

Superparamagnetyczne nanocząstki tlenku żelaza modyfikowane chitozanem: projektowanie, wytwarzanie, opis i działanie przeciwbakteryjne

Ali SHRIFIAN-ESFAHNI, Mohammad Taghi SALEHI*, Mojtaba NASR-ESFAHNI, Ehsan EKRAMIAN – Katedra Chemii, Oddział w Nadżafabadzie, Wolny Uniwersytet Islamski (Islamic Azad University), Iran

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2015, 69, 1, 19–32

Wprowadzenie

Kompozyty, to układy wielofazowe, w których o właściwościach makroskopowych decydują oddziaływania międzyfazowe. Zainteresowanie tymi materiałami wzrosło w ostatnim czasie z uwagi na fazę rozproszoną, utworzoną przez nanocząstki metali lub tlenków metali w osnowie, która może być amorficzna lub krystaliczna. Układy te, zwykle określane terminem nanokompozyty (NC), zyskują na zainteresowaniu ze względu na oddziaływania fizyczne w heteropojęzaniach dwóch faz, które mogą decydować o lepszych właściwościach fizycznych i mechanicznych [1].

Chitozan (CTS) otwiera nowe obiecujące pola badań jako cenna naturalna osnowa polimerowa ze względu na jego doskonałe właściwości chemiczne i biologiczne. Jest to polimer kationowy hydrofilowy, który jest również nietoksyczny, biokompatybilny, biodegradowalny, biochłonny i ma właściwości przeciwbakteryjne [2, 3] przez co stał się w ostatnich latach popularnym materiałem w zastosowaniach medycznych, ale dopiero niedawno stosowany jest w połączeniu z nanocząstkami magnetycznymi [4]. Chitozan jest słabą zasadą nierozpuszczalną w wodzie, ale rozpuszczalną w rozcieńczonych kwaśnych roztworach wodnych poniżej swojego pK_a ($\sim 6,3$), kiedy to grupy ($-NH_2$) mogą być przekształcone w protonowaną postać rozpuszczalną ($-NH_3^+$) [5]. Film chitozanu uważany jest za materiał biofunkcyjny, dobrze tolerowany przez żywe tkanki, stosowany w szczególności jako jadalna osłonka do żywności przedłużająca jej przydatność do spożycia i utrzymująca jej jakość [6]. W medycynie film chitozanu testowano jako opatrunek leczniczy na rany i jako szkielety w inżynierii tkanek i kości [7]. Chitozan badano w różnych postaciach (roztwory, filmy i kompozyty) jako materiał przeciwmikrobiologiczny działający na szerokie spektrum organizmów docelowych, takich jak glony, bakterie, drożdże i inne grzyby mikroskopowe w doświadczeniach *in vivo* i *in vitro*. Pierwsze badania nad potencjałem antymikrobiologicznym chitozanu i jego pochodnych przeprowadzono w latach 80. i 90. ubiegłego wieku [8]. Właściwości antymikrobiologiczne chitozanu różnią się w zależności od próbki materiału włóknistego. Chitozan wchłaniany jest przez włóknistą strukturę celulozy/białka z powodu oddziaływań jonowych między ładunkami ujemnymi i protonowanymi grupami aminowymi chitozanu ($-NH_3^+$), wiązań wodorowych i sił van der Waalsa. Jednak jego powinowactwo można ogólnie określić jako słabe. W związku z tym jego działanie antymikrobiologiczne jest słabe, gdy stosowany jest samodzielnie [9–11]. Chitozan oddziałuje łatwo na bakterie i wiąże się z DNA, glikozaminoglikanami i większością białek, przez co wzmacnia efekt antymikrobiologiczny nanocząstek [12].

Nanocząstki (NP) tlenków metali wykazują wybitne właściwości elektryczne, optyczne, magnetyczne itd., których nie mają w postaci tradycyjnej [13]. Nanocząstki magneytu wykazują wiele ciekawych i wyjątkowych właściwości. Stosowano je w różnych dziedzinach,

takich jak kataliza, fotomagnetyzm, magnetooptyka, czujniki, przechowywanie danych, drukarki atramentowe, urządzenia częstotliwości wysokiej i radiowej, hypotermia, systemy dostarczania leków, obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI), diagnostyka medyczna i leczenie raka. Magnetyczne nanocząstki zbudowane z magneytu (Fe_3O_4) mają wyjątkowe właściwości czyniące z nich obiecujące środki do zastosowań przeciwbakteryjnych [14], tym bardziej, że amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration) uznała, że superparamagnetyczne nanocząstki tlenku żelaza (SPIONP) są biokompatybilne (BC) z ludzkim ciałem [15]. Doprowadziło to do szybkiego wzrostu liczby publikacji naukowych poświęconych opracowywaniu metod sporządzania jednorodnych i stabilnych wodnych zawiesin Fe_3O_4 i bliższemu poznaniu ich właściwości. Fascynujące właściwości nanomagneytów zależą silnie od wielkości i kształtu nanocząstek, ich oddziaływaniu ze stabilizatorami, czynnikami otaczającymi, a także od sposobu ich otrzymywania [16]. Ciekawe jest, że tylko cząstki magneytu o wielkości poniżej 30 nm mają dużą powierzchnię i wykazują właściwości superparamagnetyczne, które czynią je podatnymi na działanie pól magnetycznych i powodują, że nie ulegają trwałoemu namagnesowaniu bez zewnętrznego pola magnetycznego. Z tego względu kontrolowana synteza nanokryształów stanowi kluczowe wyzwanie na drodze do uzyskania lepszych właściwości. Spośród kilku opracowanych eksperymentalnych dróg syntezy nanocząstek tlenków żelaza [17], niektóre wymagają stosowania rozpuszczalników organicznych i wysokich temperatur – warunków, które są niezgodne z hydrofilowym charakterem i właściwościami termicznymi większości naturalnych polisacharydów. W związku z tym wspomagane polisacharydami otrzymywanie SPIONP realizowane jest przeważnie na drodze chemicznej wymagającej łagodnych warunków, takiej jak metoda współstrącania. Metoda ta polega zasadniczo na współstrącaniu stechiometrycznej mieszaniny soli żelazowych i żelazawych w środowisku wodnym w warunkach zasadowych i przy braku dostępu tlenu [18]. Dlatego od niedawna współstrącanie z roztworu mieszanych soli żelazowych/żelazawych w środowisku alkalicznym stało się szeroko stosowane do otrzymywania SPIONP [19]. Wielkość i kształt nanocząstek można kontrolować za pomocą regulacji pH, mocy jonowej, temperatury i rodzaju soli [20, 21]. W kontrolowaniu wielkości nanocząstek może pomagać dodatek organicznych anionów chelatujących lub polimerycznych środków kompleksujących w czasie formowania magneytu [22]. Zatem dodatki odgrywają zasadniczą rolę w zabezpieczeniu zsyntezowanych cząstek przed nagłą flokulacją, hamując aglomerację cząstek [23]. Te nanocząstki ulegają aglomeracji wskutek dużej powierzchni właściwej, energii powierzchniowej i magnetyzacji. Jedną z najlepszych strategii ograniczania aglomeracji cząstek i poprawy rozkładu wielkości i morfologii nanocząstek, jest pokrywanie magnetytowych nanocząstek środkiem powierzchniowo czynnym, takim jak chitozan. Chitozan o dużej zawartości grup aminowych ($-NH_2$) może tworzyć kompleksy z metalami, udostępniając powierzchnię do łączenia się z magnetycznymi nanocząstkami [24]. Magnetyczne nanocząstki o średniej średnicy od 14 nm [25] do 30 nm [26] pokryte chitozanem otrzymano na drodze współstrącania.

