



Antybakteryjne właściwości grafenu i jego pochodnych

ANNA ROMISZEWSKA, ANETA BOMBALSKA

Wojskowa Akademia Techniczna, Instytut Optoelektroniki,
ul. gen. S. Kaliskiego 2, 00-908 Warszawa,
anna.romiszewska@wat.edu.pl

Streszczenie. Praca prezentuje przegląd literatury w zakresie zastosowania grafenu i jego pochodnych do potencjalnej ochrony przed mikroflorą bakteryjną. Poruszono zagadnienia związane z próbą wyjaśnienia mechanizmów oddziaływania grafenu i jego pochodnych: tlenku grafenu (GO) oraz zredukowanego tlenku grafenu (rGO) na komórki bakteryjne. Porównano działanie poszczególnych form węgla na komórki Gram(+) i Gram(-), uwzględniając stężenie preparatów, rodzaj pożywki hodowlanej, a także podłoże, na którym osadzono grafen. Omówiono zagadnienia związane z powstawaniem wolnych form tlenowych (ROS), efekt ostrej krawędzi, tworzenie biofilmu oraz potencjalne zastosowania grafenu jako powłoki antybakteryjnej.

Słowa kluczowe: biomedycyna, grafen, efekt antybakteryjny, tlenek grafenu, biofilm
DOI: 10.5604/01.3001.0013.9731

1. Wstęp

Grafen to cienka, dwuwymiarowa warstwa atomów węgla, ułożona w sześciokątną sieć. W 1962 roku Hanns-Peter Boehm podczas badań nad alotropowymi odmianami węgla, przy pomocy dyfrakcji promieni rentgenowskich, zaobserwował i opisał strukturę grafenu.

Grafen po raz pierwszy został wyizolowany z płytki grafitowej w 2004 roku przez Andrieja Geima i Konstantina Novoselova z uniwersytetu w Manchesterze, za co między innymi uczeni otrzymali w roku 2010 nagrodę Nobla w dziedzinie fizyki [1]. Metoda pozyskiwania grafenu opracowana przez naukowców z Manchesteru nie nadawała się jednak do zastosowania w warunkach przemysłowych.

Użyli oni taśmy samoprzylepnej do separacji i rozwarstwienia grafitu, przenosząc za jej pomocą coraz cieńsze grafenowe warstwy na podłoże kwarcowe, ale otrzymywane cząsteczki były zbyt małe, aby uzyskane próbki były przydatne do zastosowań praktycznych [2]. Dotychczas największe praktyczne znaczenie mają cztery metody wytwarzania grafenu: chemiczne osadzanie z fazy gazowej CVD (*Chemical Vapor Deposition*), sublimacja węgla krzemu (SiC), utlenianie/redukcja grafitu oraz złuszczenie, rozwarstwianie grafitu (eksfoliacja) w roztworach wspomagane ultradźwiękami. Mniej rozpowszechnione są inne metody chemiczne, np. synteza w procesie otrzymywania koloidów.

Osadzanie z fazy gazowej (CVD) polega na naniesieniu na istniejące podłoże krystaliczne, np. SiC lub metale Cu, Ni, nowej warstwy „źródła węgla” o atomowej grubości. Istotą procesu jest powielanie przez nanoszone atomy układu istniejącej sieci krystalicznej podłoża. Grafen otrzymywany jest w wyniku wzrostu warstw z różnych faz gazowych (CH_4 , C_2H_6). Proces najczęściej przeprowadza się w atmosferze argonu.

Technika sublimacji SiC polega na wygrzewaniu materiału w wysokiej temperaturze, w której krzem sublimuje. W efekcie na powierzchni materiału pozostaje węgiel, który tworzy strukturę grafenu.

Najbardziej wydajną techniką wytwarzania grafenu jest metoda utleniania-redukcji. Obejmuje ona proces utleniania grafitu do tlenku grafenu (GO, *graphene oxide*) np. metodą Hummersona za pomocą kwasu H_2SO_4 i utleniaczy: azotanu potasu KNO_3 oraz KMnO_4 . Wydajność zależy od warunków reakcji oraz użytego prekursora grafitu [3, 4]. Inni autorzy opisali otrzymanie tlenku grafenu za pomocą sonikacji tlenku grafitu w rozpuszczalnikach polarnych [3]. GO został również otrzymany w postaci GONRs (*graphene oxide nanoribbons*) z nanorurek węglowych w środowisku KMnO_4 , H_2SO_4 oraz dodatku kwasu fosforowego, którego obecność zwiększyła możliwość otrzymania produktu z nienaruszoną siecią krystaliczną grafitu [5]. Drugim etapem metody utleniania-redukcji jest redukcja tlenku grafenu. Może odbywać się na kilka sposobów, jednak najbardziej wydajna jest chemiczna redukcja za pomocą różnych reduktorów, np. hydrazyny, hydrochinonu czy NaBH_4 . Po wysuszeniu zawiesiny rGO otrzymuje się czarny proszek posiadający własności przewodzące prąd [3].

Shen i wsp. [6] opracowali metodę otrzymywania GO z grafitu utlenionego nadtlenkiem benzoilu, sonifikowanego w wodzie, a następnie zredukowanego za pomocą NaBH_4 . Produktem końcowym były płatki rGO. Przedstawiona metoda jest szybka (pierwszy etap trwa około 10 minut), a jej wydajność sięga 80%.

W pracy [7] przedstawiono metodę otrzymywania rozpuszczalnego w wodzie grafenu poprzez zastosowanie dwóch etapów redukcji GO. Po wstępnej redukcji GO w drugim etapie grupy tlenowe podstawiano grupami sulfonowymi — SO_3 , co znacząco zmniejszało tendencję do agregacji płatków, tym samym zwiększając ich rozpuszczalność w wodzie. Niezależnie od wyboru metody otrzymywania (syntezy), źródło węgla (rozmiar cząstek, kształt, pochodzenie) będzie miało wpływ na uzyskiwany produkt końcowy.

W 2010 roku naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie poinformowali, że opracowali metodę otrzymywania dużych ilości grafenu. Metoda polskich naukowców polegała na wstępnym utlenianiu grafitu. Otrzymany produkt w postaci proszku grafitu mieszano z wodą, uzyskując koloid, który następnie poddawano działaniu ultradźwięków. W płuczce ultradźwiękowej zachodziło rozdzielanie utlenionych płaszczyzn tlenku grafenu. Aby usunąć pozostały tlen z płatków tlenku grafenu, poddawano go działaniu tetratiafulwalenu (TTF), po czym kolejny raz umieszczano produkt w płuczce ultradźwiękowej. Po osuszeniu był gotowy do zastosowania.

