Priprava slojeva na bazi nanočestica srebra i TEOS-a

Plazanić, Marko

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:482298

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marko Plazanić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ – KEMIJA I INŽENJERSTVO MATERIJALA

Marko Plazanić

PRIPRAVA SLOJEVA NA BAZI NANOČESTICA SREBRA I TEOS

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: dr. sc. Stanislav Kurajica, red. prof. FKIT-a

Članovi ispitne komisije: dr. sc. Stanislav Kurajica, red. prof.

Zagreb, rujan 2015.

Zahvaljujem se svom mentoru, prof. dr. sc. Stanislavu Kurajici na pomoći koju mi je ukazao i ponajviše na strpljenju.
Također se želim jako zahvaliti kolegici i budućoj doktorici znanosti Ivi Mingi, bez čije pomoći ovaj rad nikako ne bi bio moguć!
Velike zahvale na ljubavi i podršci u svakom mom koraku upućujem svojoj velikoj obitelji, a posebno majci.
I naposljetku se želim zahvaliti Tebi što si uvijek uz mene.

Sadržaj

1. UVOD 7
2. OPĆI DIO 8
   - 2.1. Kamene površine 8
   - 2.2. Djelovanje nanočestica srebra 9
   - 2.3. Sol-gel postupak 10
   - 2.4. Prekursori 12
3. EKSPERIMENTALNI DIO 15
   - 3.1. Materijali 15
   - 3.2. Sinteza i priprava uzoraka 16
4. KARAKTERIZACIJA 18
   - 4.1. Raspodjela veličina čestica 18
   - 4.2. FTIR 18
   - 4.3. XRD 19
   - 4.4. Kontaktni kut 19
   - 4.5. UV-Vis spektroskopija i difuzna refleksijska spektroskopija (DRS) 19
   - 4.6. Disk difuzijska metoda 20
5. REZULTATI 21
   - 5.1. Raspodjela veličina čestica 21
   - 5.2. FTIR 22
   - 5.3. XRD 23
   - 5.4. DRS 24
   - 5.5. Kontaktni kut 24
   - 5.6. Mikrobiološka ispitivanja 25
6. RASPRAVA 27
7. ZAKLJUČCI 29
8. LITERATURA 30

Sažetak

Zahvaljujući dobrim fizikalnim i kemijskim svojstvima te brojnim područjima potencijalne uporabe nanočestice srebra izazvale su znatan interes u znanstvenoj zajednici i gospodarstvu. Srebro je od davnina poznato po svome antibakterijskom djelovanju, netoksičnosti i neškodljivosti za okoliš. Stoga broj različitih primjena nanočestica srebra kontinuirano raste, posebice u području zaštite površina od rasta mikroorganizama.

U ovom su radu pripravljene nanočestice srebra u svrhu nanošenja na kamenu površinu kao zaštitnog baktericidnog sloja. Srebrne nanočestice su pripravljene redukcijom srebrovog nitrata, $AgNO_3$, s natrijevim borhidridom, $NaBH_4$, te su nanešene na umjetni mramor koji je ranije pripravljen prešanjem i sinteriranjem praha $CaCO_3$ u tablete. Nadalje, kako bi se smanjila brzina otpuštanje nanočestica srebra te hidrofobirala površina, na površinu je nanesen TEOS te potom pušten da hidrolizira i gelira.

Pripravljeni uzorci potom su karakterizirani rendgenskom difrakcijskom analizom (XRD), infracrvenom spektroskopijom s Fourierovim transformacijama (FTIR) i difuznom refleksijskom spektroskopijom (DRS). Hidrofobnost pripremljenih uzoraka s TEOS-om ispitana je mjerenjem kontaktnog kuta. Provedeni mikrobiološki testovi s bakterijom *Escherichia coli* dali su negativne rezultate što ukazuje da u korištenim koncentracijama nanočestice srebra nisu učinkovite kao baktericidno sredstvo za zaštitu kamenih površina.