Autor do korespondencji:

Mohammad Taghi SALEHI, e-mail: mohammadtaghi_salehi@yahoo.com

Pojawienie się w ostatnim dziesięcioleciu oporności i wielooporności na substancje antymikrobiologiczne wzmogło zainteresowanie w poszukiwaniu nowych środków antymikrobiologicznych i opracowywaniu nowych strategii leczenia chorób zakaźnych [27]. Co za tym idzie, wzrosło w ostatnich latach zainteresowanie poszukiwaniem środków alternatywnych wobec antybiotyków [28, 29]. Konieczne jest zatem znalezienie alternatywnej terapii zakażenia mikrobiologicznego bez użycia antybiotyków, skierowanej na ognisko infekcji, zlokalizowanej i utrudniającej bakteriom uzyskanie oporności [30]. Podążając w tym kierunku, niektórzy badacze postawili hipotezę, że indywidualne chemiczne zawierające aktywny tlen (ROS) wytwarzane przez nanocząstki Fe_3O_4 mogłyby zabijać bakterie bez uszkodzenia komórek niebakteryjnych [31]. W szczególności Pareta i wsp. hodowali osteoblasty (komórki kościotwórcze) z nanocząstkami tlenku żelaza (IONP) o stężeniu 4,25 mg/ml i stwierdzili, że gęstość komórek wzrastała w obecności IONP [32].

Spośród bakterii Gram-ujemnych *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) i *Escherichia coli* (*E. coli*) najczęściej uczestniczą w infekcjach spowodowanych wytworzeniem biofilmu. Infekcje z występowaniem biofilmu charakteryzują się większą opornością – w porównaniu z komórkami planktonicznymi – na antybiotyki i środki odkażające, jak i na fagocytozę i inne elementy układu odpornościowego człowieka [33]. *P. aeruginosa* stanowi podstawowy czynnik wywołujący zakażenia szpitalne i odpowiada za 10% zakażeń wewnątrzszpitalnych [34]. Jest on również najpospolitszym źródłem zakażeń ran oparzeniowych [35]. *E. coli* to ważny patogen wywołujący 80 do 90% pozaszpitalnych zakażeń dróg moczowych (UTI) i ponad 30% UTI szpitalnych [36 ÷ 38].

W niniejszej pracy opisano uniwersalną, skuteczną i jednoetapową technikę otrzymywania dokładnie zdyspergowanych zawiesin wodnych koloidów superparamagnetycznych tlenków żelaza (SPIO) metodą współstrącania. CTS pełni rolę środka zabezpieczającego i matrycującego i umożliwia otrzymywanie biokompatybilnych nanokompozytów SPIO/CTS (SPIO/CTS BCNC) bez stosowania środków powierzchniowo czynnych. Ta ścieżka syntezy jest ekologiczna ze względu na stosowanie chemikaliów nietoksycznych i brak obróbki termicznej. SPIO/CTS BCNC mogą występować w postaci bardzo stabilnej dyspersji wodnej i wykazują doskonałą aktywność przeciwbakteryjną w stosunku do bakterii Gram-ujemnych *P. aeruginosa* i *E. coli*, więc SPIO/CTS BCNC stosowany jest jako powłoka odporna na bakterie i ochrona przeciwbakteryjna do urządzeń biomedycznych.

Część doświadczalna

Materiały

Wszystkie stosowane w pracy odczynniki były czystości analitycznej i używane w stanie otrzymanym bez dodatkowego oczyszczania. Do sporządzenia SPIO/CTS BCNC używano następujących materiałów: CTS (Aldrich, niska m.c.z., lepkość Brookfielda 20 cPs), $FeCl_2 \cdot 4H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, kwas octowy cz., wodorotlenek amonu roztwór 25% (Merck) i wodorotlenek tetrametyloammonowy (TMAOH) 25% roztwór wodny (Aldrich). Stosowano podwójnie destylowaną wodę (woda DD) po usuwaniu tlenu azotem przez 10 min.

Otrzymywanie SPIO/CTS BCNC

W typowej procedurze określoną ilość CTS rozpuszczano w 100 ml 1% roztworu kwasu octowego, następnie zmieszano 17,4 ml tego roztworu, 0,2 ml 1 M $FeCl_2$ i 0,4 ml 1 M $FeCl_3$ uzyskując roztwór chlorków żelaza o stężeniu CTS 0,05%(w/v). Mieszaninę mieszano energicznie strumieniem pęcherzyków N_2 wprowadzanych przez pipetę w temperaturze pokojowej. Utrzymywano pH mieszaniny równe 6,9 wkraplając z biurety roztwór 0,8M wodorotlenku amonu. Powolne dodawanie ma zasadnicze znaczenie przy otrzymywaniu jednolitej, czarnej, stabilnej wodnej zawiesiny koloidalnej. Otrzymany produkt odwirowano kilkakrotnie z wody DD, a następnie z etanolu i suszono pod próżnią w 70°C. Z SPIO/CTS BCNC w postaci stałej można łatwo

uzyskać zawiesinę w wodzie DD do badania właściwości. Tę samą procedurę zastosowano dodając TMAOH ($(CH_3)_4NOH$) zamiast CTS jako środek powierzchniowo czynny w celu uzyskania nieopłaszczonego SPIO/CTS, oczyszczano tak jak wyżej i wzięto do badań antybakteryjnych do porównania.

Testy przeciwbakteryjne

Działanie przeciwbakteryjne sprawdzono wobec dwóch patogenicznych szczepów bakterii Gram-ujemnych *P. aeruginosa* (ATCC 27853) i *E. coli* (ATCC 25922). Każdy z dwóch patogenicznych szczepów bakterii zaszczerpiono na pożywcę – agarze Mueller Hinton (MH) o pH równym 7,3, na którym dobrze się rozmnażały. Hodowlę inkubowano przez 24 h w 37°C. Następnie sporządzono próbkę wzorcową zawiesiny nr 0.5 McFarland Standard, która jest równoważna $1,5 \times 10^8$ CFU.ml⁻¹. Zastosowano standardową mikrometodę rozcieńczania przy wykonywaniu testów działania przeciwbakteryjnego na płytkach z MH zgodnie z poprzednim raportem [1].

Dyspersje wodne SPIO lub SPIO/CTS BCNC o różnych stężeniach otrzymano z wyjściowych roztworów koloidalnych magnezytu lub magnezytu i CTS. Dla uzyskania jednorodnego rozkładu pożywkę MH ogrzano do 50°C. Następnie przeniesiono po 10 ml każdego z roztworów SPIO lub SPIO/CTS BCNC na płytki Petriego zawierające 25 ml pożywki MH. Całkowita objętość na każdej płytce Petriego wynosiła 35 ml, a mieszany roztwór zestałał się pod wpływem MH po 15 min. Następnie pobierano pipetą 100 μ l zawiesiny bakterii i rozprowadzano na powierzchni pożywki MH zawierającej SPIO lub SPIO/CTS BCNC. Płytki Petriego umieszczano na 24 h w inkubatorze z funkcją wytrząsania (150 obr/min) w temp. 37°C. Porównywano wyniki rozwoju bakterii na płytkach z MH z i bez SPIO lub SPIO/CTS BCNC. W celu ilościowego oznaczenia aktywności przeciwbakteryjnej SPIO i SPIO/CTS BCNC dokonano obliczenia liczby CFU uzyskanych po dodaniu zawiesiny bakterii o mniejszym stężeniu (103 lub 104 CFU) na pożywcę MH zmieszanej z koloidami SPIO i SPIO/CTS BCNC o różnych stężeniach. Badano również próbkę kontrolną w celu porównania. Wszystkie doświadczenia wykonywano po trzy razy w warunkach jałowych. Procentowe zmniejszenie liczby komórek bakteryjnych do ilościowej oceny aktywności przeciwbakteryjnej obliczano jako:

$$R = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

gdzie: R oznacza procentowe zmniejszenie liczby kolonii; A – liczbę kolonii bakterii na płytkach Petriego bez SPIO lub SPIO/CTS BCNC; B – liczbę kolonii bakterii na płytkach Petriego z SPIO lub SPIO/CTS BCNC.