Materiały grafenowe otrzymane odmiennymi metodami będą różniły się właściwościami fizykochemicznym, a te z kolei będą miały oczywisty wpływ na właściwości bakteriobójcze, co przedstawiono w dalszej części artykułu.

2. Charakterystyka grafenu

2.1. Własności fizykochemiczne

Grafen jest uważany za podstawową strukturę wśród wszystkich struktur grafitowych czy węglowych. Wykazuje niezwykle właściwości mechaniczne, termiczne, elektryczne i optyczne. Dzięki doskonałemu przewodnictwu elektrycznemu może znaleźć zastosowanie w sieciach bezprzewodowego internetu i telefonii komórkowej, co pozwoli uzyskać nawet 500 razy szybsze komputery niż obecnie działające.

To jeden z najcieńszych materiałów na świecie (około 0,34 nm). Jest uznawany za najtwardszy materiał 2D, znacznie twardszy niż stal czy diament o tych samych wymiarach. Wykazuje ponad dwieście razy większą wytrzymałość niż stal o tej samej grubości, a jego wytrzymałość na rozciąganie wynosi 130 GPa [8].

Grafen jest bardzo lekki, jego gęstość to zaledwie 0,77 mg/m². Pojedyncze arkusze grafenu samoistnie układają się w strukturę grafitu, który z kolei jest najbardziej stabilną formą węgla w warunkach normalnych. Ponadto arkusze grafenowe są niezwykle elastyczne i bardzo rozciągliwe, arkusz grafenu można rozciągać do 120% jego początkowego rozmiaru bez ryzyka zerwania. Jest doskonale nieprzepuszczalny. Przez jego warstwę pojedynczych atomów węgla nie przechodzą nawet atomy helu. Charakteryzuje się wysoką gęstością prądu elektrycznego, prawie milion razy większą niż miedź, i posiada dużą wewnętrzną mobilność — sto razy większą niż krzem. Ma najniższą oporność. Istnieją metody, które pozwalają przekształcać go w nadprzewodnik, ale ze względu na brak pasma wzbronionego nie można wykorzystać grafenu do produkcji tranzystorów. Poza tym grafen jest doskonałym przewodnikiem termicznym, ma przewodność cieplną wyższą niż nanorurki węglowe, grafit i diament. Przewodzi ciepło we wszystkich kierunkach i jest przewodnikiem izotropowym [9].

Ponieważ pochłania około 2,3% światła białego, może być wykorzystany do produkcji bardzo wydajnych ogniw słonecznych, a także przezroczystych przewodników. Jest materiałem mało aktywnym chemicznie, ale może łączyć się z tlenem, helem czy fluorem [9].

Dzięki swojej specyficznej budowie, ciasno upakowanej warstwie atomów węgla, grafen wykazuje silne właściwości antybakteryjne. Potwierdziły to wyniki badań naukowców z Instytutu Fizyki Stosowanej w Szanghaju. Chińscy naukowcy wykonali eksperyment polegający na umieszczeniu kolonii bakterii *E. coli* na płątku grafenu. Po upływie około dwóch godzin odnotowano śmierć prawie 99% komórek bakterii.

Materiały grafenowe takie jak czysty grafen, tlenek grafenu, zredukowany tlenek grafenu czy kropki grafenowe stały się nową klasą środków przeciwbakteryjnych o szerokim spektrum zastosowania. Ponieważ silnie antybakteryjne działanie grafenu jednocześnie nie powoduje niszczenia zdrowych komórek, dlatego możemy go traktować jako materiał całkowicie bezpieczny [10]. Daje to możliwość zastosowania grafenu przy produkcji implantów kości oraz chrząstek. Szczególnie ważne są tutaj wyposażone w elektrody implanty neurologiczne, które będzie można wszczepiać do mózgu pacjentom chorym na schorzenia neurologiczne takie jak choroba Parkinsona, epilepsja itp. [11]. Od czasu zaobserwowania aktywności przeciwbakteryjnej grafenu i jego pochodnych w 2010 roku zainteresowanie wykorzystaniem go w nanomedycynie ciągle rośnie. Na podstawie różnych doniesień można stwierdzić, że materiały grafenowe, obejmujące zarówno czysty grafen, jak i jego pochodne, różnią się między sobą pod względem cytotoksyczności komórek drobnoustrojów, co zostanie przedstawione w dalszej części pracy.

2.2. Wpływ podłoża

W celu poznania mechanizmów aktywności antybakteryjnej grafenu wykonano wiele rozmaitych badań. Między innymi przeprowadzono eksperyment z użyciem szczepów bakterii zarówno Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), jak i Gram-ujemnych *Escherichia coli* (*E. coli*), a także płatków grafenu na przewodniku Cu, półprzewodniku Ge oraz izolatorze SiO₂. Wyniki eksperymentu wykazały, że warstwy grafenu umieszczone na przewodniku miedzianym Cu i półprzewodniku germanowym Ge hamowały wzrost obu bakterii, a zwłaszcza *S. aureus*. Morfologia *S. aureus* i *E. coli* na płątkach grafenowych potwierdziła, że bezpośredni kontakt obu bakterii z grafenem na przewodnikach Cu i Ge powodował uszkodzenia błony komórkowej i niszczył jej integralność, podczas gdy w przypadku grafenu osadzonego na izolatorze SiO₂ nie odnotowano takich zmian [12].

Można przypuszczać, że naruszenie integralności błony komórkowej, a następnie śmierć bakterii nastąpiły w wyniku przzerwania łańcucha oddechowego w błonie mitochondrialnej komórki podczas bezpośredniego kontaktu z grafenem na przewodniku miedzianym i półprzewodniku germanowym. Przerwanie łańcucha

transportu elektronów powoduje szybkie wyczerpanie poziomu wewnątrzkomórkowego ATP i ostatecznie śmierć komórki [13].

W przypadku układu grafen–izolator SiO₂ nie zarejestrowano znaczącej aktywności bakteriobójczej zarówno wobec Gram-ujemnych komórek *E. coli*, jak i Gram-dodatnich komórek *S. aureus*. Wyniki badań przeprowadzonych na trzech różnych podłożach, o różnej zdolności przenoszenia ładunku wskazują, że w niszczeniu komórek drobnoustrojów w tych przypadkach nie uczestniczą reaktywne formy tlenu (ROS) [14]. W rezultacie jest to wynik oddziaływania elektronów łańcucha oddechowego komórki bakterii z grafenem, który jest bardzo dobrym akceptorem elektronów. Znacznie większą aktywność antybakteryjną niż tlenek grafenu wykazywał zredukowany tlenek grafenu [12].

2.3. Wpływ liczby warstw oraz kształtu

Ostatnie prace wskazują, że działanie antybakteryjne grafenu, tlenku grafenu i zredukowanego tlenku grafenu może być wywołane przez tzw. efekt ostrej krawędzi. Nanosiec grafenu i jego tlenków narusza integralność błony komórkowej bakterii, co prowadzi do ekstrakcji znacznych ilości fosfolipidów i w następstwie do śmierci komórki [15].

