fizjologicznej, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Wpłynęło w lipcu 2015 r.

1. Wstęp. 2. Charakterystyka nanomateriałów. 3. Zastosowanie nanomateriałów w mikrobiologii. 4. Nanomateriały pochodzenia mikrobiologicznego. 5. Oddziaływanie nanomateriałów na mikroorganizmy środowiskowe. 6. Podsumowanie

Nanotechnology in microbiology – selected aspects

Abstract: Microbiology plays an important role in nanotechnology, especially that the natural environment (particularly soil) is considered to be the main reservoir of modern molecular nanomaterials, which may influence its inhabitants – microorganisms. Variety of shapes, sizes and properties predestine nanomaterials for tools in the development of many life aspects and associated disciplines, including medicine, agriculture and biotechnology. At the same time, the present knowledge regarding consequences of the interaction between, e.g., environmental microorganisms and nanomaterials (such as silica nanospheres, carbon nanotubes, or graphene oxide flakes modified with titanium dioxide, copper or silver) seems to be insufficient. It is problematic to predict distant outcome and significance of the exposition to such nanostructures. Therefore, it is fundamental to describe the interactions between nanomaterials and living organisms, including bacteria and fungi, which constitute the first barrier between the nanotechnological products and the natural environment. Undertaking the steps for health and environment protection is particularly required when nanomaterials are used for agrotechnical purposes, e.g., exploitation of nanomaterials-containing fertilisers. On the other hand, there are new possibilities of the nanomaterials production with the use of appropriate bacteria. Furthermore, it appears that microorganisms may be stimulated by the nanomaterials to overcome certain problems in the industrial processes.

1. Introduction. 2. Characterization of nanomaterials 3. Application of nanomaterials in microbiology 4. Nanomaterials of microbiological origin 5. Effect of nanomaterials on environmental microorganisms 6. Summary

Słowa kluczowe: nanotechnologia, nanomateriały, mikroorganizmy środowiskowe, interakcja, biotechnologia

Key words: nanotechnology, nanomaterials, environmental microorganisms, interaction, biotechnology

1. Wstęp

Nanotechnologia jest jedną z najszybciej rozwijających się dziedzin nauki XXI wieku. Jej osiągnięcia wykorzystywane są głównie w przemyśle i medycynie. O skali wytwarzania produktów nanotechnologicznych może świadczyć fakt, iż na świecie powstaje ich kilkadziesiąt tysięcy ton rocznie [56]. Istnieje wiele rodzajów nanomateriałów i nanocząstek opartych na pierwiastkach chemicznych, takich jak: krzem, węgiel, tytan, srebro, pallad, złoto, platyna itp. [1]. W zależności od przeznaczenia wykorzystuje się różne rodzaje struktur, w tym same nanomateriały lub nanocząstki wchodzące w skład modyfikowanych powierzchni użytkowych [13]. Istotnym aspektem i zarazem wyzwaniem nanotechnologii jest wykorzystywanie właściwości prze-

ciwdrobnoustrojowych nanomateriałów. Dzięki temu produkcja aktywnych nanostruktur ma szerokie grono odbiorców i jest wykorzystywana w wielu aspektach życia codziennego [69]. Liczne korzyści wynikające ze stosowania produktów nanotechnologicznych nie powinny jednak przysłaniać możliwych zagrożeń będących skutkiem ich masowej eksploatacji. Rosnąca liczba odpadów zawierających nanomateriały przenikając do środowiska naturalnego może w różnorodny sposób oddziaływać na żyjące w nim organizmy [12, 29]. Obecna wiedza na temat ewentualnych skutków interakcji organizmów żywych, w tym np. bakterii glebowych, z różnymi nanocząsteczkami jest wciąż niewystarczająca, trudno jest też przewidzieć jakie to może mieć znaczenie bądź jakie mogą być tego odległe konsekwencje. W niniejszej pracy scharakteryzowano

* Autor korespondencyjny: Katedra Immunologii, Mikrobiologii i Chemii Fizjologicznej, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, al. Piastów 45, 70-311 Szczecin; tel: +48 91 44 96 710; fax: +48 91 45 41 642; e-mail: pawel.nawrotek@zut.edu.pl

wybrane nanomateriały znajdujące zastosowanie w mikrobiologii, z uwzględnieniem nanomateriałów pochodzenia mikrobiologicznego, a także przedstawiono najnowsze wyniki badań dotyczących ich oddziaływania na mikroorganizmy środowiskowe oraz wskazano perspektywy wynikające ze stosowania nanomateriałów i problemów z tym związanych.

2. Charakterystyka nanomateriałów

Nanomateriał definiuje się jako strukturę zbudowaną z jednej lub wielu rodzajów cząsteczek, której wielkość (przynajmniej w jednej płaszczyźnie) mieści się w przedziale od 0,1 do 1000 nm. Przedrostek „nano” pochodzi z języka greckiego i w dosłownym tłumaczeniu oznacza „karzeł”. Skalą, w której należy posługiwać się określeniem „nano” jest zakres odnoszący się do miliardowych części całości mieszczący się w granicach od 10^{-9} do 10^{-11} [47].

Nanomateriały wytwarzane są podczas procesów fizycznych, syntezy chemicznej oraz biologicznej – wewnątrzkomórkowo lub na powierzchni komórek mikroorganizmów [41]. Generalnie produkcja nanomateriałów prowadzona jest dwoma sposobami. Pierwszy określany jako „top down” polega na zmniejszaniu materiału do osiągnięcia nanoskali, z kolei drugi, zwany „bottom up” przebiega odwrotnie i polega na łączeniu ze sobą atomów i molekuł do momentu osiągnięcia odpowiedniej wielkości [48]. Wykorzystanie

metod mikrobiologicznych do tworzenia nanomateriałów zyskuje wymiar proekologiczny i ściśle wpisuje się w działania związane z tzw. „zieloną chemią” [33]. Zasadniczą zaletą tego podejścia jest również możliwość znacznego ograniczenia kosztów produkcji nanomateriałów w stosunku do pozostałych sposobów ich syntezy. Ponadto, nanomateriały produkowane są wówczas z pominięciem szkodliwych dla środowiska związków chemicznych, przez co mogą charakteryzować się potencjalnie niższym poziomem toksyczności względem komórek [1, 33]. Wybrane rodzaje nanomateriałów wytwarzanych przez komórki bakteryjne i grzybowe zestawiono w tabeli I.