Działanie przeciwbakteryjne in vitro próbek stałych oceniano metodą dyfuzyjno-krażkową stosując MH i określano średnicę strefy inhibicji w milimetrach, zgodnie z normami zalecanymi przez Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST). Oznaczano krawędzie stref jako punkty, w których nie stwierdzano wzrostu bakterii patrząc na spód płytki na ciemnym tle oświetlonym światłem odbitym [39]. Przeanalizowano działanie przeciwbakteryjne cienkich filmów SPIO i SPIO/CTS BCNC wobec bakterii *P. aeruginosa* (ATCC 27853) i *E. coli* (ATCC 25922). W celu odtworzenia zliofilizowanej kultury przeniesiono ją aseptycznie w plastikowej fiolce do probówki zawierającej 5 ml bulionu odżywczego i wstawiano do inkubatora w 37°C na 24 godziny w przypadku bakterii i w 25°C na 72 godziny w przypadku cienkich filmów. Wyjściowe stężenie hodowli dpowiadało próbce zawiesiny McFarland Standard nr 0.5 dla każdej z bakterii, co oznaczano za pomocą testu z płytką ze stałym agarem. Płytki celulozowe (krażki o średnicy 6 mm) pokryte cienkimi filmami CTS, SPIO i SPIO/CTS BCNC wyjaławiano przez zanurzenie w etanolu przez 15 minut i umieszczano na powierzchni MH zaszczerpionego 1,0 ml hodowli mikroorganizmów. Płytki utrzy-

mywano w 37°C przez 24 godziny. Średnice strefy inhibicji próbek filmu używano do określenia działania przeciwmikrobiologicznego każdej próbki filmu biorąc średnią z trzech oznaczeń. W tym badaniu do porównania brano krążek ze standardowym antybiotykiem cyprofloksacyną (CIP) umieszczoną na powierzchni MH.

Metody badania właściwości

Rozwój bakterii na płytkach z MH z CTS, z samym SPIO i z SPIO/CTS BCNC o różnych stężeniach kontrolowano za pomocą mikroskopu Olympus CX 31. Spektrogramy fourierowskie w podczerwieni (FTIR) uzyskano za pomocą aparatu BOMEM MB-Series w zakresie od 400 cm⁻¹ do 4000 cm⁻¹ w temperaturze pokojowej. Próbkę sporządzono umieszczając kroplę wodnego koloidalnego roztworu magnetytu na KBr, który suszono w temperaturze pokojowej.

Do określenia średniej wielkości cząstek i morfologii proszku nanokompozytu używano skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) LEO-435-VP SEM pracującego przy napięciu przyspieszającym 18 kV. Badanie mikroskopią elektronową transmisyjną (TEM) w celu obserwacji morfologii i analizy wielkości cząstek Fe₃O₄ w NC przeprowadzono za pomocą aparatu Philips CM10 przy napięciu 100 kV. Średnią wielkość cząstek dyspersji koloidalnych magnetytu oznaczono na podstawie analizy obrazów z TEM. Próbkę do badania TEM sporządzono umieszczając kroplę wodnego koloidalnego roztworu magnetytu na siatce miedzianej pokrytej węglem, którą suszono w temperaturze pokojowej. Obraz dyfrakcyjny promieni rentgenowskich (XRD) na powierzchni kryształów magnetytu uzyskano z filmów osadzonych na szkle, na które nałożono roztwór koloidalny magnetytu w zakresie 2θ 10-80° na aparacie Philips X'pert (promieniowanie Cu Kα (λ = 0,154 nm), 30 mA, 40 kV). Prędkość kątowania w temperaturze pokojowej 0,05 2θ.s⁻¹. Nanocząstki zawsze wykazują wysoką krystaliczność. Badano najsilniejsze piki Fe₃O₄/CTS BCNC odpowiadające płaszczyźnie (311) w celu oceny krystaliczności próbki. Średnią wielkość L nanokryształu oznaczono na podstawie rozszerzenia β najintensywniejszej linii w obrazie XRD. Wielkość obliczono dla nanokryształu z równania Scherrera:

$$L = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta}$$

gdzie: λ oznacza długość fali promieniowania; k = 0,90, a θ to kąt Bragga [40].

Właściwości magnetyczne wysuszonych nanocząstek określono za pomocą magnetometru ze zmiennym gradientem pola (AGFM, MDK Corporation) w temperaturze pokojowej.

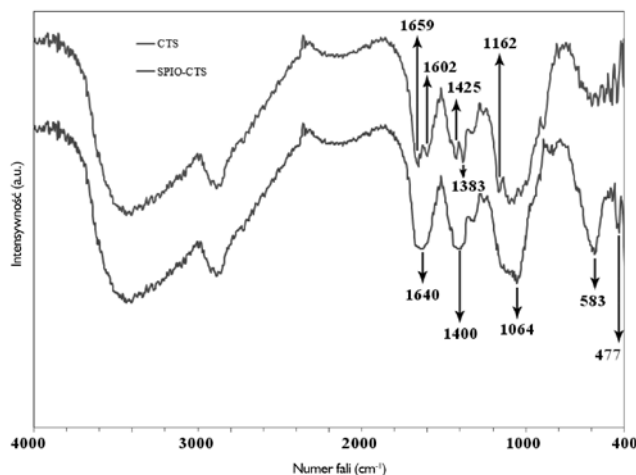
Wyniki i dyskusja

Analiza chemiczna FTIR

Widma FTIR CTS i SPIO/CTS BCNC przedstawiono na Rysunek 1. Widmo czystego CTS jasno wskazuje, że obserwowane piki absorpcji odpowiadają charakterystykom wiązań chemicznych występujących w CTS. Główne pasma pojawiające się w tym widmie pochodzą od drgań rozciągających grup OH w zakresie od 3750 cm⁻¹ do 3000 cm⁻¹, na które zachodzą pasma pochodzące od drgań rozciągających wiązań N-H i C-H odpowiednio w grupie -CH₂ (2922 cm⁻¹) i -CH₃ (2875 cm⁻¹) [41].

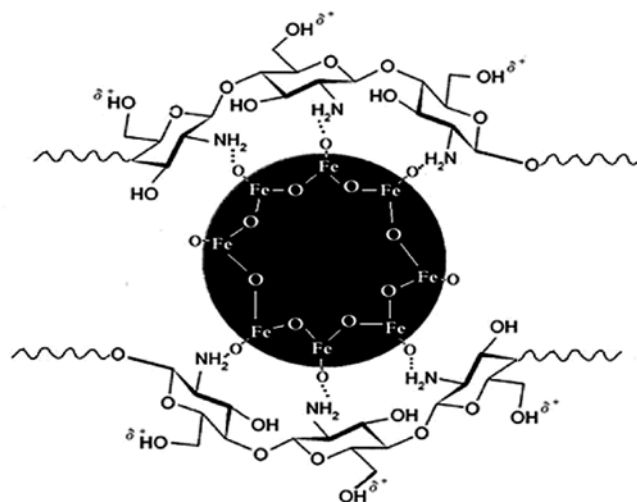
Charakterystyczne pasma absorpcyjne 1659 cm⁻¹ i 1602 cm⁻¹ pochodzą od absorpcji odpowiednio amidu I (asymetryczne drgania rozciągające grup karbonylowych amidu) i amidu II (drgania zginające w płaszczyźnie N-H w grupach amidowych) [42]. Widoczne były również drgania zginające grup metylenowych i metylowych odpowiednio przy 1383 cm⁻¹ i 1425 cm⁻¹[41]. Absorpcję w zakresie od 1160 cm⁻¹ do 1000 cm⁻¹ przypisano drganiom grupy CO [43], wyraźny pik 1162 cm⁻¹ jest w obszarze drgań rozciągających C-O-C grup eterowych i szkieletowych reszty glukozaminowej [44÷47]. Pasma

w okolicach 1080–1029 cm⁻¹ przypisuje się drganiom νCO pierścienia COH, COC i CH₂OH [48]. Mały pik ~890 cm⁻¹ odpowiada drganiom wachlarzowym struktury sacharydowej chitozanu [49, 50].