Rozważa się również wpływ wielkości i kształtu arkuszy grafenu na aktywność antybakteryjną. Prace Liu i wsp. [16] wykazały, że arkusze GO z większym bocznym wymiarem silniej wiążą komórki bakteryjne. Kiedy rozmiar cząstek zmniejszono do kilku nanometrów (grafenowe kropki kwantowe), aktywność antybakteryjna drastycznie spadła [17]. Z kolei Perreault i wsp. [18] wykazali, że mały rozmiar cząstek GO ma wyższą właściwość antybakteryjną niż większe cząstki. Kiedy powierzchnia arkuszy GO została zmniejszona z 0,65 do 0,01 μm², efekt antybakteryjny zwiększył się o cztery rzędy. Tak sprzeczne rezultaty sugerują, że rozmiar arkuszy grafenowych nie jest jedynym czynnikiem warunkującym własności antybakteryjne.

Z kolei prace Kurapati i wsp. [19] i Mangadlao i wsp. [20] opisują zupełnie inne efekty. Praca [19] przedstawia wpływ efektu grubości warstwy kompozytu GO/PAH (*graphene oxide/poly(allylamine hydrochlorid)*, tlenek grafenu/chlorowodorek poli(aliloaminy)) na przeżywalność komórek *E. coli*. Z rezultatów wynika, że wraz z rosnącą grubością warstwy kompozytu (przy zachowanej monowarstwie GO) rośnie aktywność antybakteryjna. Po 16 godzinach inkubacji zaobserwowano spadek żywotności do 27%. Cienkie warstwy GO/PAH nie wpłynęły na żywotność komórek, zwłaszcza w krótkim (4 godz.) czasie. Podobny efekt lepszej aktywności pojedynczych warstw GO opisano na przykładzie *E. coli* K12 [20]. Warstwa GO została naniesiona metodą Langmuira-Blodgetta, co według autorów zapewnia całkowite przyleganie cząstek do powierzchni, eliminując z doświadczenia wpływ ostrej krawędzi GO. Arkusze GO inkubowano z komórkami przez 2 godz. i zmierzono poziom żywych i martwych komórek. Właściwości antybakteryjne rosły z liczbą

warstw GO (1 do 3). Wyniki te były zgodne z pracami J. Li i wsp. [12] i L. Hui i wsp. [21], gdzie również zauważono, że efekt ostrej krawędzi nie zawsze ma wpływ na własności antybakteryjne. Najprawdopodobniej oba efekty (krawędzi i warstw) wzajemnie się uzupełniają i nie zawsze mogą być obserwowane rozłącznie.

Aktywność antybakteryjna grafenu i jego tlenków została również potwierdzona za pomocą innych metod, takich jak: metody spektroskopowe (spektroskopia Ramana), metody z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej, mikroskopii rentgenowskiej oraz symulacji teoretycznych. Wyniki tych badań poświadczały niszczenie błony komórkowej bakterii przez nanostruktury grafenu i jego pochodnych, co w rezultacie prowadzi do śmierci komórek bakterii [22]. Uzyskane wyniki nie wykluczają jednak udziału w antybakteryjnej aktywności grafenu stresu oksydacyjnego pod wpływem wolnych rodników, jakie mogą tworzyć się podczas reakcji grafenu z komórkami bakterii [14]. Wprawdzie zarówno tlenek grafenu, jak i zredukowany tlenek grafenu nie odpowiadają za wytworzenie zbyt dużych ilości anionorodnika ponadtlenkowego, jednak zredukowany tlenek grafenu aktywnie uczestniczy w hamowaniu aktywności enzymów antyoksydacyjnych bakterii, głównie reduktazy glutationowej [23]. Ponadto zaobserwowano wpływ wielkości (wymiaru) nanoarkuszy grafenowych na ich skuteczność przeciwbakteryjną. Stały spadek utraty żywotności bakterii zaobserwowano, gdy zmniejszył się wymiar boczny nanoarkuszy tlenku grafenu. Badania te sugerują, że większe nanoarkusze izolują komórki bakteryjne i ograniczają ich wzrost przez fizyczne pułapkowanie [24].

2.4. Środowisko pomiarowe/ warunki prowadzenia eksperymentu

Znaczący wpływ na rozpatrywane właściwości ma także pożywka hodowlana, pH, światło i pole magnetyczne [12, 15, 18, 24-27]. Zou X. i wsp. [28] wykazali, że GO w roztworze soli fizjologicznej posiadał znacznie większe własności antybakteryjne niż w pożywce Nutrient Broth, gdzie własności te były niezauważalne. Hui i wsp. (2014) [21] sugerują, że niekowalencyjna adsorpcja składników pożywki na powierzchni GO może wpływać na obniżenie aktywności bakteriobójczej. Możliwy jest także efekt odwrotny do zamierzonego, gdzie dostarczenie składników odżywczych na powierzchnię GO wpłynie dodatnio na kolonię bakterii. Z kolei rGO w medium Luria-Bertani (LB) wykazało znaczące własności bakteriobójcze. Efekt ten tłumaczony jest mniejszą zdolnością rGO do adsorpcji białek zawartych w pożywce niż GO, co może wpływać na niższy spadek własności antybakteryjnych dla tej pochodnej grafenu [29]. Obserwacje te potwierdzają wyniki badań Z. Guo i wsp. [30], gdzie GO i rGO inkubowane były z medium LB. Dla GO zaobserwowano znacznie wyższy stopień adsorpcji składników pożywki. Zachowanie to może wyjaśniać tak różne efekty antybakteryjne GO i rGO opisywane przez zespoły badawcze.

Jak donoszą inne źródła, na aktywność antybakteryjną materiałów grafenowych może mieć wpływ obecność różnych substancji organicznych i nieorganicznych, które

wywołują agregację cząsteczek grafenu, przez co mocno ograniczają biodostępność materiałów grafenowych. Jednym z ważniejszych czynników abiotycznych jest siła jonowa. Pod wpływem kationów następuje szybka agregacja materiału grafitowego, a to hamuje jego interakcje z mikroorganizmami.

Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie środków stabilizujących [24, 31]. Biorąc pod uwagę wyniki doniesień literaturowych, można stwierdzić, że niszczenie komórek bakterii przez grafen zachodzi w wyniku działania kilku czynników, m.in.:

- fizycznego uszkodzenia błony bakteryjnej, tzw. mechanizm *nanoknife*,
- uszkodzeń komórek bakterii wywołanych stresem oksydacyjnym,
- destabilizacji błony bakteryjnej wywołanej ekstrakcją jej składników, głównie fosfolipidów,
- blokowania lub ograniczania wzrostu komórek, tzw. działanie bakteriostatyczne.

