

# Wykorzystanie metody zol-żel w modyfikacji materiałów ceramicznych nanocząstkami srebra

MGR INŻ. ANITA ROZMYŚŁOWSKA<sup>1</sup>, DR INŻ. AGNIESZKA MARIA JASTRZĘBSKA<sup>1</sup>, MGR INŻ. LIDIA CIOŁEK<sup>2</sup>, PROF. DR HAB. INŻ. ANDRZEJ OLSZYNA<sup>2</sup>

1. POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ  
2. INSTYTUT CERAMIKI I MATERIAŁÓW BUDOWLANYCH, WARSZAWA

## 1. Wstęp

W ciągu ostatnich kilku lat obserwujemy intensywny rozwój produktów zawierających w swoim składzie nanosrebro. Najczęściej są to produkty higieniczne, ale nano-Ag występuje również jako dodatek do tekstyliów, folii, czy papieru. Jest z powodzeniem stosowane w medycynie, obejmując przy tym procesy diagnostyczne, takie jak: obrazowanie komórek nowotworowych, sterylizacja pomieszczeń i urządzeń szpitalnych, powłoki ochronne narzędzi lekarskich, a także jako dodatek do opatrunków. W ortopedii i dentystyce służy jako składnik do wypełnień ubytków kostnych i chrzęstnych [1].

## 2. Właściwości biobójcze nanocząstek srebra

Dane literaturowe wskazują, że nanocząstki srebra mają dobre właściwości bakteriobójcze i mogą być stosowane w zwalczaniu poważnych infekcji bakteryjnych. Nanosrebro jest efektywnym czynnikiem niszczącym szerokie spektrum szczepów bakteryjnych, zarówno Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych [2]. Poprzez podanie obserwowanym szczepom nanocząstek srebra zaobserwowano nie tylko inhibicję wzrostu tych bakterii, ale również zabijanie już istniejących. Mechanizm działania nanocząstek srebra nie jest jeszcze do końca poznany. Przypuszcza się, że osiadają one na błonie komórkowej bakterii i zaburzają jej funkcjonowanie [2]. Badania pokazały również, że nawet bardzo niskie stężenie nanocząstek srebra (poniżej 10 ppm) może być wystarczające dla uzyskania ochrony przed chorobotwórczymi patogenami. Przeprowadzone do tej pory analizy wskazują na zależność między efektywnością bakteriobójczą nanocząstek srebra a ich stężeniem, wielkością oraz kształtem. Antybakteryjne właściwości srebra znane są od bardzo dawna, jednak to w ostatnim dziesięcioleciu prowadzone są szczególnie intensywne badania nad wyjaśnieniem mechanizmu ich bakteriobójczego działania. Zakłada się m.in., że niezależnie od struktury ściany komórkowej bakterii dochodzi do jej uszkodzenia przez cząstki nano-Ag, które

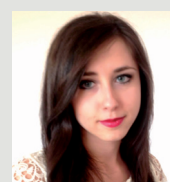
### SŁOWA KLUCZOWE

nanosrebro, właściwości biologiczne, nanokompozyty, ceramika, bioszklą

### KEYWORDS

nanosilver, biological properties, nanocomposites, ceramics, bioglass

mgr inż. Anita Rozmysłowska



Doktorantka na Wydziale Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej w Zakładzie Materiałów Ceramicznych i Polimerowych. Absolwentka Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej, kierunku Technologia Chemiczna. W swojej pracy naukowej zajmuje się modyfikacją materiałów ceramicznych, materiałami kompozytowymi oraz karbidami lekkich metali przejściowych.

e-mail: anita.rozmysłowska@gmail.com

### STRESZCZENIE

W niniejszej pracy zaprezentowano stan badań na podstawie przeglądu literatury dotyczącej właściwości nanocząstek srebra (nano-Ag). Szczegółowo opisano właściwości korzystne z punktu widzenia zakładanych zastosowań, a także niekorzystne, powodujące wzrost zagrożenia związanego z cytotoksycznością i ekotoksycznością nano-Ag. Zaprezentowano przegląd literatury dotyczącej modyfikacji nano-Ag tlenkami metali oraz w kompleksowy sposób opisano różne metody wytwarzania nanomateriałów z tej grupy oraz układy wieloskładnikowe bioszkieł. Potwierdzono, że metoda zol-żel jest nie tylko mało skomplikowana z technologicznego punktu widzenia, ale także bardzo elastyczna, poprzez możliwość zastosowania różnych rodzajów prekursorów ceramiki i szerokiego wachlarza warunków prowadzonych procesów. Dane wskazują, że modyfikacje nanocząstek Ag tlenkiem glinu z wykorzystaniem metody zol-żel prowadzą do otrzymania ciekawych właściwości biologicznych, często znacząco różnych w porównaniu do wolnych nanocząstek Ag. Wciąż jednak trudnością pozostaje kontrola morfologii produktu końcowego i powtarzalność procesów zol-żel, ze względu na występujące zjawisko dyfuzji i transportu masy, które powoduje często rozrost wielkości wytwarzanych cząstek, a także powstawanie aglomeratów.