Rys. 1. Widma FTIR czystego CTS i SPIO/CTS BCNC

Jednak pasmo uległo przesunięciu z 1162 cm⁻¹ do 1064 cm⁻¹ w widmie nanocząstek SPIO/CTS. To samo dotyczy pasm 1383 cm⁻¹ i 1425 cm⁻¹ do 1400 cm⁻¹. Z drugiej strony absorpcja amidu w zakresie od 1650 cm⁻¹ do 1640 cm⁻¹ wzmocniła się w stosunku do widm czystego CTS. Wydaje się, że zjawiska te spowodowane są oddziaływaniami między atomem tlenu w nanocząstkach Fe₃O₄ i atomem wodoru w grupie aminowej CTS i utworzeniem silnego wiązania wodorowego, co jest przyczyną silniejszego pasma absorpcji amidu w widmach nanocząstek SPIO/CTS (Rys. 1). Należy zauważyć, że grupa hydroksylowa CTS nie związała się z nanocząstkami i nie spowodowała przesunięcia ani zmian, co widać na widmach CTS i nanocząstek SPIO/CTS. Z tego względu ładunek dodatni na atomie wodoru w polarnym wiązaniu ·O-H⁺ w CTS może być przyczyną występowania ładunku dodatniego na powierzchni nanocząstek [51]. Dzięki odpychaniu kulombowskiemu między dodatnio naładowanymi cząstkami w doświadczeniu utworzona została czarna stabilna wodna zawiesina koloidalna bez zastosowania jakiegokolwiek środka powierzchniowo czynnego. Rdzeń/otoczkę Fe₃O₄/chitozan i powstawanie wiązania wodorowego przedstawiono schematycznie na Rysunek 2.



Rys. 2. Schematyczne przedstawienie rdzenia/otoczki Fe₃O₄/chitozan i powstawania wiązania wodorowego. Wskazano niezwiązane grupy hydroksylowe obdarzone częściowo ładunkiem dodatnim otaczające nanocząstkę. Stabilny koloid utworzył się wskutek odpychania kulombowskiego między cząstkami. Dla uproszczenia nie pokazano N-acetylowanych grup aminowych chitozanu

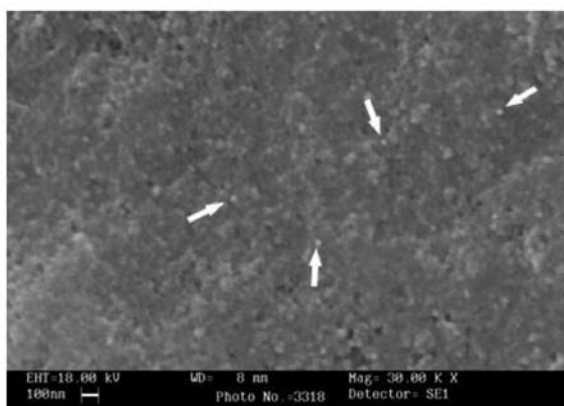
Y. Wang i wsp. wskazali, że główny pik 399,5 eV w widmie rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów kompozytu SPIO/CTS sporządzonego przez niego i współpracowników należy przypisać grupom aminowym uczestniczącym w wiązaniu wodorowym ($\text{NH}_2\text{-O}$) [52]. Dwa wyraźne piki absorpcyjne 583 i 477 cm^{-1} przypisuje się odpowiednio drganiom $\text{Fe}^{2+}\text{-O}^{2-}$ i $\text{Fe}^{3+}\text{-O}^{2-}$. Ostry i silny pik 583 cm^{-1} świadczy o wysokim stopniu krystaliczności nanocząstek Fe_3O_4 . Charakterystyczne pasma absorpcji potwierdzają zatem obecność struktury spinelowej Fe_3O_4 [53].

Morfologia Fe_3O_4 /CTS BCNC

Obrazy SEM

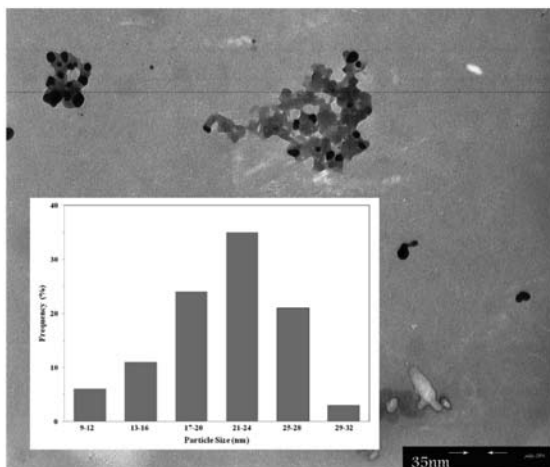
Mikrostrukturę i morfologię zsyntezowanych cząstek Fe_3O_4 zawartych w koloidalnym nanokompozycie badano za pomocą SEM (Rys. 3). Dalsza analiza obrazu SEM zsyntezowanych nanocząstek wykazała jednorodne nanocząstki Fe_3O_4 o dużej gęstości, prawie kuliste, o przeciętnej średnicy 22,0 nm, co jest zgodne z wynikami analiz XRD i TEM.

Obrazy TEM



Rys. 3. Typowe obrazy SEM zsyntezowanych nanocząstek SPIO/CTS. Niektóre z drobnych cząstek wskazano białymi strzałkami

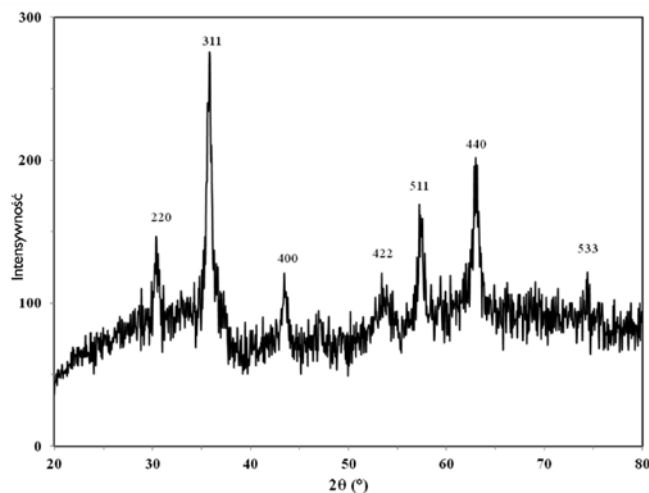
Mikrostrukturę cząstek Fe_3O_4 zawartych w koloidalnym nanokompozycie badano za pomocą TEM (Rys. 4). Nanocząstki Fe_3O_4 /CTS mają kształt prawie kulisty, co potwierdziły badania skaningowym mikroskopem elektronowym. Wszystkie nanocząstki były dobrze oddzielone od siebie, nie obserwowano aglomeracji, wykazywały strukturę odwróconego spinelu, czego potwierdzeniem są piki obecne w widmach XRD. Po zbadaniu fotomikrografii zmierzono rozkład średnic w zakresie 9–32 nm, przy średniej wartości 22,0 nm (odchylenie standardowe ok. 7,8 nm) średnicy cząstek nanokompozytów, jak pokazano we wstawce na Rysunku 4. Podczas przechowywania nie zaobserwowano agregacji ani wytrącania, co jest wynikiem odpychania elektrostatycznego dodatnio naładowanych nanocząstek.