Jednak szczegóły procesu i mechanizm molekularny uszkodzenia błony bakteryjnej przez nanoarkusze grafenu i tlenku grafenu nadal pozostają niejasne [32, 33].

Natomiast można stwierdzić, że zarówno grafen, jak i jego pochodne posiadają wymaganą bioaktywność i zdolność antybakteryjną, aby znaleźć zastosowanie również w ortopedii jako materiały do „naprawy kości” [34].

W ostatnich latach implanty chirurgiczne są dość powszechnie stosowane w leczeniu złamań czy innych schorzeń kości. Dobry implant musi posiadać odpowiednie właściwości biologiczne i antybakteryjne, aby uniknąć odrzucenia czy infekcji. W rzeczywistości leczenie ortopedyczne zakażonego ubytku kości jest nadal poważnym problemem [35]. Bakteria *S. aureus* to najczęściej spotykany patogen w ortopedii i ortopedycznych implantach, a leczenie zakażeń jest trudne i w razie niepowodzenia kończy się amputacją. Ciągłe rośnie liczba biomateriałów stosowanych w ortopedii [36, 37]. Głównie są to: polimery, materiały białkowe (włókna kolagenowe), bioceramika (hydroksyapatyt, fosforan wapnia) itp. [38, 39]. Grafen i jego pochodne są nowatorskimi materiałami spełniającymi wymagania stawiane przez ortopedię. Wzbudziły duże zainteresowanie w biomedycynie, ze względu na ich unikatową dwuwymiarową strukturę oraz szczególne właściwości fizykochemiczne [35].

Wprawdzie w ostatnich latach zaczęto stosować nanocząstki grafenu oraz tlenku grafenu do chirurgicznej modyfikacji powierzchni implantów, to biobezpieczeństwo oraz antybakteryjna aktywność tych materiałów pozostają nadal niejasne. Bezpieczeństwo biologiczne grafenu i tlenku grafenu oceniano między innymi przez współhodowle z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi szpiku kostnego w warunkach *in vitro* i przez wszczepianie materiałów grafenowych do tkanki mięśniowej myszy w warunkach *in vivo* [40, 41].

2.5. Wpływ stężenia G, GO i rGO

Wyniki badań wskazują, że krytyczne stężenie bezpieczeństwa dla grafenu i jego tlenku to 10 mg/ml. Grafen wykazywał aktywność antybakteryjną przy stężeniu równym i większym niż 100 mg/ml (≥ 100 mg/ml). Natomiast tlenek grafenu miał zdolność antybakteryjną przy stężeniu równym i większym niż 50 mg/ml. Stężenie grafenu i jego tlenku między 50 a 100 mg/ml może być odpowiednim zakresem, aby utrzymać równowagę cytotoksyczności i zdolności antybakteryjnej obu substancji [35].

Wprawdzie grafen i jego tlenki wykazują aktywność toksyczną w stosunku do różnych mikroorganizmów, to nadal pozostaje problem cytotoksyczności zdrowych komórek. Pelez i jego współpracownicy podjęli próbę znalezienia odpowiedzi na pytanie, jak zmniejszyć ryzyko zagrożeń i zwiększyć korzyści płynące z zastosowania grafenu i jego pochodnych w bezpiecznej i skutecznej nanomedycynie [42]. W projekcie promowania badań nad nanomateriałami węglowymi, nanomedycyną i nanotoksycznością przeprowadzono wiele eksperymentów. W celu oceny zarówno cytotoksyczności, jak i aktywności antybakteryjnej preparatów grafenowych wykonano liczne badania, obserwując wpływ grafenu i jego tlenków na komórki mezenchymalne szpiku kostnego oraz tkanki mięśni myszy w warunkach *in vivo* oraz na komórki bakterii *S. aureus* w warunkach *in vitro* [35].

2.6. Typ bakterii

Kwestia działania bakteriobójczego powinna być rozpatrywana podobnie jak inne czynniki wpływające na zachowanie się materiałów grafenowych. Dla większości mikroorganizmów ich podstawowa struktura jest taka sama: ściana/błona komórkowa, cytoplazma, ciało jądrowe, podczas gdy czynnikiem rozróżniającym jest skład chemiczny i morfologia. Omawiane już wcześniej bakterie Gram-ujemne (*E. coli*, *P. aeruginosa*) posiadają w swej budowie cienką warstwę peptydoglikanów (2-3 nm) pomiędzy wewnętrzną i zewnętrzną ścianą komórkową, podczas gdy bakterie Gram-dodatnie (*S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) mają grubszą warstwę peptydoglikanów sięgającą 20-80 nm w pojedynczej warstwie ściany komórkowej, co znacząco wpływa na zróżnicowaną czułość w stosunku do substancji przeciwbakteryjnych [43-47]. Co więcej, bakterie można podzielić na *Coccus* (sferyczne), *Bacillus* (pałeczki), spiralne i nitkowate różniące się powierzchnią oddziaływania z materiałami grafenowymi, co nie pozostaje bez wpływu na tak różne efekty działania materiałów grafenowych opisywane w literaturze.

2.7. Zastosowanie w medycynie

Zapobieganie zakażeniom związanym z użyciem biomolekuł powinno koncentrować się jednocześnie na dwóch celach: hamowaniu tworzenia się „biofilmu” oraz

minimalizacji lokalnej odpowiedzi immunosupresyjnej. Najlepsza powierzchnia przeciwbakteryjna powinna być na tyle „inteligentna”, aby reagować nawet na najmniejsze zagrożenie bakteryjne [48]. Zakażenia związane z biomolekułami są bardzo dużym problemem współczesnej chirurgii ortopedycznej. Obecnie szacuje się, że do 2,5% pierwotnych plastyk stawu kolanowego i biodrowego oraz do 20% plastyk wtórnych jest obciążonych powikłaniami związanymi z infekcjami okołoprotezowymi. Głębokie zakażenie prowadzi w tych wypadkach do usunięcia implantu, zwiększonej zachorowalności, a nawet śmierci pacjenta [49]. Ponadto leczenie zakażeń okołoprotezowych wiąże się z dużymi kosztami [50]. Wprawdzie metody zwalczania zakażeń okołoperacyjnych czy zapobiegania im oparte na antybiotykach okazały się dość skuteczne, nadal jednak trwają poszukiwania skutecznych antybakteryjnych powierzchni, które będą zapobiegać adhezji, kolonizacji i proliferacji bakterii wokół tkanki [51]. Podobne rozwiązania będzie można zastosować w celu zapobiegania zakażeniom miejsc chirurgicznych z udziałem implantów takich jak płytki, gwoździe śródstypkowe czy stabilizatory wewnętrzne [52].