### SUMMARY

**The use of the sol-gel method in the modification of ceramic materials with silver nanoparticles**

This paper presents a review of the literature on the properties of silver nanoparticles (nano-Ag). Properties that are beneficial from the point of view of the intended applications have been described in detail, as well as undesired properties that increase the risk associated with the cytotoxicity and ecotoxicity of nano-Ag. A review of the literature concerning the modification of nano-Ag with metal oxides was also presented. Various methods for the production of nanomaterials from this group, as well as multi-component systems of bioglass, have been described in a comprehensive way. It was shown that the sol-gel method is not only not very complicated from a technological point of view, but also very flexible, through the possibility of using different types of ceramic precursors and a wide range of conditions of the processes. Data indicate that modifications of Ag with alumina particles using the sol-gel method lead to the production of interesting biological properties, often significantly different compared to free Ag nanoparticles. However, it is still difficult to control the final product morphology and the repeatability of the sol-gel processes because of the phenomenon of diffusion and mass transport often results in the size increase of the produced particles as well as the formation of agglomerates.

osadzają się na jej powierzchni. Ponadto sprawdzano mechanizm przenikania do wnętrza komórek za pośrednictwem tzw. kanałów jonowych, znajdujących się w ich ścianach komórkowych [2]. Po przedostaniu się do wnętrza, nanocząstki srebra ulegają akumulacji w mitochondriach i jądrze komórkowym [3], a nagromadzenie srebra w organellach może powodować zahamowanie produkcji adenosynotrifosforanu [3] oraz uszkodzenie DNA, co z kolei prowadzi do zatrzymania podziałów komórkowych i procesu replikacji [3]. Następuje także zakłócenie równowagi pomiędzy stężeniem jonów  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  oraz  $\text{Cl}^-$  wewnątrz i na zewnątrz komórki, czego skutkiem jest pogorszenie jej funkcjonowania. Wyżej wymienione specyficzne mechanizmy działania nanocząstek srebra powodują, że bakterie nie są w stanie wytworzyć przeciw nim skutecznego mechanizmu obronnego.

W wielu publikacjach nanosrebro opisuje się także jako fungicyd, działający efektywnie przeciwko znacznej liczbie gatunków grzybów chorobotwórczych, drożdżaków czy szczepów powodujących trudne w leczeniu zakażenia grzybicze skóry. Mechanizm działania srebra przeciwko grzybom wciąż nie jest całkowicie poznany, wiąże się jednak z zaburzeniem naturalnej gospodarki wodnej grzybni oraz zniszczeniem komórek. Badania opatrunków i substancji odkażających zawierających w swoim składzie nanosrebro dowiodły, że wykazują one także właściwości przeciwpalne i modulujące wydzielanie cytokin. Wszystko to sprawia, że cząstki nano-Ag to element niemal idealny i wszechstronny, od lat poszukiwany „lek doskonały”.

### 3. Cytotoksyczność nanocząstek srebra

Przeprowadzone jednak dotychczas oceny właściwości nano-Ag doprowadziły również do sprostrzeżeń mniej optymistycznych. Badania nad toksycznością nanocząstek srebra w stosunku do organizmów zwierzęcych sugerują, że ich stosowanie może być szkodliwe dla komórek wielu różnych tkanek budujących organizmy żywe, w tym również dla ludzkiego organizmu [4]. Ocena zagrożeń wynikających z uwalniania nanocząstek srebra do środowiska naturalnego wskazuje też na znaczne prawdopodobieństwo przedostania się ich do łańcucha pokarmowego. Natomiast stosunkowo niewiele jest w literaturze informacji na temat toksyczności nanosrebra bezpośrednio w stosunku do ustroju człowieka. Istniejące zagrożenia identyfikowane są wstępnie na podstawie badań *in vitro* na różnego rodzaju ludzkich liniach komórkowych, takich jak: hepatocyty [4], komórki macierzyste, keratynocyty skórne i fibroblasty, makrofagi pęcherzyków płucnych, komórki nabłonka płuc, komórki neuroendokrynowe, a także leukocyty. Dla większości badanych linii komórkowych obserwowano cytotoksyczność zależną od wielkości nanocząstek srebra, a także od jego dawki, ale też warto zauważyć, że badania *in vivo* prowadzone były najczęściej z wykorzystaniem szczurów. Wyniki tych badań dostępne w literaturze wskazują, że po inhalacji nanocząstkami srebra, podaniu doustnym [5] czy iniekcji dożylniej lub podskórnej, narządem odpowiedzialnym za akumulację nanosrebra w organizmie szczurów, była przede wszystkim wątroba [5]. Obserwowano również niepożądane zmiany histopatologiczne tkanki wątroby [5], a także gromadzenie się nanocząstek w śledzionie zwierząt. W wyniku doustnego podania nanocząstek srebra o wielkości 60 nm, odnotowano dodatkowo wzrost stężenia enzymów wątrobowych we krwi szczurów [5], a w niektórych przypadkach ich śmierć na skutek obrzęku i przekrwienia płuc. Analizy *in vivo* wykazały ponadto, że toksyczność nanocząstek srebra zależy od dawki, przy czym stężenie powyżej 5 mg/ml powodowało głównie redukcję sprawności mitochondriów obserwowanych komórek, a więc również ich żywotności. Przerwanie integralności błony komórkowej stwierdzono natomiast dla cząstek

srebra w stężeniu wyższym niż 10 mg/ml i wielkości zarówno 15, jak i 100 nm [4]. Nanocząstki srebra mimo tego, że posiadają właściwości bakterioobójcze nie mogą być stosowane jako lek na dużą skalę, ponieważ większe ich stężenie może powodować szkody zarówno w organizmach żywych, jak i w środowisku.