Rys. 4. Typowa fotomikrografia elektronowa oraz (we wstawce) histogram rozkładu wielkości cząstek Fe_3O_4 /CTS BCNC

Analiza rentgenowska dyfrakcyjna

Inną ciekawą kwestią w syntezie nanocząstek jest ich charakter krystaliczny i najczęściej występujące układy krystalograficzne. Istotne jest również, by koloid zawierał głównie nanocząstki SPIO. Na Rysunku 5 pokazano obraz XRD cząstek SPIO/CTS BCNC. W dyfraktogramie jest siedem wyraźnych pików dyfrakcyjnych o wartościach 2θ równych 30,3°, 35,5°, 43,2°, 53,5°, 57°, 62,7° i 74,5°, które odpowiadają płaszczyznom krystalograficznym (220), (311), (400), (422), (511), (440) i (533) kryształu magnetytu o strukturze odwróconego spinelu.

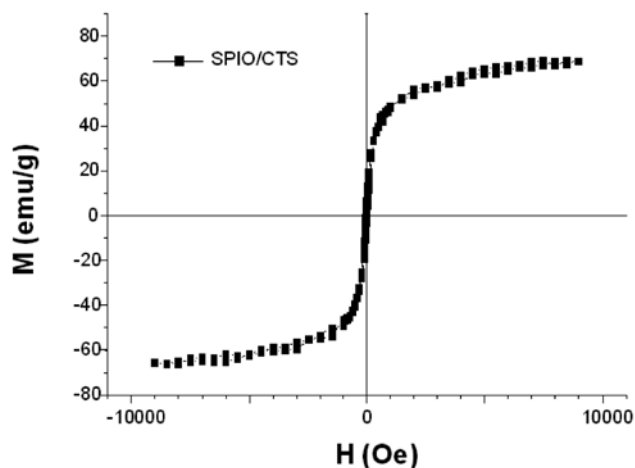


Rys. 5. Obraz XRD kryształitów SPIO/CTS

Odpowiadały one pikom dyfrakcyjnym czystego magnetytu (Fe_3O_4) z referencyjnej bazy danych (JCPDS File No. 19-629). Średnią wielkość kryształitu oszacowano na podstawie rozszerzenia linii dyfrakcyjnej (d_{311}) stosując równanie Scherrera. Średnia wielkość kryształitów Fe_3O_4 otrzymanych z nanokompozytu wynosiła 21 nm. Choć obliczenia ze wzoru Scherrera zwykle zaniżają rzeczywistą wielkość kryształitów, uzyskana wartość jest bardzo zbliżona do wyniku TEM, zatem każda cząstka powinna stanowić pojedynczy kryształ [54]. Stała sieciowa Fe_3O_4 wynosi 8,378, co jest bliskie wartości $a=8,384$ wzorca (JCPDS 75-0033). Obrazy XRD wskazują, że nanocząstki magnetytu są doskonale krystaliczne.

Wyniki pomiarów magnetycznych

Właściwości magnetyczne wysuszonych nanocząstek określono za pomocą magnetometru ze zmiennym gradientem pola (AGFM, MDK Corporation) w temperaturze pokojowej w zakresie pomiędzy -10k a 10kOe. Wyniki wyraźnie wskazują na zachowanie superparamagnetyczne nanocząstek (Rys. 6). Wartość nasycenia magnetycznego (M_s) zasadniczej fazy magnetytu wynosi ok. 90-92 emu/g [55, 56], ale tu wartość M_s wynosi 65 emu/g. Różnicę można najprawdopodobniej przypisać kilku czynnikom, w tym efektowi ostatecznej wielkości i wysokiemu stosunkowi powierzchni do objętości, efektowi odchylenia spinu na granicy ziaren, niepełnej krystalizacji cząstek magnetytu [57] i obecności materiałów powleczonych [58], które mogą prowadzić do obniżenia efektywnego momentu magnetycznego. Zgodnie z przewidywaniami, z powodu pokrycia CTS, nasycenie magnetyczne nanocząstek było mniejsze niż w przypadku fazy objętościowej magnetytu. Zgodnie z wynikami AGFM (Rys. 6), pomijalnie mała koercja nanocząstek SPIO wykazywała właściwości materiałów superparamagnetycznych. Wysoka magnetyzacja i właściwości superparamagnetyczne są bardzo pożądane w zastosowaniach biomedycznych, ponieważ większe cząstki magnetyczne tworzą agregaty po poddaniu działaniu pola magnetycznego [59].



Rys. 6. Krzywa namagnesowania nanocząstek SPIO/CTS na podstawie pomiarów AGFM w temperaturze pokojowej. Wyniki jasno wskazują na superparamagnetyczne właściwości nanocząstek

Wyniki badania działania przeciwbakteryjnego

W równoległych doświadczeniach zbadano działanie przeciwbakteryjne samych cząstek SPIO i SPIO/CTS BCNC wobec wybranych gatunków bakterii. W celu oceny jakościowej działania przeciwbakteryjnego nanocząstek, zaszczepiono zawieszoną bakterii $1,5 \times 10^8$ CFU płytki z MH zawierające nanocząstki SPIO i SPIO/CTS BCNC w różnym stężeniu. Wyniki stanowią obserwacje bakterii hodowanych na płytkach MH po 24 godzinach przy różnych stężeniach nanocząstek SPIO i SPIO/CTS BCNC wynoszących 0, 75, 125, 175 i 225 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W próbce kontrolnej (0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ SPIO, 0,05% w/v CTS w 1% roztworze kwasu octowego) bakterie namnażały się łatwo, natomiast nie było widocznego rozwoju bakterii na płytkach z agarem po 24 godzinach przy różnych stężeniach nanocząstek SPIO i SPIO/CTS BCNC. W dalszych doświadczeniach określono minimalne stężenie hamujące (MIC) nanocząstek SPIO wobec *P. aeruginosa* i *E. coli* na odpowiednio 70 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i 90 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, a SPIO/CTS BCNC wobec *P. aeruginosa* i *E. coli* odpowiednio 40 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i 45 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W naszych doświadczeniach wartość MIC dla próbki kontrolnej wyniosła 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (CTS, 0,1% w/v) dla *E. coli* [60 ÷ 62] i 1700 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (CTS, 0,17% w/v) dla *P. aeruginosa* [61]. Jak wspomniano wcześniej, działanie antimikrobiologiczne CTS jest słabe, gdy stosowany jest on samodzielnie [9 ÷ 11].

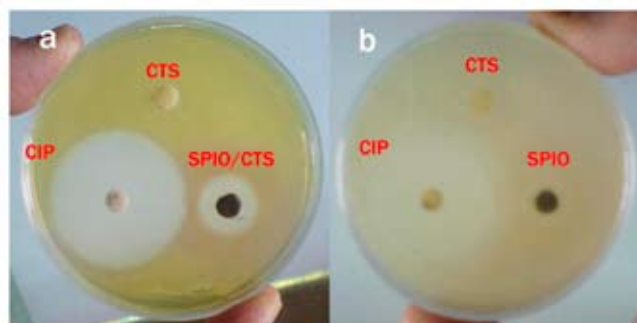
Mechanizm hamowania rozwoju bakterii przez CTS polega na tym, że naładowane dodatnio grupy aminowe mogą łączyć się z elementami anionowymi, takimi jak kwas N-acetylmuraminowy, kwas sialowy czy kwas neuraminowy, na powierzchni komórki i utrudniać wymianę z medium chelatujących jonów metali przejściowych, a także wpływać na inhibicję enzymów [61].

Jak wspomniano wyżej, gdy zawartość magnetytu w nanokompozycie była równa 40 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i 45 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ odpowiednio dla *P. aeruginosa* i *E. coli*, to obserwowano całkowite zahamowanie rozwoju bakterii. Przy tych i wyższych stężeniach nie stwierdzano widocznego rozwoju bakterii. Wyniki te wykazały, że optymalne warunki dla skutecznego hamowania rozwoju bakterii występowały przy stężeniach SPIO/CTS BCNC równych 40 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i 45 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ odpowiednio dla *P. aeruginosa* i *E. coli*. Ciekawe jest to, że stężenie koloidu Fe_3O_4 wystarczające do zahamowania rozwoju bakterii w naszej pracy jest zauważalnie niższe od podawanego w raportach innych badaczy [63 ÷ 66].

