

## V. Streszczenie w języku polskim

Nanocząstki srebra są jednymi z najbardziej skomercjalizowanych nanomateriałów. Wszechstronne właściwości predysponują je do wykorzystania w różnorodnych dziedzinach, od elektroniki, przez przemysł tekstylny, kosmetyczny, aż do zastosowań biomedycznych. Największe znaczenie dla zastosowań nanocząstek srebra ma ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa, uznawana za najsilniejszą wśród przebadanych pod tym kątem nanomateriałów.

Rosnące zapotrzebowanie na nanocząstki srebra wiąże się z potrzebą opracowania metod syntezy, które, poza aspektem ekonomicznym, będą proste do przeprowadzenia, szybkie i przyjazne środowisku. Kryteria te spełnia synteza biologiczna, znacznie wyróżniająca się na tle metod konwencjonalnych, wymagających użycia dużych nakładów energii lub toksycznych środków chemicznych. Grzyby strzępkowe, dzięki cechom takim jak łatwość hodowli, szybki wzrost i wydajna produkcja biomasy, synteza znacznych ilości metabolitów wtórnych, a także oporność na stres mechaniczny i obecność metali w środowisku wzrostu, są często wybierane jako potencjalny producent nanocząstek srebra. Co istotne, gatunek grzyba i produkowane metabolity mogą wpływać na właściwości wytwarzanych nanocząstek, tym samym determinując możliwości ich wykorzystania.

Potencjalna cytotoksyczność nanocząstek srebra wobec komórek wzbudza obawy o bezpieczeństwo ich zastosowania. Dodatkowo, nanocząstki srebra uwalniane do środowiska naturalnego mogą stanowić zagrożenie dla organizmów różnych poziomów troficznych. Konieczne jest więc przeprowadzanie kompleksowych analiz potencjału toksycznego nowo syntetyzowanych nanocząstek srebra, a także poszukiwanie metod obniżania skutecznych dawek nanocząstek, skutkujących ograniczeniem ich zużycia.

Celem niniejszej pracy doktorskiej była mikrobiologiczna synteza nanocząstek srebra przy udziale grzyba strzępkowego brunatnej zgnilizny drewna *Gloeophyllum striatum* DSM 9592 w różnych warunkach procesu, a także szeroka ocena ich aktywności biologicznej, obejmująca potencjał przeciwdrobnoustrojowy, cytotoksyczny, ekotoksyczny oraz aktywność synergistyczną z powszechnie stosowanymi antybiotykami.

Na podstawie uzyskanych rezultatów stwierdzono, że grzyb brunatnej zgnilizny drewna *G. striatum* może być wykorzystywany do wydajnej biosyntezy nanocząstek srebra. Wykazano także, że warunki przeprowadzania procesu syntezy, takie jak temperatura lub napowietrzanie, mogą determinować właściwości fizykochemiczne i biologiczne uzyskanych nanomateriałów, a także wydajność procesu ich syntezy.

Analiza potencjału przeciwdrobnoustrojowego wykazała, że zsyntetyzowane nanocząstki srebra były aktywne wobec badanych mikroorganizmów, a ich skuteczność zależała od warunków syntezy i rodzaju organizmu, na który oddziaływały. Nie zaobserwowano wyraźnej tendencji jednego z rodzajów nanocząstek srebra do silniejszej aktywności wobec wszystkich badanych szczepów drobnoustrojów. Spośród badanych szczepów drobnoustrojów grzyby były bardziej wrażliwe na działanie nanocząstek srebra w porównaniu do badanych bakterii. Najbardziej wrażliwymi organizmami wśród szczepów grzybowych były drożdże *Malassezia furfur* DSM 6170, a wśród szczepów bakteryjnych bakterie gram-ujemne *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ocena potencjału toksycznego nanocząstek srebra udowodniła, że uzyskane nanomateriały wykazywały zróżnicowany efekt cytotoksyczny lub ekotoksyczny wobec testowanych modeli badawczych. Wykazano, że efekt cytotoksyczny wobec linii komórkowej fibroblastów ludzkich wywołany przez uzyskane nanocząstki był silniejszy niż ich działanie hemolityczne i determinowany był przez zastosowane warunki biosyntezy. Najslabszą aktywnością cytotoksyczną spośród badanych typów nanomateriałów charakteryzowały się nanocząstki syntetyzowane w 4°C, również w stężeniach aktywnych wobec najbardziej wrażliwych szczepów. Badanie potencjału ekotoksycznego nanocząstek srebra wykazało, że zarówno badane szczepy bakterii glebowych, wodnych, gatunki skorupiaków słodkowodnych i słonowodnych oraz rośliny wodne wykazywały wrażliwość na obecność nanocząstek w środowisku. Nanocząstki były najbardziej toksyczne wobec gatunku skorupiaków słodkowodnych *Daphnia magna*, z kolei najmniejszy efekt toksyczny wykazano w przypadku roślin uprawnych *Sorgho saccharatum*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba*.