### 4. Ekotoksyczność nanocząstek srebra

Tymczasem wzrost produkcji oraz rozszerzenie wachlarza zastosowań nanocząstek srebra jako dodatku do różnych materiałów wywołał liczne obawy o to, że w przypadku składowania i kumulacji dużych ilości produktów z nano-Ag w składzie (składowiska odpadów, oczyszczalnie ścieków), mogą się one wydostać do ekosystemów naturalnych. Efektem następczym takiego scenariusza może być natomiast skażenie i tym samym zakłócenie równowagi organizmów żywych, zwłaszcza w ekosystemach wodnych i glebowych. Istnieją zatem uzasadnione obawy, że nanocząstki srebra mogą być zagrożeniem dla środowiska naturalnego. Analizy fitotoksyczności nanocząstek srebra, które prowadzone były najczęściej na roślinach wyższych, np. z gatunku *Cucurbita pepo*, dowiodły spadku tempa rozwoju roślinności o 66–80% w przypadku obecności nano-Ag w glebie, w stosunku do tempa wzrostu w warunkach występowania srebra w formie makroskopowej. Badania fitotoksyczności prowadzono również na roślinach charakteryzujących się wysoką tolerancją metali ciężkich, tzw. metalofitach, a ich wyniki pokazały, że organizmy takie mają zdolność magazynowania wewnątrz komórek nanocząstek srebra o wielkości ok. 50 nm. Na przykład gatunki *Brassica juncea* oraz *Medicago* mogą zmagazynować nie więcej niż ok. 13% wag. srebra w czasie 72 godzin, rozwijając się w glebie z dodatkiem od 1 do 10 ppm nanosrebra. Wszystkie te obserwacje i swoisty rachunek zysków i strat przywodzą jednak badaczy do wniosku, że nanosrebro może mieć więcej zalet niż wad, w związku z czym rozpoczęto eksperymenty i opracowano kilka metod syntezy nanocząstek srebra. Może to pomóc kontrolować jego specyficzne właściwości lecznicze z – być może – ograniczeniem negatywnych skutków obecności tego składnika w środowisku.

### 5. Metody syntezy nanocząstek srebra

Metody syntezy nanocząstek srebra można podzielić na dwie grupy: *top-down* i *bottom-up*. W pierwszej z nich materiałem wyjściowym jest metal występujący w formie makroskopowej, którego ziarna zredukowane są do rozmiaru nanometrycznego za pomocą różnych metod, m.in. mielenia, powtarzanego cyklicznie szoku temperaturowego, czy abrazji laserowej. Informacje o syntezach przeprowadzonych w ten sposób stanowią mniej niż 4% wszystkich dostępnych danych literaturowych dotyczących metod syntezy nanocząstek srebra, co jest spowodowane m. in. znaczną niejednorodnością morfologii nanocząstek wytworzonych wspomnianymi sposobami. W drugiej grupie metod (*bottom-up*) nanosrebro otrzymuje się poprzez zwiększanie pojedynczych kryształów będących zalążkami rosnących nanoziaren. Techniki te oparte są przede wszystkim na syntezie chemicznej i są o wiele powszechniejsze. Reakcje chemiczne mogą być prowadzone w fazie stałej, gazowej lub ciekłej [6]. Ponieważ metody *bottom-up* wytwarzania nanocząstek srebra charakteryzują się stosunkowo dużą różnorodnością, w niniejszym artykule szczególną uwagę zwrócono na metody wykorzystujące reakcje chemiczne prowadzone w środowisku ciekłym, do których można zaliczyć: współstrącanie, impregnację nanocząstkami srebra, redukcję na powierzchni nośnika, metodę bezprądową, a także metodę zol-żel połączoną z redukcją chemiczną soli srebra [7]. W procesach tych stosuje się zarówno rozpuszczalniki nieorganiczne np. wodę, jak i organiczne (np. alkohole, DMF, glikol etylenowy, toluen, chloroform, itp.). Najczęściej jednak stosowana jest woda dejonizowana (w około 85% zanotowanych metod syntezy

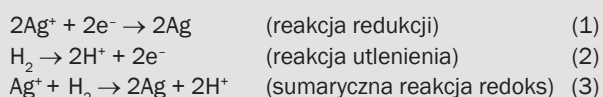
nanocząstek srebra), której wybór podyktowany jest m.in. zaleceniami tzw. zielonej chemii [1]. W tego typu reakcjach funkcję prekursora pełni najczęściej sól srebra, poddawana w dalszej kolejności procesowi redukcji chemicznej w celu otrzymania nanocząstek srebra. Poszczególne tzw. „mokre” metody otrzymywania nanosrebra różnią się więc między sobą:

- stosowanym prekursorem srebra,
- stosowanym rozpuszczalnikiem,
- związkiem służącym jako reduktor prekursora srebra,
- związkami stosowanymi jako stabilizatory otrzymanych na drodze reakcji chemicznej nanocząstek srebra.