W celu wyjaśnienia mechanizmu powstawania zakażeń miejsc okołoprotezowych A. Gristina zaproponował tzw. koncepcję „wyścigu o powierzchnię”, w której komórki gospodarza i komórki bakterii konkurują w określeniu ostatecznego losu implantu. Kiedy komórki gospodarza kolonizują w pierwszej kolejności powierzchnię implantu, prawdopodobieństwo przyłączenia komórek bakterii zmniejsza się i odwrotnie [53]. Błony komórkowe bakterii mają zdolność przylegania do praktycznie wszystkich naturalnych i syntetycznych powierzchni, bowiem zawierają różnego rodzaju adhezyny dla szerokiego zakresu receptorów biomateriałów powierzchniowych [54].

Po pewnym czasie model Gristina został poddany krytyce m.in. za niską zdolność przewidywania infekcji okołoprotezowej [48]. Dlatego profilaktyka jest najlepszą odpowiedzią na narastający problem infekcji okołortopedycznych.

Inne zastosowania grafenu i jego pochodnych w nanomedycynie przedstawili Sun i wsp. w leczeniu ran. Opatrunek na ranę otrzymywano przez impregnację tkaniny bawełnianej środkami czynnymi, takimi jak materiał grafenowy połączony z konwencjonalnym środkiem antyseptycznym, nadtlenkiem wodoru H_2O_2 . Grafen w tym przypadku wykazywał aktywność peroksydazy, skutecznie rozkładając H_2O_2 z wytworzeniem rodników hydroksylowych OH^\cdot *in situ* [55]. Zastosowanie w opatrunku materiału grafenowego znacznie zwiększyło jego działanie antybakteryjne w porównaniu z opatrunkiem z użyciem samego H_2O_2 [56]. Opatrunek z grafenem pozwolił na zagojenie rany u myszy w ciągu trzech dni, bez dodatkowych objawów ubocznych takich jak obrzęk czy rumień. Ponadto w przypadku takich opatrunków istnieje możliwość użycia H_2O_2 o znacznie mniejszym stężeniu, co dodatkowo minimalizuje problem uszkodzenia zdrowej tkanki otaczającej zranione miejsce [55].

W przypadku stosowania u pacjentów implantów kostnych, dentystrycznych czy cewników często dochodzi do wczesnych zakażeń bakteryjnych. Brakuje w tych przypadkach odpowiedniej integracji pomiędzy tkankami miękkimi a powierzchnią

implantu, co staje się przyczyną obrzęków, stanów zapalnych i zakażeń. Dlatego tak ważna jest profilaktyka. Potrzebne są właściwie zaprojektowane i przygotowane powierzchnie implantów o odpowiednio długoterminowej aktywności antydrobnoustrojowej [57].

Zgłoszono już kilka ciekawych propozycji dotyczących powłok antybakteryjnych z użyciem grafenu i jego pochodnych. Xie i wsp. [58] przedstawili powlekane polidopaminą powierzchnie tytanowe z nanocząstkami srebra AgNPs (ang. *silver nanoparticles*) i grafenem. Ze względu na obecność uwalniających się jonów srebra Ag^+ oraz wygenerowanych światłem reaktywnych form tlenu ROS powierzchnie te wykazywały wysoką aktywność antybakteryjną [58]. Z badań wykonanych na modelu zwierzęcym wynikało, że wrodzone mechanizmy odpornościowe myszy mogły zwalczyć infekcję bakteryjną na powłokach nanokompozytowych z użyciem grafenu w ciągu zaledwie kilku dni, podczas gdy na „gołych” (pozbawionych grafenu) implantach infekcja trwała dwa tygodnie. Ponadto wykazano, że powłoka kolagenowa AgNP — tlenek grafenu poprawia biokompatybilność powierzchni tytanowej. Bioaktywne i antybakteryjne właściwości grafenu i nanokompozytów na bazie grafenu są również obiecujące w zastosowaniach dentystrycznych [59]. Przetestowano także grafen jako dodatek do szkielek bioaktywnych i materiałów ceramicznych naśladowujących kości. Ponadto biogaz z domieszką grafenu i azotu wykazuje zwiększoną aktywność antybakteryjną wobec szczepu bakterii *E. coli* w porównaniu z biogazem bez tych domieszek. Materiały grafenowe okazały się również interesujące w zastosowaniach do cewników i stentów [60]. Podila i wsp. wykazali, że powierzchnie nitinolowe powlekane grafenem charakteryzują się mniejszą szybkością krzepnięcia krwi — z powodu większego powinowactwa grafenu do albuminy niż fibrynogenu [61].

Oczekuje się, że w najbliższej przyszłości preparaty oparte na grafenie i jego pochodnych mogą być wykorzystane jako skuteczne leki przeciwdrobnoustrojowe, czyli tzw. nanoantybiotyki. Najbardziej obiecujące do tej pory okazały się eksperymenty oparte na aktywowaniu światłem nanokompozytów z udziałem grafenu. Wu i jego współpracownicy otrzymali koloidalny kompozyt fotochemiczny zredukowanego tlenku grafenu, nanocząstek tlenku żelaza i aldehydu glutarowego, który wychwytywa patogeny bakteryjne [62].

Tian i wsp. wykazali, że kompozyt składający się z tlenku grafenu, tlenku żelaza i AgNP wykazywał znacznie wyższą aktywność antybakteryjną zarówno wobec bakterii *E. coli*, jak i *S. aureus* niż jego poszczególne składniki. Z kolei Wang otrzymał podobny kompozyt z dodatkiem polietylenoiminy, co dodatkowo pozwoliło znacznie lepiej związać cząsteczki zredukowanego tlenku grafenu i nanocząstki srebra AgNP [63, 64].

3. Podsumowanie

W oparciu o dostępne obecnie wyniki badań trudno prawidłowo ocenić potencjał grafenu w rzeczywistych zastosowaniach. Niemniej jednak stosowane aktualnie konwencjonalne materiały węglowe mogą dostarczyć niezbędnych informacji w celu przyspieszenia procesu wdrażania grafenu do celów terapeutycznych. W ostatnich dziesięcioleciach w zastosowaniach biomedycznych używano głównie preparatów węglowych takich jak: węgiel aktywowany, tkaniny z włókien węglowych, węgiel pyrolityczny i diamentowy. Były one wykorzystywane przede wszystkim jako opatrunki czy powłoki implantów oraz jako antidotum na kilka rodzajów substancji toksycznych. Dlatego można mieć nadzieję, że w bliskiej przyszłości grafen i jego pochodne, w połączeniu z konwencjonalnymi preparatami węglowymi, mają dużą szansę znaleźć zastosowanie w terapii przeciwwzakaźnej. Pojawiło się wprawdzie sporo doniesień na temat zastosowania hybryd nanocząstek metali i grafenu, ale brakuje informacji na temat prac, w których połączono konwencjonalne materiały węglowe używane w praktyce medycznej z materiałem grafenowym [65, 66].