W zasadniczej klasyfikacji nanomateriałów uwzględnia się, takie parametry jak: wielkość – 0,1–1000 nm; kształt – płaskie, trójkątne, sferyczne, piramidalne, oktaedralne, sześciennie, nieregularne; struktura – porowata, nieporowata; złożoność budowy – zbudowane z cząsteczek jednego rodzaju lub z cząsteczek dwóch i więcej rodzajów; sposób wytwarzania – synteza fizyczna, chemiczna oraz biologiczna. Aktualnie nanomateriały różnicuje się także na wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe [1, 33, 41].

3. Zastosowanie nanomateriałów w mikrobiologii

Nanomateriały znajdują różnorodne zastosowania w mikrobiologii. Stanowią alternatywę dla obecnie stosowanych metod unieszkodliwiania patogenów [28],

Tabela I
Przykłady nanomateriałów wytwarzanych przez bakterie i grzyby

	Nanomateriał	Mikroorganizm	Wielkość (nm)	Źródło
Bakterie	AgNPs	<i>Arthrobacter gangotriensis</i> , <i>Pseudomonas antarctica</i> , <i>P. proteolytica</i> , <i>P. meridiana</i>	6–13	[64]
	AuNPs	<i>Marinobacter pelagius</i>	10	[62]
		<i>Thermomonospora</i> sp.	8–40	[3]
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15–30	[32]
	CdS NPs	<i>Brevibacterium casei</i>	10–30	[52]
	CdS QD	<i>Escherichia coli</i> (GM)	6	[43]
	CdTe QD	<i>Escherichia coli</i>	10–30	[8]
	greigite NPs	BW-1	bd	[39]
	magnetite NPs	<i>Thiobacillus thioparus</i>	bd	[19]
PHB NPs	<i>Brevibacterium casei</i>	100–125	[53]	
Grzyby	AgNPs	<i>Trichoderma viride</i>	5–40	[21]
		<i>Fusarium oxysporum</i>	5–15	[2]
		<i>Aspergillus fumigatus</i>	5–25	[10]
		drożdże MKY3	2–5	[35]

AgNPs – nanocząstki srebra; AuNPs – nanocząstki złota; CdS NPs – nanocząstki siarczku kadmu; CdS QD – kropki molekularne siarczku kadmu; CdTe QD – kropki molekularne tellurku kadmu; greigite NPs – nanocząstki greigitu; magnetite NPs – nanocząstki magnetytu; PHB NPs – nanocząstki kwasu polihydroksymasłowego; GM – szczerp genetycznie modyfikowany; bd – brak danych

mogą być nośnikami aktywnych związków o działaniu bakteriobójczym [18, 21], a także mają zastosowanie w produkcji szczepionek [45]. Należy podkreślić, iż możliwość wykorzystywania mikroorganizmów do wytwarzania nanomateriałów jest zagadnieniem zyskującym coraz większe znaczenie wśród mikrobiologów i biotechnologów [47, 63].

Jak już wspomniano niezmiernie istotnym i popularnym przykładem zastosowania nanomateriałów w mikrobiologii jest wykorzystywanie ich właściwości antymikrobiologicznych. Efektem tego trendu są liczne możliwości stosowania określonych nanomateriałów w medycynie, np. w profilaktyce i terapii chorób bakteryjnych, przemyśle spożywczym, kosmetycznym, rolnictwie podczas prac związanych z użyźnianiem gleby, a także budownictwie do produkcji cementów o wzmoczonych właściwościach antybakteryjnych [12, 15, 26, 69].

Generalnie przyjmuje się, że właściwości antybakteryjne nanomateriałów zwiększają się wraz ze zmniejszeniem wielkości cząstek [54]. Dotychczas odnotowano różne mechanizmy oddziaływania nanostruktur na komórki bakteryjne oparte na ich przenikaniu do wnętrza komórki, agregacji na jej powierzchni oraz wytwarzaniu w środowisku zewnętrznym reaktywnych rodników tlenu [28]. Właściwości antybakteryjne wykazuje wiele rodzajów nanomateriałów. Szczególnie dużą grupę stanowią te, które zawierają metale, takie jak: srebro, złoto, miedź, pallad lub platyna [1]. Podobne właściwości wykazują również nanostruktury oparte na tlenkach metali, czyli nanotlenkach, w tym np. ditlenku tytanu (TiO_2) i tlenku cynku (ZnO) [49].

Dużym zainteresowaniem badaczy ze względu na silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, cieszą się nanocząstki srebra, często stosowane do zwalczania patogenów bakteryjnych z rodzaju *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Staphylococcus* oraz *Pseudomonas* [17, 63]. Fayaz i wsp. [21] podają, że nanocząstki srebra wytwarzane przez grzyb z gatunku *Trichoderma viride* wzmacniały działanie antybiotyków, takich jak: ampicylina, kanamycyna, erytromycyna i chloramfenikol. Ten sam typ nanocząstek wykazywał także wysoką skuteczność przeciwko enterokrwotocznym szczepom *E. coli* O157: H7 oraz metycylinoopornym szczepom *S. aureus* (MRSA) [54]. Nanometale oddziałują na komórki bakteryjne w różnorodny sposób. Stwierdzono, że nanocząstki srebra przyłączają się do komórek i wywołują uwolnienie substancji, do których agregują. Nanocząstki złota indukują formowanie biofilmu i gromadzą się w jego obrębie. Z kolei, struktury oparte na platynie powodują uszkodzenie ściany komórkowej i wpływ cytozolu [16, 40].