Ten podwyższony potencjał przeciwbakteryjny prawdopodobnie spowodowany jest większą stabilnością naszego SPIO/CTS BCNC w środowisku wodnym wynikającą z ochrony przeciw agregacji, jaką CTS daje nanocząstkom SPIO. Doskonałe działanie przeciwbakteryjne w stosunku do zastosowanych gatunków bakterii, nawet przy niskim stężeniu Fe_3O_4 , obserwowane w otrzymanych roztworach koloidalnych SPIO/CTS BCNC, czyni te ostatnie idealnymi do nowych ekonomicznych zastosowań przemysłowych o długotrwałym działaniu. Stwier-

dzo silne działanie przeciwbakteryjne roztworów koloidalnych Fe_3O_4 /CTS BCNC wobec bakterii Gram-ujemnych *P. aeruginosa* i *E. coli* na płytkach z MH po 24 h przy różnych stężeniach nanocząstek magnetytu. Zatem SPIO/CTS BCNC mogłyby być odpowiednie do zastosowań antimikrobiologicznych i do urządzeń biomedycznych.

Na podstawie wyników testów dyfuzyjno-krążkowych na agarze stwierdzono, że wszystkie filmy SPIO/CTS BCNC i nanocząstek SPIO wykazują istotne działanie hamujące wobec *P. aeruginosa* (ATCC 27853) i *E. coli* (ATCC 25922). Na Rysunku 7 przedstawiono porównanie wyników testów średnicy strefy hamowania dla CIP (5 $\mu\text{g}\cdot\text{dysk}^{-1}$) jako antybiotyku standardowego, CTS (0,05 %mas.) jako próbki kontrolnej, SPIO/CTS BCNC i nanocząstek SPIO o zawartości 116 $\mu\text{g}\cdot\text{Fe}_3\text{O}_4\cdot\text{dysk}^{-1}$ na płytce z MH przeciw bakterii *P. aeruginosa*. Średnice utworzonych stref hamowania w próbkach wyniosły średnio 16 ± 1 mm i 12 ± 1 mm odpowiednio w przypadku *P. aeruginosa* i *E. coli* wskazując na przeciwbakteryjne działanie SPIO/CTS BCNC. Dla nanocząstek SPIO otrzymano wyniki 13 ± 1 mm i 10 ± 1 mm wobec odpowiednio *P. aeruginosa*, i *E. coli*. Istotne jest, że skuteczność przeciwbakteryjna filmów SPIO/CTS BCNC wskazuje, że SPIO/CTS BCNC są odpowiedzialne za działanie przeciwbakteryjne w nanokompozycie polimerowym, i że działanie to jest silne. Podobnej średnicy strefy hamowania nie stwierdzono na filmie CTS (0,05%, to jest poniżej wartości MIC) jako próbce kontrolnej wobec którejkolwiek bakterii. Jak wspomniano testy kontrolne przeprowadzono dla porównania również w obecności znanych antybiotyków standardowych (CIP) (Rys. 7). Uzyskane wyniki zestawiono w Tablicy I.



Rys. 7. Porównanie wyników testów średnicy strefy hamowania dla (a) CIP (5 $\mu\text{g}\cdot\text{dysk}^{-1}$), CTS (0,05 %mas.) i SPIO/CTS BCNC o zawartości 116 $\mu\text{g}\cdot\text{Fe}_3\text{O}_4\cdot\text{dysk}^{-1}$ na płytce z MH przeciw bakterii *P. aeruginosa* oraz (b) CIP (5 $\mu\text{g}\cdot\text{dysk}^{-1}$), CTS (0,05 %mas.) i samego SPIO o zawartości 116 $\mu\text{g}\cdot\text{Fe}_3\text{O}_4\cdot\text{dysk}^{-1}$ na płytce z MH przeciw bakterii *P. aeruginosa*

Tablica I

Średnia wartość średnicy strefy hamowania (w mm) samego Fe_3O_4 oraz Fe_3O_4 /CTS BCNC wobec *P. aeruginosa* i *E. coli*

Szczep	Próbka kontrolna (roztwór 0,05%CTS)	Fe_3O_4 (116 $\mu\text{g}\cdot\text{Fe}_3\text{O}_4\cdot\text{dysk}^{-1}$)	Fe_3O_4 /CTS (116 $\mu\text{g}\cdot\text{Fe}_3\text{O}_4\cdot\text{dysk}^{-1}$)	Antybiotyki standardowe (5 $\mu\text{g}\cdot\text{CIP}\cdot\text{dysk}^{-1}$)
<i>P. aeruginosa</i>	0	13 ± 1	16 ± 1	36 ± 1
<i>E. coli</i>	0	10 ± 1	12 ± 1	36 ± 1

Jest kilka czynników, które powodują bakteriobójczość badanych obecnie nanocząstek SPIO. Główny mechanizm, według którego działają leki antybakteryjne i antybiotyki, to stres oksydacyjny wywołany przez ROS [67]. ROS, w tym rodniki nadtlenkowe (O_2^-), rodniki hydroksylowe (OH), nadtlenek wodoru (H_2O_2) i tlen singletowy ($^1\text{O}_2$), mogą uszkadzać białka i DNA w bakteriach [68]. Park i wsp.

również wykazali działanie przeciwbakteryjne srebra spowodowane wytwarzaniem ROS [69]. W tym przypadku tlenek metalu Fe_3O_4 mógł być źródłem generującym ROS i przez to hamującym rozwój *P. aeruginosa* i *E. coli*. Podobny proces opisali Keenan i wsp., gdzie Fe^{2+} reagował z tlenem tworząc nadtlenek wodoru [70]. Powstały H_2O_2 następnie reagował z jonami żelazowymi w reakcji Fentona tworząc rodniki hydroksylowe, które uszkadzają makrocząsteczki biologiczne [56,71]. W innych badaniach pokazano, że małe rozmiary nanocząstek mogą również przyczynić się do efektu bakteriobójczego. Na przykład Lee i wsp. donieśli, że inaktywacja *E. coli* przez nanocząstki żelaza o zerowej wartościowości [72] mogła być wynikiem penetracji małych cząstek o rozmiarach 10–80 nm w błony *E. coli*. Nano- FeO mogło następnie reagować z tlenem międzykomórkowym prowadząc do stresu oksydacyjnego i ostatecznie powodując rozerwanie błony komórkowej. Jednak stosowanie nano- FeO ograniczać będzie obniżenie jego działania bakteriobójczego wskutek korozji oksydacyjnej [72]. W kilku innych badaniach nad nanocząstkami ZnO i MgO stwierdzono, że działanie przeciwbakteryjne wzrastało wraz ze zmniejszaniem się wielkości cząstek [56,73 ÷ 75].