Na podstawie rezultatów badań stwierdzono, że nanocząstki srebra syntetyzowane w 4°C bez napowietrzania (4ns AgNPs) były najbardziej obiecujące pod względem aktywności przeciwdrobnoustrojowej i potencjału toksycznego. W stężeniach aktywnych wobec *P. aeruginosa*, *C. albicans* ATCC 10231 i *M. furfur* nie powodowały efektu hemolitycznego oraz wykazywały najniższą aktywność cytotoksyczną i niewielki potencjał ekotoksyczny. Ponadto, 4ns AgNPs wykazują aktywność synergistyczną z antybiotykami wobec badanych bakterii chorobotwórczych, dzięki czemu możliwe jest obniżenie dawki nanocząstek skutecznej wobec drobnoustrojów i zminimalizowanie ich potencjału toksycznego.

Uzyskane w trakcie realizacji niniejszej pracy doktorskiej wyniki badań wykazały, że poprzez optymalizację warunków procesu biosyntezy nanocząstek srebra z użyciem grzybów strzępkowych możliwe jest modyfikowanie właściwości produkowanych nanomateriałów co może prowadzić do uzyskania produktu o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej z zachowaniem niewielkiego potencjału toksycznego.

## VI. Streszczenie w języku angielskim

Silver nanoparticles (AgNPs) are among the most commercialized nanomaterials. Their versatile properties enable their applications in a wide range of fields, from electronics, through the textile and cosmetic industries, to biomedicine. The antimicrobial activity of AgNPs, recognized as the strongest among nanomaterials investigated to date, constitutes their primary attribute of interest for practical applications.

The growing demand for silver nanoparticles is associated with the need to develop synthesis methods that are not only economically viable but also simple, rapid, and environmentally sustainable. Biological synthesis meets these criteria and stands out against conventional methods, which typically require high energy input or involve toxic reagents. Filamentous fungi are particularly attractive candidates for AgNP biosynthesis due to their ease of cultivation, rapid growth, efficient biomass production, ability to generate large quantities of secondary metabolites, and resilience to mechanical stress and metal exposure. Crucially, both the fungal species employed, and the metabolites produced can influence the characteristics of the resulting nanoparticles, and consequently – their potential applications.

The potential cytotoxicity of silver nanoparticles toward cells raises concerns about the safety of their use. Additionally, silver nanoparticles released into the natural environment may pose a threat to organisms at different trophic levels. Therefore, it is necessary to conduct comprehensive analyses of the toxic potential of newly synthesized silver nanoparticles, as well as to search for methods to reduce their effective doses, thereby limiting their consumption.

The objective of this doctoral dissertation was the microbiological synthesis of silver nanoparticles with the participation of the brown-rot wood fungus *Gloeophyllum striatum* DSM 9592 under various process conditions, as well as a broad evaluation of their biological activity, including antimicrobial, cytotoxic, ecotoxic potential, and synergistic activity with commonly used antibiotics.

Obtained results demonstrated that the brown-rot wood fungus *G. striatum* can be used for the efficient biosynthesis of silver nanoparticles. It was also proven that the conditions of the synthesis process, such as temperature or shaking, may determine the physicochemical and biological properties of the obtained nanomaterials, as well as the efficiency of their synthesis.

Analysis of the antimicrobial potential showed that the synthesized silver nanoparticles were active against the tested microorganisms, and their effectiveness

depended on the synthesis conditions and the target species. No clear tendency was observed for one type of silver nanoparticle to show stronger activity against all tested microbial strains. Among the tested microorganisms, fungi were more sensitive to the action of silver nanoparticles compared to bacteria. The most sensitive organisms among the fungal strains were the yeasts *Malassezia furfur* DSM 6170, while among the bacterial strains the most sensitive were the gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Evaluation of the toxic potential of silver nanoparticles demonstrated that the obtained nanomaterials exhibited varying cytotoxic or ecotoxic effects on the tested models. It was shown that the cytotoxic effect on the human fibroblast cell line induced by the nanoparticles was stronger than their hemolytic activity and was determined by the applied biosynthesis conditions. The lowest cytotoxic activity among the tested nanomaterials was exhibited by nanoparticles synthesized at 4°C, even at concentrations active against the most sensitive strains. The study of the ecotoxic potential of silver nanoparticles revealed that the tested soil and aquatic bacterial strains, freshwater and marine crustacean species, as well as aquatic plants, all showed sensitivity to the presence of nanoparticles in the environment. The nanoparticles were most toxic to the freshwater crustacean species *Daphnia magna*, while the weakest toxic effect was observed in the case of the cultivated plants *Sorgho saccharatum*, *Lepidium sativum*, and *Sinapis alba*.

Based on the research results, it was found that silver nanoparticles synthesized at 4°C without shaking (4ns AgNPs) were the most promising in terms of antimicrobial activity and toxic potential. At concentrations active against *P. aeruginosa*, *C. albicans* ATCC 10231, and *M. furfur*, they did not cause hemolytic effects, exhibited the lowest cytotoxic activity and minor ecotoxic potential. Furthermore, 4ns AgNPs showed synergistic activity with antibiotics against the tested pathogenic bacteria, making it possible to reduce the dose of nanoparticles effective against microorganisms and minimize their toxic potential.

The obtained results demonstrated that by optimizing the conditions of the biosynthesis process of silver nanoparticles using filamentous fungi, it is possible to modify the properties of the produced nanomaterials, which may lead to obtaining a product with high antimicrobial activity while maintaining low toxic potential.