Tlenki metali, w tym przede wszystkim ditlenek tytanu i tlenek cynku, wykazują działanie antybakteryjne poprzez efekt fotokatalityczny powstający w następstwie aktywacji światłem [49]. Właściwości bakte-

riobójcze wykazują także nanomateriały przygotowane na bazie kwasu tytanowego (nano-trititanate – $H_2Ti_3O_7$). Pan i wsp. [51] wykazali użyteczną właściwość tego nanomateriału polegającą na tym, że zmiana kształtu i wielkości obniżały jego toksyczność względem komórek eukariotycznych przy jednoczesnym zachowaniu właściwości bakteriobójczych.

Znaczący efekt toksyczności wobec bakterii uzyskiwany jest także poprzez funkcjonalizowanie nanostruktur określonymi nanocząstkami. W szczególności dotyczy to nanomateriałów krzemionkowych, które mogą być modyfikowane, np. ditlenkiem tytanu lub miedzią. Właściwości antybakteryjne tak modyfikowanych nanostruktur potwierdzono m.in. w przypadku testowego szczepu *Escherichia coli* [13]. Bibbs i wsp. [11] wykazali, że nanostruktury z poliwinylpiperolidonu (PVP) modyfikowane srebrem, wykazywały wysoką toksyczność względem dwoinki *Streptococcus pneumoniae*. Funkcjonalizowane mogą być ponadto inne nanomateriały włączając w to nanorurki węglowe oraz płatki tlenku grafenu [27, 60].

Nanomateriały są również wykorzystywane jako nośniki związków o działaniu antymikrobiologicznym. Fayaz i wsp. [21] dowodzą, że mogą one być nie tylko nośnikami dla antybiotyków, ale także działac z nimi synergistycznie. Interesującym zastosowaniem nanomateriałów może być możliwość wykorzystania ich jako adjuwantów w szczepionkach. W ten sposób wykorzystywane mogą być m.in. nanocząsteczki chitozanu, które wprawdzie nie wykazują właściwości immunomodulujących, jednakże mogą stanowić nośnik dla innych immunomodulatorów [45]. Medyczne zastosowanie mogą mieć też nanostruktury magneytu i greigitu pochodzenia bakteryjnego [9, 57]. Na bazie nanocząstek magneytu możliwe jest opracowanie potencjalnej terapii przeciwnowotworowej z wykorzystaniem cząsteczek magnetycznych, którą teoretycznie można prowadzić dwiema drogami. Pierwsza, polegałaby na przyłączeniu do powierzchni nanomateriału substancji antynowotworowej i skierowaniu go przy pomocy pola magnetycznego do miejsca objętego guzem. Druga, opierałaby się na zmianach kierunku pola magnetycznego umożliwiających zdeponowanie nanomateriału w ognisku chorobowym i jednocześnie jego rozgrzanie, prowadzące do unieszkodliwienia nowotworu na drodze termicznej. Magneyt znajduje też zastosowanie w diagnostyce obrazowej, np. z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego (MRI) [22, 46].

Potencjał aplikacyjny nanomateriałów nie ogranicza się jedynie do zastosowań medycznych. Trwają prace nad wykorzystaniem nanocząstek w nawozach stosowanych w rolnictwie [15]. Ciekawym aspektem jest również możliwość wykorzystania bakteriofagów do przenoszenia nanomateriałów. Metoda określana jako „phage display” polega na ekspozycji na powierzchni

faga określonych bioaktywnych nanostruktur, np. nanocząstek złota, które mogą być wykorzystywane w terapii przeciwnowotworowej oraz diagnostyce [66]. Ponadto, możliwe staje się już stosowanie nanocząstek organicznych, takich jak liposomy, które mogą być bardzo pomocne w prowadzeniu ukierunkowanej terapii skierowanej przeciwko specyficznym komórkom nowotworowym [24].

4. Nanomateriały pochodzenia mikrobiologicznego

W ostatnich latach odnotowuje się coraz większe zainteresowanie produkcją nanomateriałów z wykorzystaniem bakterii i grzybów, a także eksponowaniem nanostruktur na powierzchni cząstek wirusowych [33, 47, 57]. Wydaje się, iż synteza nanomateriałów z wykorzystaniem komórek mikroorganizmów może odgrywać szczególne dużą rolę w nanotechnologii. Nanomateriały wytworzone przez pojedynczą komórkę są ujednoczone pod względem kształtu i wielkości, co stanowi duże utrudnienie w przypadku tradycyjnych technologii ich pozyskiwania. Dobrym przykładem są bakterie magnetotaktyczne, które wytwarzają w swoich komórkach magnetosomy zawierające magnetyt i greigit [9, 57]. Substancje te mogą stanowić źródło nanomateriałów przeznaczonych do zastosowań biomedycznych, podobnie jak nanocząsteczki metali pozyskiwane metodami biogenicznymi wykorzystywane, np. w kierunkowej terapii przeciwnowotworowej [33]. Potencjalne medyczne zastosowanie mogą mieć także nanocząstki siarczku kadmu (*CdS*) opłaszczone kwasem polihydroksymasłowym (PHB) syntetyzowane przez *Brevibacterium casei*. Fluorescencyjne właściwości tych nanostruktur mogą zostać wykorzystane do precyzyjnego obrazowania skupisk komórek nowotworowych [52]. Z kolei, szczepy pałeczek z rodzaju *Pseudomonas* są zdolne do wewnątrzkomórkowego syntetyzowania nanostruktur zbudowanych z metali ciężkich, takich jak selen i kadm, co związane jest z ich opornością na metale ciężkie oraz zdolnością do redukcji selenianu sodu [6]. Gatunek *Pseudomonas aeruginosa* stanowi ponadto efektywne źródło surfaktantów, które mogą zostać wykorzystane podczas chemicznej syntezy nanocząstek zawierających srebro [20].