Jako prekursor srebra najczęściej stosuje się jego tlenek  $\text{Ag}_2\text{O}$ , a także nieorganiczne sole takie jak:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ , czy  $\text{AgBF}_4$ . Rzadziej natomiast wykorzystywane są organiczne sole srebra takie jak: octan, benzoosan, mlecyan czy cytrynian. Spośród wymienionych prekursorów srebra, najczęściej używany jest azotan srebra ( $\text{AgNO}_3$ ), z uwagi na jego niski koszt i dużą stabilność chemiczną w porównaniu z innymi solami tego metalu [1].

Używanie soli srebra w procesach syntezy nanocząstek tego metalu wymaga zastosowania również związków służących jako reduktory, tzn. dysponujących wolnymi elektronami umożliwiającymi proces redukcji jonów  $\text{Ag}^+$  do  $\text{Ag}$ , na drodze reakcji utleniania i redukcji. Mogą to być zarówno odczynniki chemiczne (np. cytrynian sodowy czy borowodorek sodu), biologiczne (np. enzymy, bakterie, grzyby), jak i fizyczne (np. promieniowanie UV czy ultradźwięki) [1]. Najczęściej jednak w procesach *bottom-up* stosowane są rozpuszczalne w wodzie cytrynian sodowy i borowodorek sodu [1].

Stosowanie w syntezie chemicznych czynników należy jednak ograniczać, biorąc pod uwagę ich szkodliwy wpływ na środowisko naturalne, a także często występujące zanieczyszczenie powierzchni wytwarzanego produktu. Dlatego też w przypadkach, gdy konieczne jest zachowanie dużej czystości chemicznej produktu końcowego, proces redukcji jonów srebra prowadzi się np. przy użyciu wodoru gazowego jako reduktora [8]. Poniżej przedstawiono reakcje utleniania wodoru (2) i redukcji tlenku srebra (1), jakie zachodzą podczas tego procesu. Prowadzony jest on w zamkniętym stalowym autoklawie, zaopatrzonej w mieszkadło. Tlenek srebra znajduje się w wodnej zawieszynie, przez którą w temperaturze 60–115°C oraz ciśnieniu od 5 do 25 atm przepuszczany jest gazowy wodor [8].



Niekorzystną właściwością nanocząstek srebra z punktu widzenia jakości wytworzonego produktu jest ich naturalna skłonność do aglomeracji, spowodowana wysoką energią powierzchni.

Niska wartość bezwzględna potencjału Zeta (potencjał elektryczny na granicy faz adsorpcyjnej i dyfuzyjnej cząsteczki, która znajduje się w małej odległości od powierzchni) tak wytworzonych nanocząstek srebra, umożliwia wzajemną ich aglomerację na drodze oddziaływań elektrostatycznych [6]. W celu minimalizacji tego efektu stosuje się stabilizatory (dyspersanty) dodawane na różnych etapach syntezy nanokolloidów srebra. Działanie stabilizujące umożliwia obecność w budowie ich cząsteczek takich grup funkcyjnych jak: tiolowa (-SH), cyjanowa (-CN), karboksylowa (COOH) czy aminowa ( $\text{NH}_2$ ). Jako stabilizatory mogą służyć również makrocząsteczki, np. surfaktanty [1]. Ich działanie polega na adsorpcji na powierzchni nanocząstek srebra, dzięki czemu następuje tzw. steryczne odseparowanie nanocząstek [6]. Pokrywanie powierzchni nano-Ag cząsteczkami organiki może skutkować obniżeniem ich bioktywności, tak jak ma to miejsce w przypadku kolloidów srebra

stabilizowanych, np. CTAB (ang. *cetyltrimethylammonium bromide*), czy SDS (ang. *sodium dodecyl sulfate*). Zaobserwowano, że takie zjawisko nie występuje w przypadku zastosowania materiału ceramicznego jako modyfikatora.

Pomimo znacznej liczebności metod z grupy *bottom-up*, wciąż istotną trudnością pozostaje kontrola morfologii produktu końcowego. Znaczne stężenie defektów punktowych w powierzchniowej strukturze krystalicznej nanocząstek intensyfikuje bowiem procesy dyfuzji i transportu masy [6]. Zjawisko to powoduje często rozrost wielkości wytwarzanych cząstek, a także powstawanie aglomeratów, co powoduje brak jednorodności morfologii wytworu.