Wnioski

Opracowano jednonacyniową metodę współstrącania do wytwarzania stabilnej wodnej zawiesiny zdyspergowanych nanostruktur Fe_3O_4 typu rdzeń-otoczka o silnym działaniu przeciwbakteryjnym i właściwościach superparamagnetycznych w obecności CTS o małej masie cząsteczkowej jako środka zabezpieczającego i matrycującego w temperaturze pokojowej. Wykazano możliwość efektywnego zwiększania skali bezpośredniego przetwarzania i produkcji dzięki sporządzonym kompozytowym nanocząstkom CTS o małej masie cząsteczkowej może skutecznie i długotrwale chronić nanocząstki przed agregacją w rezultacie elektrostatycznego odpychania dodatnio naładowanych nanocząstek. Efekt działania nanokompozytów był szczególnie widoczny wobec szczepów Gram-ujemnych. To wzmożone działanie przeciwbakteryjne wynika z większej stabilności nanokompozytu jako koloidu i zatrzymywania rozwoju bakterii. Chitozan oddziałuje łatwo na bakterie i wiąże się z DNA, glikozaminoglikanami i większością białek, przez co wzmacnia efekt antymikrobiologiczny nanocząstek. Stężenie Fe_3O_4 , przy którym następuje całkowite zahamowanie rozwoju bakterii wyniosło tylko $40 \mu g \cdot ml^{-1}$ dla *P. aeruginosa* i $45 \mu g \cdot ml^{-1}$ dla *E. coli* i było znacznie niższe od podawanego w raportach innych badaczy. Istotne jest, że skuteczność przeciwbakteryjna filmów SPIO/CTS BCNC wskazuje, że SPIO/CTS BCNC są odpowiedzialne za działanie przeciwbakteryjne w nanokompozycie polimerowym i że działanie to jest silne. Powyższe zalety wodnych dyspersji nanocząstek magnetytu czynią je przydatnymi do zastosowań przemysłowych, medycznych i do opracowywania nowatorskich środków antymikrobiologicznych. Środki te mogą znaleźć zastosowanie w antymikrobiologicznych materiałach opakowaniowych i środkach opatrunkowych. Z drugiej strony właściwości magnetyczne tych nanostruktur wykorzystano do ich skutecznego wyodrębnienia z medium za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego i zapobieżenia skażeniu środowiska naturalnego przy usuwaniu odpadów.

Autorzy pragną podziękować Oddziałowi Wolnego Uniwersytetu Islamskiego w Nadzafabadzie za wsparcie finansowe niniejszej pracy.

Literatura

- Shrifian-Esfahani A., Salehi M.T., Nasr-Esfahani M., Ekramian E., Nanosci J.: Nanotechnol. 2012, **12**, 4851.
- Zhao L., Mitomo H., Zhai M., Yushii F., Nagasawa N., Kume T.: Carbohydrate Polym. 2003, **53**, 439.
- Kumar M., Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J.: Chemical Reviews 2004, **104**, 6017.
- Kim E.H., Ahn Y., Lee H.S.: Journal of Alloys and Compounds 2007, **434**, 633.
- Rejane C.G., Douglas B., Odilio B.G.A.: Polimeros, Ciência e Tecnologia 2009, **19**, 241.
- Assis O.B.G., Pessoa J.D.C.: Braz. J. Food Technol. 2004, **7**, 17.
- Liu G.F., Guan Y.L., Yang D.Z., Li Z., Yao K.D.: J. Appl. Polymer Sci. 2001, **79**, 1324.
- Chen C.S., Liao W.Y., Tsai G.J.: J. Food Prot 1998, **61**, 1124.
- Juntarapun K., Satirapathku C.: The 4th RMUTP International Conference: Textiles & Fashion. Bangkok Thailand. Section II 2012, 1.
- Muzzarelli A. A.: In natural chelating polymer. Pergamon Press Ltd., Hungary. 1973.
- Jovancic D., Jodic D., Molina R., Erra P.: Text. Res. J. 2001, **71**, 948.
- Vimala K., Mohan Y.M., Varaprasad K., Redd N.N., Ravindra S., Naidu N.S., Raju K.M., Biom J.: Nanobio. 2011, **2**, 55.
- Twu Y.K., Chen Y.W., Shih C.M.: Powder Technol. 2008, **185**, 251.
- Niemirowicz K., Markiewicz K.H., Wilczewska A.Z., Car H.: Advances in Medical Sciences 2012, **57**, 196.
- Lattuada M., Hatton T.A.: Langmuir 2007, **23**, 2158.
- Zhou Y.T., Nie H.L., Branford-White C., He Z.Y., Zhu L.M.: J. Colloid and Interface Science 2009, **330**, 29.
- Dave S.R., Gao X.: Nanomedicine and Nanobiotechnology 2009, **1**, 583.
- Ana L., Silva D., Tito T.: w Advances in Nanocomposite Technology. Edited A. Hashim, Publisher InTech 2011, s. 285.
- Ma M., Zhang Y., Yu W., A: Physicochem. Eng. Aspect. 2003, **212**, 219.
- Schwarzer H.C., Peukert W.: Chemical Engineering Communications 2004, **191**, 580.
- Jolivet J.P., Chanéac C., Tronc E.: Chem. Commun. 2004, **10**, 481.
- Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Vander L., Elst L.V., Muller R.N.: Chem. Reviews 2008, **108**, 2064.
- Lee J., Isobe T., Senna M.J.: Colloid & Interface Sci. 1996, **177**, 490.
- Park J.W., Park M.O., Park K.K.: Bull. Korean Chem. Soc. 1984, **5**, 108.
- Ge Y., Zhang Y., He S., Nie F., Teng G., Gu N.: Nanoscale Research Letters 2009, **4**, 287.
- Liu X., Hu Q., Fang Z., Zhang X., Zhang B.: Langmuir 2009, **25**, 3.
- Prasad S.K., Kumar S.L., Prasad M., Jayalakshmi B., Revanasiddappa H.D.: Biointerface Res. Appl. Chem. 2011, **1**, 127.
- Kaitanis C., Nath S., Perez J.M.: PLoS. ONE 2008, **3**, 3253.
- Taylor E.N., Webster T.J.: Int. J. Nanomedicine 2009, **4**, 145.
- Tran N., Mir A., Mallik D., Sinha A., Nayar S., Webster T.J.: International Journal of Nanomedicine 2010, **5**, 277.
- Touati D.: Arch. Biochem. Biophys. 2000, **373**, 1.
- Pareta R.A., Taylor E.N., Webster T.J.: Nanotechnology 2008, **19**, 265101.
- Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O.: International Journal of Antimicrobial Agents 2010, **35**, 322.
- Suarez C., Pena C., Tubau F., Gavalda L., Manzur A., Dominguez M.A., Pujol M., Gudiol F., Ariza J.: Journal of Infection. 2009, **58**, 285.
- Church D., Elsayed S., Reid O., Winston B., Lindsay R.: Clinical Microbiology Reviews. 2006, **19**, 403.
- Ferry S.A., Holm S.E., Stenlund H., Lundholm R., Monsen T.J.: Scandinavian Journal of Infectious Diseases 2004, **36**, 296-301.
- Kahlmeter G.: The ECO.SENS Project: Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2000, **46**, 15.
- Bouza E., San Juan R., Munoz P., Voss A., Kluytmans J.: Clinical Microbiology and Infections 2001, **7**, 523.
- In EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. European society of clinical microbiology and infectious diseases Reading guide 2013 Version 3, 3.
- Cullity B.D.: Elements of X-ray diffraction. Adison-Wesley, Reading MA 1978.
- Silva S. M. L., Braga C. R.C., Fook M. V. L., Raposo C. M.O., Carvalho L. H., Canedo E. L.: w Application of infrared spectroscopy to analysis of chitosan/clay nanocomposites. Infrared spectroscopy – materials science, engineering and technology. red. Theophanides Theophile, InTech, 2012.
- Montañez J. L. A.: Polysaccharide-based nanostructures for growth factor delivery and mesenchymal stem cell activation. Praca doktorska, Colorado State University 2011, 80.
- Xu Y., Kim K., Hanna M.: D. Nag. Industrial Crops and Products. 2005, **21**, 185.
- Kolhe P., Kannan R.M.: Biomacromolecules 2003, **4**, 173.