Znaczący potencjał biotechnologiczny w zakresie otrzymywania nanocząstek mogą wykazywać również powszechnie występujące w środowisku promieniowce. Podczas pilotażowych badań własnych ustalono, że izolat glebowy z rodzaju *Streptomyces* posiadał zdolność do wewnątrzkomórkowej akumulacji tytanu w obszarach odpowiadających umiejscowieniu ziaren polifosforanu [5]. Potencjalną możliwość wykorzystania tych bakterii w syntezie nanomateriałów, np. nanocząstek srebra, podkreślają niektórzy autorzy [14, 37, 67].

Nanostruktury molekularne mogą być dodatkowo syntetyzowane przez mikroorganizmy modyfikowane genetycznie. W badaniach Mi i wsp. [43] do komórek *E. coli* wklonowano insert, który umożliwiał wytwarzanie nanocząstek *CdS* w postaci tzw. nano kropek (QD – quantum dots), które charakteryzowały się unikalnymi właściwościami optycznymi. Metodami inżynierii genetycznej doprowadzono także do syntezy nanocząstek złota za pośrednictwem bakterii z gatunku *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae* oraz *P. savastanoi* [4].

Obok udziału w syntezie samych nanomateriałów mikroorganizmy mogą również z nimi oddziaływać, czego efektem może być stymulacja ich aktywności. Na podstawie badań Ge i wsp. [23] można przypuszczać, że kontakt z nanomateriałem obecnym w środowisku może spowodować wzrost aktywności metabolicznej określonych drobnoustrojów, w tym przede wszystkim zwiększenie sekrecji metabolitów wtórnych. Z kolei, z badań przeprowadzonych przez Maurer-Jones i wsp. [42] wynika, że zastosowanie nanocząstek ditlenku tytanu w hodowli *Shewanella oneidensis* prowadziło do zwiększenia sekrecji flawin. W badaniach własnych także potwierdzono, że ten nanotlenek aktywowany promieniami UV może stymulować komórki *Streptomyces* sp. przyspieszając sekrecję egzopolimerów [5]. Praktyczne wnioski ze swoich badań wysnuli w tym kontekście Larsen i wsp. [38], którzy wykazali, że komórki *E. coli* eksponowane na kontakt z nanocząstkami chitozanu ulegały przyspieszonej agregacji. Autorzy ci zasugerowali, że zjawisko to może znaleźć zastosowanie, np. podczas separowania komórek bakteryjnych w przypadku wykrywania kontaminacji zakłócających kontrolowany przebieg procesu fermentacji.

Warto podkreślić, iż nanomateriały mogą także wzmacniać działanie antybiotyków, chociaż jednocześnie zwiększają ryzyko horyzontalnego transferu genów oporności [59]. Qiu i wsp. [59] zaobserwowali, że częstotliwość wymiany plazmidów zawierających sekwencje wielolekooporności, pomiędzy *E. coli* a *Salmonella* spp., wzrastała nawet dwustukrotnie po ich kontakcie z nanomateriałami zawierającymi tlenki glinu, tytanu, krzemu oraz żelaza. Konieczne są dalsze badania pogłębiające ten interesujący aspekt nanotechnologicznego wymiaru mikrobiologii.

5. Oddziaływanie nanomateriałów na mikroorganizmy środowiskowe

Zwiększające się zapotrzebowanie na nanomateriały w różnych dziedzinach życia powoduje ciągły wzrost ich produkcji. Oszacowano, iż w 2012 roku na świecie wyprodukowano dziesiątki tysięcy ton nanomateriałów, w tym największej dwutlenku tytanu – do 10 000 ton.

Produkcja innych nanomateriałów, takich jak: CeO_2 , FeO_x , AlO_x , ZnO czy nanorurek węglowych (CNT) wahała się między 100 a 1000 ton rocznie, natomiast wytwarzanie nanokrzemionki (SiO_2) osiągnęło wielkość ponad 10 000 ton/rok [56]. Nanostruktury molekularne mogą przedostawać się do środowiska naturalnego różnymi drogami, np. poprzez bezpośrednie dodawane ich do gleby w postaci komponentów środków ochrony roślin [34] lub w postaci odpadów. Niekontrolowane uwalnianie tego rodzaju materiału do środowiska stanowi przedmiot coraz większego zainteresowania zarówno ze strony producentów, jak i ekologów. Jednocześnie brak jest precyzyjnych uwarunkowań prawnych dotyczących zagospodarowania odpadów przemysłu nanotechnologicznego, a także wiarygodnych metod badawczych umożliwiających prowadzenie nadzoru nad przedostawaniem się nanomateriałów do ekosystemów [25, 29, 30].

Wykazano szereg negatywnych skutków jakie nanomateriały mogą powodować w środowisku, włączając w to zaburzenie bioróżnorodności społeczności mikroorganizmów glebowych, wpływ na obieg pierwiastków oraz biomagnifikację poprzez przenoszenie zakumulowanych przez mikroorganizmy nanomateriałów na wyższe poziomy troficzne [70]. Ponadto, wzrost ilości nanostruktur w środowisku może zwiększać potencjalne ryzyko negatywnych oddziaływań na ludzi. Shvedova i wsp. [65] wskazują na korelację pomiędzy wdychaniem nanorurek węglowych a zwiększaniem się trudności w leczeniu zapalenia płuc na tle bakteryjnym.