Ważnym problemem w procesach wytwarzania nanocząstek, w których stosuje się reakcje chemiczne, jest kwestia powtarzalności stosowanych procesów, kontrola właściwości fizycznych i chemicznych produktu, a także otrzymanie jego pożądanego składu chemicznego i fazowego [6]. Reakcje chemiczne prowadzone w fazie ciekłej odznaczają się istotną zaletą, w porównaniu z reakcjami prowadzonymi w fazie gazowej, tj. przede wszystkim znacznie wolniejszym przebiegiem procesów dyfuzji i transportu masy (w fazie ciekłej odbywają się one o kilka rzędów wielkości wolniej, niż w przypadku reakcji prowadzonych w fazie gazowej). Dlatego tego typu syntezy mogą być prowadzone w niższej temperaturze, dzięki czemu morfologia wytworzonych nanocząstek jest znacznie bardziej jednorodna i łatwiejsza w kontroli [6].

## 6. Metody modyfikacji nanocząstek srebra z zastosowaniem materiałów ceramicznych

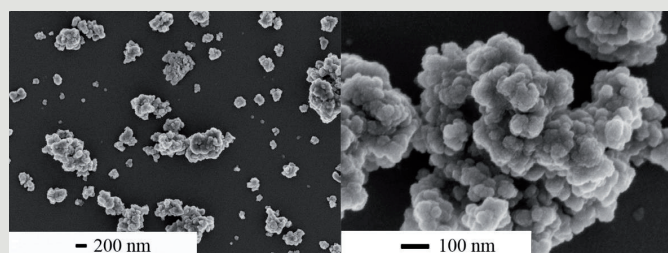
### 6.1. Nanocząstki srebra modyfikowane tlenkiem glinu

Metodę otrzymywania nanocząstek  $\text{Ag}$  na powierzchni nośnika w postaci gamma tlenku glinu, przy użyciu metody zol-żel połączonej z redukcją chemiczną soli srebra, przedstawili po raz pierwszy Jiang i Rogers w 2006 roku [7]. Według tej metody, triizopropoksyglin będący prekursorem tlenku glinu łączy się z dowolną solą srebra przy zastosowaniu wody lub rozpuszczalnika organicznego jako środowiska reakcji. Do roztworu w określonej ilości dodawany jest następnie surfaktant (np. poliglikol lub CTAB) oraz amoniak, w celu zwiększenia pH roztworu i otrzymania wodorotlenku glinu. Następnie do mieszaniny wprowadzany jest reduktor jonów  $\text{Ag}^+$  do srebra metalicznego (np. hydrazyna lub  $\text{NaBH}_4$ ). Tak wytworzony wodorotlenek glinu z osadzonymi na jego powierzchni nanocząstkami srebra poddaje się następnie suszeniu i rozkładowi termicznemu, otrzymując nanokompozyt  $\text{Al}_2\text{O}_3$ - $\text{Ag}$ . Powstałe nanocząstki srebra charakteryzują się wielkością poniżej 10 nm.

Nanocząstki srebra osadzone na nośniku w postaci nanotlenku glinu, posiadające dobre właściwości bakterio- i grzybobójcze, można otrzymać metodą rozkładu termicznego – redukcji [9]. W opisanej metodzie jako prekursora tlenku glinu używa się również triizopropoksyglinu lub trietyloglinu oraz soli srebra. Jako środowisko reakcji stosuje się izopropanol. Po wysuszeniu, jako produkt pośredni w wyniku procesu rozkładu termicznego organicznego prekursora, otrzymuje się nanoproszek  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Ag}_2\text{O}$ . Następujący po nim proces redukcji w wodrze prowadzi do otrzymania nanoproszku  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Ag}$ . Wytworzone tą metodą nanocząstki srebra mają wielkość w zakresie 22–60 nm. Nanocząstki  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Ag}$  charakteryzują się dobrymi właściwościami biobójczymi przeciwko szczepom *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*. Bardzo dobre działanie antybakteryjne zaobserwowano również w przypadku nanoproszków  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Ag}_2\text{O}$ .

Inne badania wskazują, że modyfikacja nanocząstek  $\text{Ag}$  z wykorzystaniem nano- $\text{Al}_2\text{O}_3$  spowodowała otrzymanie całkowicie bezpiecznego materiału nanokompozytowego, nie wykazującego właściwości toksycznych w testach *in vitro*. Nie zaobserwowano działania