45. E. de Souza Costa-Junior, Pereira M.M., Mansur H.S., Mater J. Sci.: Mater. Med. 2009, **20**, 553.
46. Krishna Rao K.S.V., Vijaya Kumar Naidu B., Subha M.C.S., Sairam M., Aminabhavi T.M.: Carbohydrate Polymers 2006, **66**, 333.
47. Ramya R., Sudha P.N., Mahalakshmi J.: International Journal of Scientific and Research Publications 2012, **2**, 1.
48. Paluszkiwicz C., Stodolak E., Hasik M., Blazewicz M.: Spectrochimica Acta Part A. 2011, **79**, 784.
49. Darder M., Colilla M., Ruiz-Hitzky E.: Applied Clay Science 2005, **28**, 199.
50. Yuan Q., Shah J., Hein S., Misra R.D.K.: Acta Biomaterialia 2010, **6**, 1140.
51. Hong S., Chang Y., Rhee I.: Journal of the Korean Physical Society 2010, **56**, 868.
52. Wang Y., Li B., Zhou Y., Jia D.: Nanoscale Res. Lett. 2009, **4**, 1041.
53. Ahmad S., Riaz U., Kaushik A., Alam J., J. Inorg. Organomet. Polym. 2009, **19**, 355.
54. Carotenuto G.: Appl. Organometal. Chem. 2001, **15**, 344.
55. Wang B., Wei Q., Qu S.: Int. J. Electrochem. Sci. 2013, **8**, 3786.
56. Tran N., Mir A., Mallik D., Sinha A., Nayar S., Webster T.J.: International Journal of Nanomedicine 2005, **5**, 277.
57. Mandal M., Kundu S., Ghosh S.K., Panigrahi S., Sau T.K., Yusuf S.M., Pal T.: J. Colloid Interface Sci. 2005, **286**, 187.
58. Yuqing G.Y., Shiyang H., Fang N., Gaojun T., Ning G.: Nanoscale Res. Lett. 2009, **4**, 287.
59. Berry C.C., Curtis A.S.G.: J. Phys. D. Appl. Phys. 2003, **36**, 198.
60. No H.K., Park N.Y., Lee S.H., Meyers S.P.: Int. J. Food Microbiol. 2002, **74**, 65.
61. Balicka-Ramisz A., Wojtasz-Pajak B., Pilarczyk A., Ramisz L.L.: w Proceedings of 5th international conference on chitin and chitosan. Warsaw 2005, 406.
62. Fernandes J.C., Tavaría F.K., Soares J.C., Ramos O.S., Monteiro M.J., Pintado M.E., Malcata F.X.: Food Microbiol. 2008, **25**, 922.
63. Behera S.S., Patra J.K., Pramanik K., Panda N., Thatoi H.: World Journal of Nano Science and Engineering 2012, **2**, 196.
64. Xiao L.H., Wang T., Zhao T.Y., Zheng X., Sun L.Y., Li P., Liu F.Q., Gao G., Dong A.: Int. J. Mol. Sci. 2013, **14**, 7391.
65. Shariatinia Z., Nikfar Z.: International Journal of Biological Macromolecules 2013, **60**, 226.
66. Senthil M., Ramesh C.: Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 2012, **7**, 1655.
67. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B., Lawrence C.A., Collins J.J.: Cell. 2007, **130**, 797.
68. Sies H.: Exp. Physiol. 1997, **82**, 291.
69. Park H.J., Kim J.K., Kim J.: Water Res. 2009, **43**, 1027.
70. Keenan C.R., Sedlak D.L.: Environ Technol. 2008, **42**, 1262.
71. Touati D.: Arch Biochem Biophys. 2000, **373**, 1.
72. Lee C., Kim J.Y., Lee W.I., Nelson K.L., Yoon J., Sedlak D.L.: Environ Technol. 2008, **42**, 4927.
73. Zhang L., Jiang Y., Ding Y., Povey M., York D.: J. Nanopart. Res. 2007, **9**, 479.
74. Yamamoto O.: Inter. J. Inorg. Mater. 2001, **3**, 643.
75. Makhluif S., Dror R., Nitzan Y., Abramovich Y., Jelinek R., Gedanken A.: Adv. Funct. Mater. 2005, **15**, 1708.

Mohammad Taghi SALEHI Isfahan 85141-43131, Iran, tel.: +98 31 34400982, faks: +98 31 34400982
e-mail: mohammadtaghi_salehi@yahoo.com

Aktualności z firm

News from the Companies

Dokończenie ze strony 10

Popularyzator Nauki'2014

Siedem osób i instytucji, które pomagają innym lepiej zrozumieć świat i potrafią zainteresować swoimi osiągnięciami naukowymi, znalazło się w gronie laureatów X edycji konkursu Popularyzator Nauki: kategoria Sponsor Popularyzacji – Fundacja PZU; kategoria Nauka w Internecie – Portal Wszecznica.org.pl; kategoria Media – Piotr Cieśliński, kierownik działu Nauka „Gazety Wyborczej”; kategoria Instytucje Pozanaukowe – Grupa EkoLogiczna z Siedlec; kategoria Instytucje Naukowe – Instytut Geofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie; kategoria Popularyzator Indywidualny – Animatorzy – animator Michał Szydłowski, czyli Pan Korek; kategoria Popularyzator Indywidualny – Naukowcy: dr Robert Mysłajek, adiunkt w Instytucie Genetyki i Biotechnologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Nagrodę specjalną za całokształt działalności otrzymała dr Hanna Krajewska z archiwum PAN – za popularyzację trudnej tematyki archiwistycznej oraz czasopismo „Urania – Postępy Astronomii” – za upowszechnianie od ponad 90 lat wiedzy o polskiej astronomii. Katarzyna Dziedzic, rzeczniczka prasowa Uniwersytetu w Białymstoku, została laureatką wyróżnienia im. red. Tomasza Trzcinińskiego za „wzorcową politykę informacyjną”. (kk)

(<http://www.nauka.gov.pl>, 8.12.2014)

Plastyfikator ZAK – Polskim Produktem Przyszłości

W siedemnastej edycji konkursu „Polski Produkt Przyszłości” Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości nagrodziła nieftalanowy plastyfikator tworzyw sztucznych opracowany przez Grupę Azoty

ZAK SA i Instytut Ciężkiej Syntezy Organicznej „Błachownia”. Tytuł „Polskiego Produktu Przyszłości” jest przyznawany przez Polską Agencję Rozwoju Przedsiębiorczości od 1997 r. w drodze dwuetapowego konkursu. Nagrody przyznawane są w trzech kategoriach: dla jednostki naukowej, dla przedsiębiorcy oraz dla konsorcjum: jednostka naukowa – przedsiębiorca. Nowy nieftalanowy plastyfikator, to jedno z większych przedsięwzięć inwestycyjnych ZAK. Powstająca od stycznia 2014 r. instalacja do produkcji plastyfikatora będzie posiadała moce produkcyjne w wysokości 50 tys. ton rocznie. Plastyfikator z nowej instalacji jest następcą ftalanu dwuoktylu, który dotychczas wytwarzany był w Grupie Azoty ZAK. (kk)

(<http://www.plastech.pl>, 5.01.2015)

51 mln PLN na prace B+R w przemyśle metali nieżelaznych

Narodowe Centrum Badań i Rozwoju oraz KGHM Polska Miedź SA ogłosiły wyniki drugiego konkursu w ramach Wspólnego Przedsięwzięcia CuBR. Osiem konsorcjów składających się z uczelni, instytutów badawczych i przedsiębiorców otrzyma 51 mln PLN. Realizowane przez nie projekty dotyczyć będą m.in. rozwoju technologii wydobywania i wzbogacania polskich rud miedzi, a także innowacyjnej technologii magazynowania energii z wykorzystaniem technik sztucznej inteligencji. Podjęte zostaną także prace nad stworzeniem samodzielnego wozu z automatyczną głowicą kotwiącą oraz opracowaniem automatycznego urządzenia do rozbijania brył miedzi w kopalniach. Zadeklarowany wkład własny przedsiębiorstw w konkursie wynosi 6,4 mln PLN. (kk)

(<http://www.ncbir.pl>, 23.12.2014)

Dokończenie na stronie 32