Nanostruktury, które przedostają się do środowiska nie tracą swojej toksyczności. Może to stanowić problem dla prawidłowego funkcjonowania różnych ekosystemów, a w szczególności sposób także mikrobiomu gleby. Stwierdzono, że bakterie glebowe są bardzo wrażliwe na działanie nanomateriałów opartych na ditlenku tytanu oraz tlenku cynku [23]. Natomiast Nogueira i wsp. [50] wykazali wpływ zarówno organicznych, jak i nieorganicznych, nanomateriałów na różnorodność społeczności drobnoustrojów glebowych. Ponadto, wyniki badań przeprowadzonych na nanomateriałach zbudowanych z ditlenku tytanu, krzemianu tytanu, selenku kadmu oraz złota, dowiodły, że struktury te charakteryzują się wysoką toksycznością wobec bakterii z rodzaju *Salmonella*. Stwierdzono, że badane nanostruktury złota i krzemianu tytanu stanowiły jednocześnie w przypadku tych bakterii czynniki genotoksyczne [55]. W innej pracy potwierdzono, że nanocząstki srebra wykazywały właściwości bakteriobójcze wobec bakterii zasiedlających glebę pochodzącą ze strefy arktycznej. Zaburzenia w funkcjonowaniu konsorcjów drobnoustrojów glebowych, w szczególności bakterii wiążących azot z rodzaju *Bradyrhizobium*, mogą prowadzić do zakłócenia cyklu obiegu pierwiastków [36]. Częściowo potwierdziły to badania Priester

i wsp. [58], którzy przeanalizowali skład pierwiastkowy soi wzrastającej w glebie kontaminowanej nanomateriałami zawierającymi nanotlenki cezu i cynku. Obecność nano- CeO_2 w glebie wywołała zaburzenia w wiązaniu azotu oraz doprowadziła do zmniejszenia plonowania. Jednocześnie nanomateriały złożone z ZnO zostały zakumulowane przez jadalne części tej rośliny.

Potencjalny wpływ nanomateriałów na biomagnifikację dobrze ilustrują badania przeprowadzone na przykładzie pierwotniaka z gatunku *Tetrahymena thermophila*. W jego przypadku odnotowano bowiem wzrost stężenia nanomateriałów zawierających dwutlenek tytanu w następstwie wchłonięcia bakterii *P. aeruginosa*, które je wcześniej zakumulowały [44]. W podobnych badaniach dowiedziono także bioakumulacji nanocząstek zawierających selen i kadm [70]. Unrine i wsp. [68] opisali ten proces w kontekście nanocząstek złota, przy czym ich praca koncentrowała się przede wszystkim na oznaczaniu obecności nanomateriałów w organizmach zajmujących wyższe poziomy troficzne. Z kolei, Bang i wsp. [7] wykazali toksyczność dwutlenku tytanu względem rozwielitek.

Pomimo stopniowego rozwoju badań dotyczących oddziaływania nanomateriałów na mikroorganizmy środowiskowe, nadal nie jest znana ich specyficzna reakcja na kontakt z nanostrukturami molekularnymi. Wydaje się, że nanocząstki posiadające właściwości antymikrobiologiczne nie doprowadzają do eradykacji wszystkich bakterii. Badania przeprowadzone przez Yang i wsp. [71] wykazały, że szczep *P. aeruginosa* PAO1 posiadał mechanizmy obronne chroniące go przed działaniem kropek molekularnych zawierających kadm czy selen. W innej pracy stwierdzono, że pałeczki *P. aeruginosa* mogą również dyspergować aglomeraty TiO_2 , co może świadczyć o potencjalnej zdolności tych mikroorganizmów do usuwania (biodegradacji) nanomateriałów ze środowiska [31]. Podobne właściwości względem metali ciężkich nagromadzonych w środowisku mogą wykazywać też promieniowce z rodzaju *Streptomyces*, w tym zwłaszcza szczepy, które wykształciły wysoką oporność na izotopy uranu [61]. Udowodniono, że na drodze ko-metabolizmu mogą być rozkładane także nanorurki węglowe przy udziale konsorcjum bakterii, w skład którego wchodzi takie gatunki jak: *Burkholderia kururiensis*, *Delftia acidovorans* i *Stenotrophomonas maltophilia* [72].

6. Podsumowanie

Mikrobiologia odgrywa ważną rolę w nanotechnologii, tym bardziej, że środowisko (zwłaszcza gleba) jest obecnie głównym rezerwuarem nowoczesnych nanomateriałów molekularnych, umożliwiając im wpływ zarówno na procesy, jak i mikroorganizmy w niej

występujące. Różnorodność kształtów, rozmiarów oraz właściwości czyni nanomateriały niezwykle przydatnym narzędziem rozwoju wielu dziedzin życia, w tym medycyny, rolnictwa i biotechnologii. Jednocześnie aktualna wiedza na temat ewentualnych skutków interakcji, m.in. mikroorganizmów środowiskowych z określonymi nanocząsteczkami, takimi jak: nanosfery krzemowe, nanorurki węglowe lub płatki tlenku grafenu modyfikowane dwutlenkiem tytanu, miedzią czy srebrem, wydaje się wciąż niewystarczająca. Trudno jest przewidzieć odległe konsekwencje lub znaczenie ekspozycji na takie nanostruktury. Brakuje również odpowiednich i precyzyjnych uwarunkowań prawnych dotyczących obrotu nanomateriałami oraz zasad regulujących ich bezpieczne stosowanie. W związku z tym istnieje ciągła potrzeba opisywania zależności pomiędzy nanomateriałami a kontaktującymi się z nimi organizmami żywymi, w tym przede wszystkim bakteriami i grzybami glebowymi, stanowiącymi pierwszą barierę pomiędzy produktami nanotechnologicznymi a środowiskiem naturalnym. Implikuje to zarówno ochronę zdrowia i środowiska, jak i działania agrotechniczne, takie jak możliwość zastosowania nowych nawozów zawierających nanomateriały, mimo że ich oddziaływanie na ekosystemy glebowe i wodne nie zostało dokładnie zbadane. Z drugiej strony, należy pamiętać, że stosowane są już alternatywne metody otrzymywania nanomateriałów z wykorzystaniem kompetentnych w tym zakresie bakterii, a dodatkowo, istnieje potencjalna możliwość stymulowania aktywności metabolicznej niektórych mikroorganizmów przez wybrane nanomateriały. Skuteczne metody oceny oddziaływań mikroorganizm-nanomateriał mogą doprowadzić do uniknięcia negatywnych konsekwencji uwalniania nanostruktur do środowiska (ekonano-ryzko) oraz przyczynić się do opracowania nowych technologii pozwalających na osiągnięcie korzystnych rezultatów prozdrowotnych, proekologicznych, a także przemysłowych.