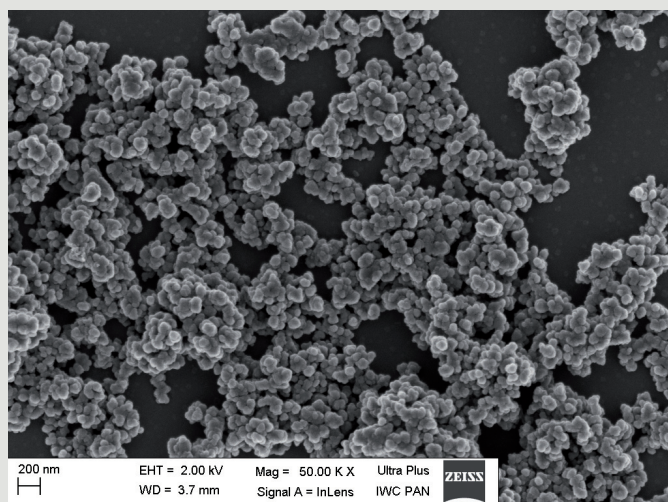
Rys. 1. Nanocząstki srebra osadzone na nano  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

cytotoksycznego na trzy wybrane linie komórkowe: L929, BJ, HeLa, a badane komórki wykazywały ponad 75% żywotności wg. testu MTT i ponad 102% żywotności, uzyskane w teście EZ4U w stężeniu 200  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Badania prowadzone pod kątem ekotoksyczności i fitotoksyczności wykazały, że nano- $\text{Al}_2\text{O}_3$  wywierają efekt nanostabilizujący na nanocząsteczki srebra. Nanoproszek  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Ag}$  wpłynął tylko nieznacznie na rozwój kilku szczepów bakterii, w większości pochodzących ze środowiska glebowego. Silniejsze zahamowanie wzrostu zaobserwowano u jednego ze szczepów *Pseudomonas putida*, izolowanego z gleby, bakterii *Pseudomonas luteola*, wyizolowanych ze środowiska wodnego i jednego szczepu z rodzaju *Micrococcus*, wyizolowanego z powietrza. Ponadto wyniki badań literaturowych wykazały, że w obecności nanoproszków  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Ag}$  wzrost zarówno korzenia, jak i kielków siewek rzęchuchy i gorczycy został zintensyfikowany w porównaniu do wzrostu obserwowanego u roślin rosnących w glebie z dodanym czystym  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Lekkie nasilenie wzrostu pędów obserwowano u sorgo.

## 6.2. Nanocząstki srebra modyfikowane dwutlenkiem tytanu

W pracy [10] przedstawiono mało skomplikowany sposób modyfikacji nanocząstek srebra dwutlenkiem tytanu z wykorzystaniem metody zol-żel. W syntezie użyto tylko prekursora  $\text{TiO}_2$ , prekursora nano-Ag, izopropanolu i stechiometrycznej ilości wody. Nanoproszek  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  otrzymano w postaci sferycznych cząstek o wielkości 20–60 nm. Nano- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  został następnie uzyskany w wyniku redukcji proszku w wodrze w temperaturze 400°C. W otrzymanym nanomateriale kompozytowym  $\text{TiO}_2$  występował w postaci anatazu. Zbadano również właściwości ekotoksyczne nanocząstek  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ . W przypadku *Daphnia magna* nano- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  wykazywał właściwości toksyczne, w odniesieniu natomiast do larw *Chironomus sp.* nano- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  nie wykazywał toksyczności.

## 7. Bioszklą z nanocząstkami srebra wytwarzane metodą zol-żel

Rys. 2. Nanocząstki srebra osadzone na nano  $\text{TiO}_2$ .

Tradycyjne szkła wytwarzane są w procesie topienia, co potencjalnie uniemożliwia wytwarzanie kompozytów krzemianowo-szklistych zawierających wysokie stężenie srebra. W takim przypadku korzystna jest metoda zol-żel. Pozwala ona w stosunkowo łatwy sposób wytwarzać bioszklą wysokiej czystości chemicznej nawet przy wysokim udziale  $\text{SiO}_2$ . Podczas wytwarzania bioszkieł tą metodą silany z wiązaniem Si-R ulegają hydrolizie, tworząc wiązania Si-OH, a następnie kondensacji. Zatem podstawowymi reakcjami w syntezie zol-żel jest hydroliza alkoholów i/lub estrów oraz polikondensacja. Zależnie od natury grupy organicznej R silanu, jak również temperatury i pH środowiska reakcji, rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika, ilości wprowadzanej podczas syntezy wody, ilości i typu katalizatora, metody prowadzenia alkoholizy i wielu innych czynników, otrzymuje się mezoporowate cząstki, nanofilmy lub proszki. Proces zol-żel zapewnia homogenizację w skali molekularnej, gdyż bazuje na mieszaninach cieczy oraz wysoką aktywność chemiczną i biologiczną dzięki specyficznej budowie wewnętrznej. Kontrola porowatości materiałów otrzymywanych metodą zol-żel w mikro- i nanoskali daje możliwość wpływania na bioaktywność oraz umożliwia włączenie aktywnych biologicznie cząstek i ich uwalnianie w celach terapeutycznych. Porowata struktura wytworzonych taką metodą materiałów sprzyja bioaktywności, polegającej na wzbogaceniu warstwy powierzchniowej w Ca i P oraz powolnemu powstawaniu warstwy apatytu, co prowadzi do poprawy integracji biomateriału z tkankami organizmu. Podczas tego procesu uwalniane z bioszklą kationy wapnia łączą się z anionami fosforanowymi obecnymi w płynie ustrojowym, tworząc warstwę złożoną z  $\text{CaO}$  i  $\text{P}_2\text{O}_5$ , która w obecności  $\text{SiO}_2$  przekształca się w fazę apatytu.