Większość doniesień na temat aktywności antybakteryjnej grafenu i jego pochodnych jest zgodnych, istnieją jednak wyniki eksperymentów, które nie potwierdzają w pełni tej aktywności. Odnotowano przypadki, gdzie zaobserwowano wzrost bakterii i tworzenie się gęstego biofilmu wokół agregatów tlenu grafenu, w zależności od warunków przeprowadzonego eksperymentu. Dotyczy to głównie oddziaływania tlenek grafenu–środowisko (pożywka) [67]. Są wyniki świadczące o działaniu antybakteryjnym grafenu w pożywkach wzrostowych, ale również obserwowano brak tej aktywności w środowisku wodnym [59, 68]. Być może jedną z głównych przyczyn tych różnic jest brak zgodności w metodologii eksperymentalnej przyjętej w różnych badaniach. Poza tym, nie jest w pełni wyjaśniony i często ignorowany wpływ zanieczyszczeń na wynik eksperymentu. Dlatego należy przyjąć bardziej rygorystyczne normy dotyczące cech materiałowych i wyboru procedur mikrobiologicznych. Ponadto są dowody na to, że tlenek grafenu może powodować zarówno wzrost, jak i hamowanie aktywności antybakteryjnej w zależności od szczepu bakterii. Jest jeszcze sporo wątpliwości związanych ze skutkami ubocznymi, jakie mogą wystąpić u pacjenta po zastosowaniu grafenu i jego pochodnych [59].

Pomimo różnych kontrowersji istnieje zgoda, że toksyczność grafenu zależy od jego czystości, wielkości (wymiaru) bocznej, budowy chemicznej (w tym funkcjonalizacji) oraz zastosowanej dawki.

Podsumowując, po przeanalizowaniu korzyści płynących z użycia grafenu, jak i skutków ubocznych, jakie mogą nastąpić, zastosowanie medyczne materiałów grafenowych jako środków alternatywnych dla antybiotyków w pełni zasługuje na dużą uwagę. Ma to szczególne znaczenie w przypadkach leczenia zakażeń lekoopornych, których z roku na rok ciągle przybywa.

Praca nie była finansowana ze środków publicznych, komercyjnych ani sektorów non profit.

Artykuł wpłynął do redakcji 26.06.2019 r. Zweryfikowaną wersję po recenzjach otrzymano 29.01.2020 r.

Anna Romiszewska <https://orcid.org/0000-0002-8469-4526>

Aneta Bombalska <https://orcid.org/0000-0003-0417-7340>

BIBLIOGRAFIA

- [1] MATTEI T.A., REHMAN A.A., *Technological developments and future perspectives on graphene-based metamaterials: a primer for neurosurgeons*, *Neurosurgery*, 74, 2014, 499-516.
- [2] NOVOSELOV K., GEIM A. et al., *Electric field effect in atomically thin carbon films*, *Science*, 306, 2004, 666-669.
- [3] PARK S., RUOFF R.S., *Chemical methods for the production of graphenes*, *Nature Nanotechnology*, 2009, 1-8.
- [4] SMITH A.T., LACHANCE A.M., ZENG S., LIU B., SUN L., *Synthesis, properties, and applications of graphene oxide/reduced graphene oxide and their nanocomposites*, *Nano Materials Science*, 1, 2019, 31-47.
- [5] MARCANO D.C., KOSYNKIN D.V., BERLIN J.M., et al., *Improved Synthesis of Graphene Oxide*, *ACS Nano* 4, 2010, 4806-4814.
- [6] SHEN J., HU Y., SHI M., LU XIN., et al., *Fast and Facile Preparation of Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide Nanoplatelets*, *Chem. Matter*, 21, 2009, 3514-3520.
- [7] SI Y., SAMULSKI E.T., *Synthesis of Water Soluble Graphene*, *Nano Letters*, 8, 2008, 1679-1682.
- [8] ISMAEL S., LEWIS J., *Graphene: will it be the future material in orthopaedic and trauma surgery?*, *Orthopaedic Proceedings*, 95-B, 2018, 22.
- [9] PELEG R., et al., *An overview of graphene's properties*, <https://www.graphene-info.com/graphene-introduction>, *The graphene experts*, 2017.
- [10] KARAHAN H.E., WIRAJA C., XU C., WEI J., WANG Y., WANG L., LIU F., CHEN Y., *Graphene Materials in Antimicrobial Nanomedicine: Current Status and Future Perspectives*, *Adv Healthcare Materials*, 7, 2018, 1-18.
- [11] MATTEI T.A., REHMAN A.A., *Technological developments and future perspectives on graphene-based metamaterials: a primer for neurosurgeons*, *Neurosurgery*, 74, 2014, 499-516.
- [12] LI J., WANG G., ZHU H., ZHANG M., ZHENG X., DI Z., LIU X., WANG X., *Antibacterial activity of large-area monolayer graphene film manipulated by charge transfer*, *Scientific Reports*, 4, 2014, 1-8.
- [13] DIMROTH P., KAIM G., MATTHEY U., *Crucial role of the membrane potential for ATP synthesis by F(1)F(o)ATP synthases*, *J. Exp. Biol.*, 203, 2000, 51-59.
- [14] NANDA S., YI D., KIM K., *Study of antibacterial mechanism of graphene oxide using Raman spectroscopy*, *Scientific Reports*, 6, 2016, 1-12.
- [15] TU Y., LV M., XIU P., HUYNH T., ZHANG M., CASTELLI M., LIU Z., HUANG Q., FAN C., FANG H., ZHOU R., *Destructive extraction of phospholipids from Escherichia coli membranes by graphene nanosheets*, *Nat Nanotechnol.*, 8, 2013, 594-601.
- [16] LIU S., HU M., ZENG T.H., WU R., JIANG R., WEI J., WANG L., KONG J., CHEN Y., *Lateral dimension-dependent antibacterial activity of graphene oxide sheets*, *Langmuir* 28, 2012, 12364-72.
- [17] CHONG Y., MA Y., SHEN H., TU X., ZHOU X., XU J., DAI J., FAN S., ZHANG Z., *The in vitro and in vivo toxicity of graphene quantum dots*, *Biomaterials*, 35, 2014, 5041-8.