Piśmiennictwo

- Adil S.F., Assal M.E., Khan M., Al-Warthan A., Siddiquia M.R.H., Liz-Marzán L.M.: Biogenic synthesis of metallic nanoparticles and prospects toward green chemistry. *Dalton Trans.* **44**, 9709–9717 (2015)
- Ahmad A., Mukherjee P., Senapati S., Mandal D., Khan M.I., Kumar R., Sastry M.: Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **28**, 313–318 (2003)
- Ahmad A., Senapati S., Khan M.I., Kumar R., Sastry M.: Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp. *Langmuir*, **19**, 3550–3553 (2003)
- Attaran N., Eshghi H., Rahimizadeh M., Mashreghi M., Bakavoli M.: Genetically modified luminescent bacteria *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas savastanoi*, and wild type bacterium *Vibrio fischeri* in biosynthesis of gold nanoparticles from gold chloride trihydrate. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* **4**, DOI:10.3109/21691401.2014.942457 (2014)
- Augustyniak A., Cendrowski K., Nawrotek P., Barylak M., Mijowska E.: Humic acid-like substances secretion as a response of *Streptomyces* sp. to UV-light activated titania/silica nanospheres (w) 6th European Bioremediation Conference, red. N. Kalođerakis, F. Fava, E. Manousaki, Chania 2015, s. 169
- Ayano H., Miyake M., Terasawa K., Kuroda M., Soda S., Sakaguchi T., Ike M.: Isolation of a selenite-reducing and cadmium-resistant bacterium *Pseudomonas* sp. strain RB for microbial synthesis of CdSe nanoparticles. *J. Biosci. Bioeng.* **117**, 576–581 (2014)
- Bang S.H., Le T., Lee S.K., Kim P., Kim J.S., Min J.: Toxicity assessment of titanium (IV) oxide nanoparticles using *Daphnia magna* (Water flea). *Environ. Health Toxicol.* **26**, DOI: 0.5620/eht.2011.26.e2011002 (2011)
- Bao H., Lu Z., Cui X., Qiao Y., Guo J., Anderson J.M., Li C.M.: Extracellular microbial synthesis of biocompatible CdTe quantum dots. *Acta Biomater.* **6**, 3534–3541 (2010)
- Bazylinski D.A., Frankel R.B., Heywood B.R., Mann S., King J.W., Donaghay P.L., Hanson A.K.: Controlled biomineralization of magnetite (Fe₃O₄) and greigite (Fe₃S₄) in a magnetotactic bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3232–3239 (1995)
- Bhainsa K.C., D'Souza S.F.: Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **47**, 160–164 (2006)
- Bibbs R.K., Harris R.D., Peoples V.A., Barnett C., Singh S.R., Dennis V.A., Coats M.T.: Silver polyvinyl pyrrolidone nanoparticles exhibit a capsular polysaccharide influenced bactericidal effect against *Streptococcus pneumoniae*. *Front. Microbiol.* **5**, DOI:10.3389/fmicb.2014.00665 (2014)
- Borm P.J.A., Oberdorfer J. i wsp.: The potential risk of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Part. Fibre Toxicol.* **3**, DOI:10.1186/1743-8977-3-11 (2006)
- Cendrowski K., Peruzynska M., Markowska-Szczupak A., Chen X., Wajda A., Lapczuk J., Kurzawski, M., Kalenczuk R., Drozdziak M., Mijowska E.: Mesoporous silica nanospheres functionalized by TiO₂ as a photoactive antibacterial agent. *J. Nanomed. Nanotechnol.* **4**, DOI:10.4172/2157-7439.1000182 (2013)
- Chauhan R., Kumar A., Abraham J.: A biological approach to the synthesis of silver nanoparticles with *Streptomyces* sp. JARI and its antimicrobial activity. *Sci Pharm.* **81**, 607–621 (2013)
- Chen H., Yada R.: Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. *Trend. Food Sci. Tech.* **22**, 585–594 (2011)
- Chwalibog A., Sawosz E., Hotowy A., Szeliga J., Mitura S., Mitura K., Grodzik M., Orłowski P., Sokolowska A.: Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *Int. J. Nanomedicine*, **5**, 1085–1094 (2010)
- Durán N., Marcato P.D., Conti R.D., Alves O.L., Costa F.T.M., Brocchi M.: Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. *J. Braz. Chem. Soc.* **21**, 949–959 (2010)
- Eckhardt S., Brunetto P.S., Gagnon J., Priebe M., Giese B., Fromm K.M.: Nanobio silver: its interactions with peptides and bacteria, and its uses in medicine. *Chem. Rev.* **113**, 4708–4754 (2013)
- Elcey C.D., Kuruvilla A.T., Thomas D.: Synthesis of magnetite nanoparticles from optimized iron reducing bacteria isolated from iron ore mining sites. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* **3**, 408–417 (2014)
- Farias C.B.B., Silva A.F., Rufino R.D., Luna J.M., Souza J.E.G., Sarubbo L.A.: Synthesis of silver nanoparticles using a bio-