Podczas wytwarzania kompozytów złożonych z bioszklą i nanocząstek srebra metodą zol-żel, sole srebra miesza się z TEOS (tetraetoksylanem) i/lub trietoksylanem w etanolu. Po zmieszaniu dodaje się wodny roztwór amoniaku i miesza energicznie, aby doprowadzić do hydrolizy. Jednorodną mieszaninę następnie ogrzewa się i pod zmniejszonym ciśnieniem usuwa rozpuszczalnik, otrzymując kserożel. Kolejny etap polega na utlenianiu kserożeli w ogrzewanych rurach kwarcowych w strumieniu powietrza, w celu skorygowania składu pierwiastkowego. W ostatnim etapie kompozyty redukuje się przez ponowne ogrzewanie w strumieniu wodoru, aby jeszcze bardziej zmniejszyć zawartość węgla i tlenu. Następnie mieszaninę można wylać do formy polistyrenowej celem wysuszenia i żelowania w czasie 7 dni. Na koniec żel mieli się na drobny proszek i poddaje kalcynacji. Wytworzone tą metodą kompozyty charakteryzują się różną morfologią, w zależności od składu chemicznego i parametrów prowadzenia procesu. Kompozyty ze srebrem na bazie bioszkieł glinokrzemianowych [10], zawierające w składzie chemicznym 0–0,8%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  tworzyły sferyczne ziarna o średnicach mieszczących się w zakresie 200–600 nm, podczas gdy zawierające od 3% do 7,5%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  otrzymano w formie ziaren o nieregularnym kształcie. W pracy [11] porównano kompozyty wytworzone przy użyciu klasycznej metody zol-żel i zmodyfikowanej metody Stöbera. Materiały otrzymane zmodyfikowaną metodą Stöbera były rozproszone i sferyczne (400 nm), podczas gdy nanocząstki otrzymane konwencjonalną metodą zol-żel miały postać wysoko nanoporowatych, nieregularnych (<100 nm) zaglomerowanych ziaren. W efekcie powierzchnia właściwa, średnia średnica porów i objętość porów materiału otrzymanego konwencjonalną metodą zol-żel była wyraźnie wyższa.

Kompozyty ze srebrem na bazie bioszkieł wykazują wysoką skuteczność bakteriobójczą. Ich działanie antybakteryjne przypisuje się wyłącznie uwalnianiu jonów  $\text{Ag}^+$ . Jedną z głównych zalet wprowadzania nanocząstek srebra do układu bioszkieł żelowych jest to, że porowata, szklista matryca umożliwia przedłużone dostarczanie i uwalnianie jonów przeciwbakteryjnych.

Wyniki badań działania bakteriobójczego kompozytów [12] wykonanych na prehodowlach testowych szczepów bakteryjnych *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* oraz drożdżaków *Candida albicans*, wskazywały na dobrą efektywność w walce drobnoustrojami. Ponadto nie wykazywały aktywności mutagennej wobec *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA 100 w teście Ames bez i z aktywacją metaboliczną. Kompozyty na bazie bioszkieł z nanocząsteczkami srebra zapewniające długotrwałe działanie antybakteryjne, mogą być rekomendowane do zastosowania w miejscach narażonych na ryzyko zakażeń mikrobiologicznych.

### Podsumowanie

W dobie permanentnego zagrożenia zdrowia ludzkiego wieloma wciąż zmieniającymi się czynnikami chorobotwórczymi, szczególnie istotne stają się takie właściwości materiałów, które pozwalają wszechstronnie wykorzystać je w jego ochronie. Nanocząstki srebra znajdują się w centrum zainteresowania wielu ośrodków badawczych na świecie, z uwagi na unikalną zdolność niszczenia szerokiej liczby Gram-dodatnich i Gram-ujemnych szczepów bakteryjnych oraz grzybów. W ostatnim czasie odkryto również ich właściwości przeciwpalne a także zdolność niszczenia wirusów.

Duża aktywność nanocząstek srebra w stosunku do różnych struktur biologicznych powoduje, iż po uwolnieniu ich z powierzchni podłoża do środowiska naturalnego działają toksycznie nie tylko w stosunku do mikroorganizmów chorobotwórczych, ale również struktur biologicznych nie wykazujących działania chorobotwórczego, a często pełniących pożyteczną funkcję w środowisku naturalnym. W literaturze przedmiotu znajdujemy wiele doniesień o toksycznym działaniu nanocząstek srebra w stosunku do fauny i flory, także komórek ssaków (w tym również ludzkich).

W niniejszej pracy zaprezentowano przegląd literatury dotyczącej sposobów otrzymywania nanocząstek srebra z wykorzystaniem metod *bottom-up*, które oparte są przede wszystkim o syntezę chemiczną, prowadzoną zarówno w rozpuszczalnikach organicznych, jak i nieorganicznych, przy czym najczęściej stosowanym rozpuszczalnikiem nieorganicznym jest woda. Pozwala ona na dokładniejszą kontrolę procesu wzrostu kryształitów. Przeciwdziałanie aglomeracji może być realizowane we wczesnych etapach syntezy nanoprozsków, dzięki dodatkowi różnego rodzaju składników stanowiących inhibitory wzrostu cząstek i aglomeratów [6].