- [18] PERREAULT F., DE FARIA A.F., NEJATI S., ELIMELECH M., *Antimicrobial properties of graphene oxide nanosheets: why size matters*, ACS Nano, 9, 2015, 7226-36.
- [19] KURAPATI R., VAIDYANATHAN M., RAICHUR A.M., *Synergistic photothermal antimicrobial therapy using graphene oxide/polymer composite layer-by-layer thin films*, RSC Adv., 6, 2016, 39852-60.
- [20] MANGADLAO J.D., SANTOS C.M., FELIPE M.J.L., DE LEON A.C.C., RODRIGUES D.F. AND ADVINCULA R.C., *On the antibacterial mechanism of graphene oxide (GO) Langmuir-Blodgett films*, Chemical Communications, 14, 2015, 2886-9.
- [21] HUI L., PIAO J.G., AULETTA J., HU K., ZHU Y., MEYER T., LIU H. AND YANG L., *Availability of the basal planes of graphene oxide determines whether it is antibacterial*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 6, 2014, 13183-90.
- [22] ADITYA S., VARSHNEY M., NANDA S.S., SHIN H.J., KIM N., YI D.K., CHAE K-W., WON S.O., *Structural, electronic structure and antibacterial properties of graphene-oxide nano-sheets*, Chemical Physics Letter, 698, 2018, 85-92.
- [23] LIU S., ZENG TH., HOFMAN M., BURCOMBE E., WEI J., JIANG R., KONG J., CHEN Y., *Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress*, ACS Nano; 5, 2011, 6971-6980.
- [24] LIU S., HU M., ZENG T.H., WU R., JIANG R., WEI J., WANG L., KONG J., CHEN Y., *Lateral dimension-dependent antibacterial activity of graphene oxide sheets*, Langmuir, 28, 2012, 12364-12372.
- [25] AKHAVAN O., CHOBTASHANI M., GHADERI E.J., *Protein Degradation and RNA Efflux of Viruses Photocatalyzed by Graphene-Tungsten Oxide Composite Under Visible Light Irradiation*, Phys. Chem., 116, 2012, 9653-9659.
- [26] PERREAULT F., TOUSLEY M.E., ELIMELECH M., *Thin-Film Composite Polyamide Membranes Functionalized with Biocidal Graphene Oxide Nanosheets*, Environ. Sci. Technol. Lett., 1, 2014, 71-76.
- [27] YANG X., LI Z., JU E., REN J., QU X., *Reduced graphene oxide functionalized with a luminescent rare-earth complex for the tracking and photothermal killing of drug-resistant bacteria*, Chemistry, 20, 2014, 394-398.
- [28] ZOU X., ZHANG L., WANG Z., LUO Y., *Mechanisms of the antimicrobial activities of graphene materials*, J. Am. Chem. Soc., 138, 2016, 2064-2077.
- [29] WEI XQ., HAO L.Y., SHAO X.R., ZHANG Q., JIA X.Q., ZHANG Z.R., LIN F.Y., PENG Q., *Insight into the interaction of graphene oxide with serum proteins and impact of the degree of reduction and concentration*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 7, 2015, 13367-13374.
- [30] GUO Z., XIE C., ZHANG P., ZHANG J., WANG G., HE X., MA Y., ZHAO B., ZHANG Z., *Toxicity and transformation of graphene oxide and reduced graphene oxide in bacteria biofilm*, Science of total Environment 580, 2017, 1300-1308.
- [31] MEJÍAS CARPIO I.E., SANTOS C.M., WEI X., RODRIGUES D.F., *Toxicity of a polymer-graphene oxide composite against bacterial planktonic cells, biofilms and mammalian cells*, Nanoscale, 4, 2012, 4746-4756.
- [32] LI R., MANSUKHANI N.D., GUINEY L.M., JI Z., ZHAO Y., CHANG CH., FRENCH C.T., MILLER J.F., HERSAM M.C., NEL A.E., XIA T., *Identification and optimization of carbon radicals and hydrated graphene oxide for ubiquitous antibacterial coatings*, ACS Nano; 10, 2016, 10966-10980.
- [33] QIAN W., QIU J., SU J., LIU X., *Minocycline hydrochloride loaded on titanium by graphene oxide: an excellent antibacterial platform with the synergistic effect of contact-killing*, Biomaterials Science, 6, 2018, 304-313.

- [34] KORAHAN H.E., WANG Y., LI W., LIU F., WANG L., SUI X., RIAZA MA., CHEN Y., *Antimicrobial graphene materials: the interplay of complex materials characteristics and competing mechanisms*, *Biomater. Sci.*, 6, 2018, 766-773.
- [35] PANG L., DAI CH., BI L., GUO Z., FAN J., *Biosafety and antibacterial ability of graphene and graphene oxide in vitro and in vivo*, *Nanoscale Research Letters*, 12, 2017, 1-9.
- [36] TRAMPUZ A., PIPER K.E., JACOBSON M.J., HANSEN AD., UNNI K.K., OSMON D.R., MANDREKAR J.N., COCKERILL F.R., STECKELBERG J.M., GREENLEAF J.F., PATEL R., *Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection*, *N. Engl. J. Med.*, 357, 2007, 654-663.
- [37] JAIN A.K., SINHA S., *Infected nonunion of the long bones*, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 431, 2005, 57-65.
- [38] GAO CH., DENG Y., FENG P., MAO Z., LI P., YANG B., DENG J., CAO Y., SHUAI C., PENG S., *Current progress in bioactive ceramic scaffolds for bone repair and regeneration*, *Int. J. Mol. Sci.*, 15, 2014, 4714-4732.
- [39] ZHOU H., LEE J., *Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering*, *Acta Biomater.*, 7, 2011, 2769-2781.
- [40] TALUKDAR Y., RASHKOW J., LALWANI G., KANAKIA S., SITHARAMAN B., *The effects of graphene nanostructures on mesenchymal stem cells*, *Biomaterials*, 35, 2014, 4863-4877.
- [41] AKHAVAN O., GHADERI E., AKHAVAN A., *Size-dependent genotoxicity of graphene nanoplatelets in human stem cells*, *Biomaterials*, 33, 2012, 8017-8025.
- [42] PELEZ B., ALEXIOU C., ALVAREZ-PUEBLA R.A., ALVES F., ANDREWS A.M., ASHRAF S., BALOGH L.P., BALLERINI L., BESTETTI A., BRENDL C., BOSI S., et al. *Diverse applications on nanomedicine*, *ACS Nano*, 11, 2017, 2313-2381.
- [43] HU W., PENG C., LUO W., LV M., LI X., LI D., HUANG Q., FAN C., *Graphene-based antibacterial paper*, *ACS Nano* 4, 2010, 4317-23.
- [44] PHAM V.T., TRUONG V.K., QUINN M.D., NOTLEY S.M., GUO Y., BAULIN V.A., AL KOBALSI M., CRAWFORD R.J., IVANOVA E.P., *Graphene Induces Formation of Pores That Kill Spherical and Rod-Shaped Bacteria*, *ACS Nano*, 9, 2015, 8458-67.
- [45] LI J., WANG G., ZHU H., ZHANG M., ZHENG X., DI Z., LIU X., WANG X., *Antibacterial activity of large-area monolayer graphene film manipulated by charge transfer*, *Sci. Rep.*, 4, 2014, 4359-66.
- [46] HUI L., PIAO J.G., AULETTA J., HU K., ZHU Y., MEYER T., LIU H., YANG L., *Availability of the basal planes of graphene oxide determines whether it is antibacterial*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 6, 2014, 13183-90.
- [47] MUSICO Y.L.F., SANTOS C.M., DALIDA M.L.P., RODRIGUES D.F., *Surface Modification of Membrane Filters Using Graphene and Graphene Oxide-Based Nanomaterials for Bacterial Inactivation and Removal*, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2, 2014, 1559-65.
- [48] GALLO J., HOLINKA M., MOUCHA C.S., *Antibacterial surface treatment for orthopaedic implants*, *Int. J. Mol. Sci.*, 15, 2014, 13849-13880.
- [49] LENTINO J.R., *Prosthetic joint infections: bane of orthopedists, challenge for infectious disease specialist*, *Clin. Infect. Dis.* 36, 2003, 1157-1161.
- [50] KURTZ S.M., LAU E., WATSON H., SCHMIER J.K., PARVIZI J., *Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States*, *J. Arthroplasty*, 27, 2012, 61-65.
- [51] AN Y.H., FRIEDMAN R.J., *Prevention of sepsis in total joint arthroplasty*, *J. Hosp. Infect.* 33, 1996, 93-108.