- surfactant produced in low-cost medium as stabilizing agent. *Electron. J. Biotechnol.* **17**, 122–125 (2014)
21. Fayaz A.M., Balaji K., Girilal M., Yadav R., Kalaichelvan P.T., Venketesan R.: Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* **6**, 103–109 (2010)
 22. Feng M., Lu Y., Yang Y., Zhang M., Xu Y., Gao H., Dong L., Xu W., Yu S.: Bioinspired greigite magnetic nanocrystals: chemical synthesis and biomedicine applications. *Sci. Rep.* **3**, DOI:10.1038/srep02994 (2013)
 23. Ge Y., Schimel J.P., Holden P.A.: Identification of soil bacteria susceptible to TiO_2 and ZnO nanoparticles. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 6749–6758 (2012)
 24. Gray B.P., Li S., Brown K.C.: From phage display to nanoparticle delivery: Functionalizing liposomes with multivalent peptides improves targeting to a cancer biomarker. *Bioconjug. Chem.* **24**, 85–96 (2013)
 25. Grieger K.D., Linkov I., Hansen S.F., Baun A.: Environmental risk analysis for nanomaterials: Review and evaluation of frameworks. *Nanotoxicol.* **6**, 196–212 (2012)
 26. Guo M., Ling T., Poon C.: Nano- TiO_2 -based architectural mortar for NO removal and bacteria inactivation: Influence of coating and weathering conditions. *Cement Concrete Comp.* **36**, 101–108 (2013)
 27. Guo X., Mei N.: Assessment of the toxic potential of graphene family nanomaterials. *J. Food. Drug. Anal.* **22**, 105–115 (2014)
 28. Hajipour M.J., Fromm K.M., Ashkarran A.A., Jimenez D., Laramendi I.R., Rojo T., Serpooshan V., Parak W.J., Mahmoudi M.: Antibacterial properties of nanoparticles *Trends Biotechnol.* **30**, 499–512 (2012)
 29. Hannah W., Thompson P.B.: Nanotechnology, risk and the environment: a review. *J. Environ. Monit.* **10**, 291–300 (2008)
 30. Hastings J., Jeliazkova N., Owen G., Tsiliki G., Munteanu C.R., Steinbeck C., Willighagen E.: eNanoMapper: harnessing ontologies to enable data integration for nanomaterial risk assessment. *J. Biomed. Seman.* **6**, DOI:10.1186/s13326-015-0005-5 (2015)
 31. Horst A.M., Neal A.C., Mielke R.E., Sislian P.R., Suh W.H., Madler L., Stucky G.D., Holden P.A.: Dispersion of TiO_2 nanoparticle agglomerates by *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 7292–7298 (2010)
 32. Husseiny M.I., Abd El-Aziz M., Badr Y., Mahmoud M.A.: Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **67**, 1003–1006 (2007)
 33. Ingale A.G., Chaudhari A.N.: Biogenic synthesis of nanoparticles and potential applications: an eco-friendly approach. *J. Nanomed. Nanotechnol.* **4**, DOI:10.4172/2157-7439.1000165 (2013)
 34. Khot L.R., Sankaran S., Maja J.M., Ehsani R., Schuster E.W.: Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protect.* **35**, 64–70 (2012)
 35. Kowshik M, Ashtaputtre S., Kharrazi S., Vogel W., Urban J., Kulkarni S.K. Paknikar K.M.: Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnol.* **14**, 95–100 (2003)
 36. Kumar N., Shah V, Walker V.K.: Perturbation of an arctic soil microbial community by metal nanoparticles. *J. Hazard. Mater.* **190**, 816–822 (2011)
 37. Kumar P.S., Balachandran C., Durairandiyam V., Ramasamy D., Ignacimuthu S., Al-Dhab N.A.: Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Streptomyces* sp. 09 PBT 005 and its antibacterial and cytotoxic properties. *Appl. Nanosci.* **5**, 169–180 (2015)
 38. Larsen M.U., Seward M., Tripathi A., Shapley N.C.: Biocompatible nanoparticles trigger rapid bacteria clustering. *Biotechnol. Prog.* **25**, 1094–1102 (2009)
 39. Lefèvre C.T., Menguy N., Abreu F., Lins U., Pósfai M., Prozorov T., Pignol D., Frankel R.B., Bazylinski D.A.: A Cultured greigite-producing magnetotactic bacterium in a novel group of sulfate-reducing bacteria. *Science*, **334**, 1720–1723 (2011)
 40. Lemire J.A., Harrison J.J., Turner R.J.: Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 371–84 (2013)
 41. Li X., Xu H., Chen Z., Chen G.: Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *J. Nanomater.* DOI:10.1155/2011/270974 (2011)
 42. Maurer-Jones M.A., Gunsolus I.L., Meyer B.M., Christenson C.J., Haynes, C.L.: Impact of TiO_2 nanoparticles on growth, biofilm formation, and flavin secretion in *Shewanella oneidensis*. *Anal. Chem.* **85**, 5810–5818 (2013)
 43. Mi C., Wang Y., Zhang J., Huang H., Xu L., Wang S., Fang X., Fang J., Mao C., Xu S.: Biosynthesis and characterization of CdS quantum dots in genetically engineered *Escherichia coli*. *J. Biotechnol.* **153**, 125–132 (2011)
 44. Mielke R.E., Priester J.H., Werlin R.A., Gelb J., Horst A.M., Orias E., Holden P.A.: Differential growth of and nanoscale TiO_2 accumulation in *Tetrahymena thermophila* by direct feeding versus trophic transfer from *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* **79**, 5616–5624 (2013)
 45. Mohan T., Verma P., Rao D.N.S.: Novel adjuvants & delivery vehicles for vaccines development: A road ahead. *Indian J. Med. Res.* **138**, 779–795 (2013)
 46. Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Veverka P., Goglio G., Demourgues A., Portier J., Pollert E., Duguet E.: Magnetic nanoparticle design for medical applications. *Prog. Solid State Chem.* **34**, 237–247 (2006)
 47. Narayanan K.B., Sakthivel N.: Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Adv. Colloid Interface Sci.* **156**, DOI:10.1016/j.cis.2010.02.001 (2010)
 48. Narayanan K.B., Sakthivel N.: Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Adv. Colloid Interface Sci.* **169**, 59–79 (2011)
 49. Ng A.M.C., Chan C.M.N., Guo M.Y., Leung Y.H., Djurišić A.B., Hu X., Chan W.K., Leung F.C.C., Tong S.Y.: Antibacterial and photocatalytic activity of TiO_2 and ZnO nanomaterials in phosphate buffer and saline solution. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 5565–5573 (2013)
 50. Nogueira V., Pereira R. i wsp.: Impact of organic and inorganic nanomaterials in the soil microbial community structure. *Sci. Total. Environ.* **424**, 344–50 (2012)
 51. Pan R., Liu Y., Chen W., Dawson G., Wang X., Li Y., Dong B., Zhu Y.: The toxicity evaluation of nano-trititanate with bactericidal properties in vitro. *Nanotoxicol.* **6**, 327–337 (2012)
 52. Pandian S.R.K., Deepak V., Kalishwaralal K., Gurunathan S.: Biologically synthesized fluorescent CdS NPs encapsulated by PHB. *Enzyme Microb. Tech.* **48**, 319–325 (2011)
 53. Pandian S.R.K., Deepak V., Kalishwaralal K., Muniyandi J., Rameshkumar N., Gurunathan S.: Synthesis of PHB nanoparticles from optimized medium utilizing dairy industrial waste using *Brevibacterium casei* SRKP2: a green chemistry approach. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* **74**, 266–273 (2009)
 54. Paredes, D., Ortiz, C., Torres, R.: Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial effect of Ag nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7 and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int. J. Nanomedicine*, **9**, 1717–1729 (2014)
 55. Pereira R., Rocha-Santos T.A.P., Antunes F.E., Rasteiro M.G., Ribeiro R., Goncalves F., Soares A.M.V.M., Lopes I.: Screening evaluation of the ecotoxicity and genotoxicity of soils