Zaprezentowano również metody modyfikacji nano-Ag tlenkami metali, gdzie modyfikacja prowadzi do wytworzenia układów nanokompozytowych nanosrebro – tlenek metalu. Zastosowanie modyfikacji nanocząstek srebra materiałem ceramicznym pozwala natomiast na wyeliminowanie problemu aglomeracji, a co za tym idzie, umożliwia zachowanie bioaktywności nano-Ag. Odpowiedni dobór modyfikatora jest też bardzo istotny z uwagi na szczególne właściwości jakie może on nadać takiemu układowi.

Badania literaturowe pozwoliły stwierdzić, że metoda zol-żel jest nie tylko mało skomplikowana z technologicznego punktu widzenia, ale także bardzo elastyczna, poprzez możliwość

zastosowania różnych rodzajów prekursorów ceramiki i szerokiego wachlarza warunków prowadzonych procesów. Dane wskazują, że modyfikacje nanocząstek Ag tlenkiem glinu, z wykorzystaniem metody zol-żel, prowadzą do otrzymania ciekawych właściwości biologicznych, często znacząco różnych w porównaniu do wolnych nanocząstek Ag. Opracowane materiały z układu nanocząstki srebra- $\text{Al}_2\text{O}_3$  wykazują dobre właściwości biobójcze przy jednoczesnym zmniejszeniu negatywnych efektów związanych z toksycznością. Jednocześnie korzystny układ stanowią bioszkieła, które w połączeniu ze srebrem stanowią bioaktywny materiał, mogący pełnić rolę materiału wypełniającego i wspomagającego przebieg procesów związanych z leczeniem stanów zapalnych. Wciąż jednak trudnością pozostaje kontrola morfologii produktu końcowego i powtarzalność procesów zol-żel. Zjawisko dyfuzji i transportu masy powoduje często rozrost wytwarzanych cząstek, a także powstawanie aglomeratów, co skutkuje brakiem jednorodności morfologii wytwarzanego produktu końcowego.

### LITERATURA

- [1] El Badawy A., Tolaymat T., Genaidy A., Scheckel K., Luxton T., Suidan M., (2010), *An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers*, „The Science of Total Environment”, 5 (408), 999–1006
- [2] Heggors J. P., Burrell R. E., Davis G. J., Wright J. B., (1999), *Efficacy of silver-coated dressings as bacterial barriers in a rodent burn sepsis model*, „Wounds”, 11, 64–71
- [3] Low G., Mun K., AshaRani P. V., Hande M. P., Valiyaveetil S., (2009), *Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells*, „ACS Nano”, 3 (2), 279–290
- [4] Hess K. L., Hussain S. M., Gearhart J. M., Geiss K. T., Schlager J. J., (2005), *In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells*, „Toxicology In Vitro”, 19, 975–983
- [5] Jung J. H., Ji J.H., Kim S.S., Yoon J.U., Choi J.D. ParkS., Chung Y.H., Kwon I.H., Jeong J., Han B.S., Shin J.H., Sung J.H., Song K.S., Yu I.J., (2007) *Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats*, „Inhalation Toxicology”, 19, 857–871
- [6] Koch C. C., (2002), *Nanostructured Materials, Processing, Properties and Potential Applications*, „Noyes Publications” Norwich
- [7] Cai M., Jiang L., Rogers J.D., (przyznany 31 stycznia 2006), *Method for making monodispersed noble metal nanoparticles supported on oxide substrates*, patent US 6,992,039 B2
- [8] Colombo L., Montino F., (1977), *Process for the preparation of silver powder*, US Patent Nr 4,039, 217
- [9] Jastrzębska A., Olszyna A., Kunicki A., (2010), *Study of the properties of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Ag nanopowders produced by thermal decomposition-reduction method and colloidal nanosilver impregnation*, „Inżynieria Materiałowa”, 3, 31, 514–516
- [10] Ziemkowska W., Basiak D., Kurtycz P., Jastrzębska A., Olszyna A., Kunicki A., (2014), *Nano-titanium oxide doped with gold, silver and palladium – synthesis and structural characterization*, „Chemical Papers”, 68 (7) 959–968, doi: 10.2478/s11696-014-0537-7(1.092)
- [11] El-Rashidy A.A., Waly G., Gad A., Hashem A.A., Balasubramanian P., Kaya S. Boccaccini., A.R., Sami I., *Preparation and in vitro characterization of silver-doped bioactive glass nanoparticles fabricated using a sol-gel process and modified Stober*
- [12] Ciołek L., Karaś J., Olszyna A., Zaczyńska E., Czarny A., Żywicka B., (2010), *Badania właściwości fizykochemicznych i biologicznych in vitro bioszkieł ze srebrem wytworzonych metodą zol-żel*, „Szkło i Ceramika” 1, 2–6