- [52] ILLINGWORTH K.D., MIHALKO W.M., PARVIZI J., SCULCO T., MCARTHUR B., EL BITAR Y., SALEH K.J., *How to minimize infection and thereby maximize patient outcomes in total joint arthroplasty: A multicenter approach: AAOS exhibit selection*, J. Bone Joint Surg. Am., 95, 8, 2013, e50.
- [53] GRISTINA AG., NAYLOR P., MYRVIK Q., *Infections from biomaterials and implants: a race for the surface*, Med. Prog. Technol., 14, 1988, 205-224.
- [54] CHEN Y., BUSSCHER HJ., VAN DER MEI HC., NORDE W., *Statistical analysis of long- and short-range forces involved in bacterial adhesion to substratum surfaces as measured using atomic force microscopy*, Appl. Environ. Microbiol., 77, 2011, 5065-5070.
- [55] SUN H., GAO N., DONG K., REN J., QU X., *Graphene quantum dots-band-aids used for wound disinfection*, ACS Nano, 8, 2014, 6202-6210.
- [56] SCHREML S., LANDTHALER M., SCHÄFERLING M., BABILAS P., *A new star on the H₂O₂ horizon of wound healing?*, Exp. Dermatol., 20, 2011, 229-231.
- [57] CAMPOCCIA D., MONTANARO L., ARCIOLA C.R., *The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance*, Biomaterials, 27, 2006, 2331-2339.
- [58] XIE X., MAO C., LIU X., ZHANG Y., CUI Z., YANG X., YEUNG K.W.K., PAN H., CHU P.K., WU S., *Synergistic bacteria killing through photodynamic and physical actions of graphene oxide/Ag/collagen coating*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 9, 2017, 26417-26428.
- [59] KARAHAN H.E., WIRAJA CH., XU CH., WEI J., WANG Y., WANG L., LIU F., CHEN Y., *Graphene materials in antimicrobial nanomedicine: current status and future perspectives*, Advanced Healthcare Materials, 7, 2018, 1-18.
- [60] SHIH S.-J., CHEN C.Y., LIN Y.-CH., LEE J.-CH., CHUNG R.-J., *Investigation of bioactive and antibacterial effects of graphene oxide-doped bioactive glass*, Adv. Powder Technol., 27, 2016, 1013-1020.
- [61] PODILA R., MOORE T., ALEXIS F., RAO A., *Graphene coatings for enhanced hemo-compatibility of nitinol stents*, RSC Adv., 3, 2013, 1660-1665.
- [62] WU M.-C., DEOKAR A., LIAO J.-H., SHIH P.-Y., LING Y.-CH., *Graphene-based photothermal agent for rapid and effective killing of bacteria*, ASC Nano., 7, 2013, 1281-1290.
- [63] TIAN T., SHI X., CHENG L., LUO Y., DONG Z., GONG H., XU L., ZHONG Z., PENG R., LIU Z., *Graphene based nanocomposite as an effective, multifunctional and recyclable antibacterial agent*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 6, 2014, 8542-8548.
- [64] WANG Y., ZHAO Q., HAN N., BAI L., LI J., LIU J., CHE E., HU L., ZHANG Q., JIANG T., WANG S., *Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications*, Nanomedicine, 26, 2015, 313-327.
- [65] MARCIANO E.R., BONETTI L.F., MANGOLIN J.F., DA-SILVA N.S., TRAVA-AIROLDI V.J., *Investigation into the antibacterial property and bacterial adhesion of diamond-like carbon films*, Vacuum 85, 2011, 662-666.
- [66] ZHOU H., XU L., OGINO A., NAGATSU M., *Investigation into the antibacterial property of carbon films*, Diamond Relat. Mater., 17, 2008, 1416-1419.
- [67] RUIZ O.N., SHIRAL FERNANDO K.A., WANG B., BROWN N., LUO P.G., MCNAMARA N.D., VANGSNESS M., SUN YA-PING, BUNKER C.E., *Graphene oxide a nonspecific enhancer of cellular growth*, ACS Nano, 5, 2011, 8100-8107.
- [68] VEERAPANDIAN M., ZHANG L., KRISHNAMOORTHY K., YUN K., *Surface activation of graphene oxide nanosheets by ultraviolet irradiation for highly efficient anti-bacterials*, Nanotechnology, 24, 2013, 395706-395717.

A. ROMISZEWSKA, A. BOMBALSKA

Antibacterial properties of graphene and its derivatives

Abstract: The work presents a literature review on the use of graphene and its derivatives as the potential protection against bacterial microflora. Addressed issues relate to an attempt to explain the mechanisms of impact of graphene and its derivatives: graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (rGO) on the bacterial cells. Interaction of graphene materials (G, GO, rGO) with Gram(+) and Gram(-) were compared with regard to the concentration of the preparations, the nature of the culture medium and surface of graphene deposition. Issues related to the development of reactive oxygen species (ROS) were discussed, the effect of sharp edges of GM's (nano-knife), biofilm formation and the potential application of graphene in nanomedicine.

Keywords: biomedicine, graphene, graphene oxide antibacterial effect, biofilm

DOI: 10.5604/01.3001.0013.9731