- contaminated with organic and inorganic nanoparticles: the role of ageing. *J. Hazard. Mater.* **194**, 345–354 (2011)
56. Piccinno F., Gottschalk F., Seeger S., Nowack B.: Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *J. Nanopart. Res.* **14**, DOI:10.1007/s11051-012-1109-9 (2012)
 57. Posfai M.L., Buseck P.R., Bazylinski D.A., Frankel R.B.: Iron sulfides from magnetotactic bacteria: Structure, composition, and phase transitions. *Am. Min.* **83**, 1469–1481 (1998)
 58. Priester J.H., Holden P.A. i wsp.: Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 14734–14735 (2012)
 59. Qiu Z., Yu Y., Chen Z., Jin M., Yang D., Zhao Z., Wang J., Shen Z., Wang X., Qian D., Huang A., Zhang B., Li J.: Nano-alumina promotes the horizontal transfer of multiresistance genes mediated by plasmids across genera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 4944–4949 (2012)
 60. Rodrigues D.F., Jaisi D.P., Elimelech M.E.: Toxicity of functionalized single-walled carbon nanotubes on soil microbial communities: implications for nutrient cycling in soil. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 625–633 (2013)
 61. Schmidt A., Haferburg G., Schmidt A., Lischke U., Merten D., Ghergel F., Büchel G., Kothe E.: Heavy metal resistance to the extreme: *Streptomyces* strains from a former uranium mining area. *Chem. Erde*, **69**, 35–44 (2009)
 62. Sharma N., Pinnaka A.K., Raju M., Ashish F.N.U., Bhattacharyya M.S., Choudhury A.R.: Exploitation of marine bacteria for production of gold nanoparticles. *Microb. Cell Fact.* **11**, DOI:10.1186/1475-2859-11-86 (2012)
 63. Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y.: Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv. Colloid Interface Sci.* **145**, 83–96 (2009)
 64. Shivaji S., Madhu S., Singh S.: Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria, *Process Biochem.* **46**, 1800–1807 (2011)
 65. Shvedova A.A., Kagan V.E., i wsp.: Sequential exposure to carbon nanotubes and bacteria enhances pulmonary inflammation and infectivity. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **38**, 579–590 (2008)
 66. Souza G.R., Christianson D.R., Staquicini F.I., Ozawa M.G., Snyder E.Y., Sidman R.L., Miller J.H., Arap W., Pasqualini R.: Networks of gold nanoparticles and bacteriophage as biological sensors and cell-targeting agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 1215–1220 (2006)
 67. Tsibakhashvili N.Y., Shklover V.Y., i wsp.: Microbial synthesis of silver nanoparticles by *Streptomyces glaucus* and *Spirulina platensis*. *Adv. Sci. Lett.* **4**, DOI:10.1166/asl.2011.1915 (2011)
 68. Unrine J.M., Shoultz-Wilson W.A., Zhurbich O., Bertsch P.M., Tsyusko O.V.: Trophic transfer of Au nanoparticles from soil along a simulated terrestrial food chain. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 9753–9760 (2012)
 69. Weir A., Westerhoff P., Fabricius L., Goetz N.: Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 2242–2250 (2012)
 70. Werlin R., Priester J.H., Mielke R.E., Kramer S., Jackson S.P., Stoimenov K., Stucky G.D., Cherr G.N., Orias E., Holden P.A.: Biomagnification of cadmium selenide quantum dots in a simple experimental microbial food chain. *Nature Nanotechnol.* **6**, 65–71 (2011)
 71. Yang Y., Mathieu J.M., Chattopadhyay S., Miller J.T., Wu T., Shibata T., Guo W., Alvarez P.J.J.: Defense mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 against quantum dots and their released heavy metals. *ACS Nano*, **6**, 6091–6098 (2012)
 72. Zhang L., Petersen E.J., Habteselassie M.Y., Mao L., Huang Q.: Degradation of multiwall carbon nanotubes by bacteria. *Environ. Pollut.* **181**, 335–339 (2013)