Ključne riječi: kamena površina, nanočestice srebra, TEOS, antibakterijska zaštita

Summary

Silver nanoparticles have received considerable attention due to their attractive physical and chemical properties and potential applications with high academic and industrial impacts. Colloidal silver have been known for a long time to possess antimicrobial properties and also to be nontoxic and environmental friendly. That is why the aplications of silver nanoparticles increase continuously, especially for antmicrobial protection of surfaces.

In this study nanoparticles of silver were prepared with the purpose of using them as coatings for protection of stone surfaces from bacteria growth. Silver nanoparticles were prepared through chemical reduction of silver nitrate, $AgNO_3$, by sodium borohydride, $NaBH_4$, and were applied as a coating on artificial marble stone surface, which was previously made by pressing and sintering $CaCO_3$ powder into tablets. In addition to improve efficiency of silver nanoparticles by attaining time release of silver as well as hydrophobicity of the stone surface, TEOS was applied on the surface and allowed to hydrolize and form gel.

Tablets were characterized by means of X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and diffuse reflectance spectroscopy (DRS. Hydrophobicity of the tablets with gel coating was determined through contact angle measurement.

Conducted microbiological tests of the samples using bacteria *Escherichia coli* have shown negative results which points out that in applied concentration silver nanoparticles are not effective as antimicrobial agent for stone surface protection.

Keywords: stone surface, silver nanoparticles, TEOS, antimicrobial protection

1. Uvod

Biofilmovi su kompleksne agregacije mikroorganizama koje mogu nastati na živim i neživim površinama.[1] Stvaranje biofilmova na čistim površinama obično započinje fototrofnim organizmima (alge, cijanobakterije) koji koriste CO_2 iz atmosfere kao izvor ugljika i sunčevu svjetlost kao izvor energije. Heterotrofni organizmi (većina bakterija i sve gljivice) trebaju organski izvor za svoj rast, čime ih onda opskrbljuju produkti metabolizma ranije navedenih fototrofnih organizama ili zrakom donešene i na površinu deponirane organske tvari. Pokazalo se da vrlo niski nutritivni zahtjevi heterotrofnih organizama mogu biti zadovoljeni i ostacima organskih tvari iz zagađenog zraka ili kiše.[2]

Objekti s kojima je čovjek često u kontaktu poput tipkovnice računala, kvake za vrata, telefona, rukohvata, kuhinskih radnih površina, sanitarnih površina i sl. na svojoj površini sadržavaju bakterije čime površina postaje kontaminirana predstavljajući potencijalnu prijetnju za ljudsko zdravlje.[3] Kako su mnoge takve površine, između ostalih materijala, načinjene od kamena, bivaju izložene raznim fizičkim, kemijskim i biološkim utjecajima koji mogu u konačnici dovesti do degradacije rezultirajući raznim oštećenjima površine ili gubitkom svojstava bitnih za uporabu. Od bioloških čimbenika najveći utjecaj imaju biofilmovi mikroorganizama, na čiju formaciju utječu razni faktori kao što su izvor hranjivih tvari, vlaga, pH, povišena temperatura, mineralni sastav materijala kao i njegova poroznost.[2]

U slučaju stvaranja biofilma bakterije su mnogo otpornije na antibakterijska sredstva od nevezanih (planktonskih) bakterija, kako zbog fizioloških razlika, tako i zbog prisutnosti same fizičke difuzijske barijere.[1]

Zbog navedenih razloga te problema rastuće otpornosti bakterija na različite antibiotike, velika se pažnja posvećuje istraživanju djelovanja i primjeni baktericidnih i fungicidnih sredstava koja bi se mogla jednostavno i efikasno primjenjivati u svakodnevnom životu. S obzirom da je čovjek svakodnevno u izravnom kontaktu s raznim kamenim površinama, baktericidna sredstva poput nanočestica srebra namijenjena djelovanju na ovim površinama mogla bi biti atraktivan proizvod.

2. Opći dio

2.1. Kamene površine

Još od davnina je kamen postao nezamjenjiv u različitim civilizacijskim ulogama prvo kroz razne alate i oruđa, a kasnije i kao građevinski materijal a njegova je uporaba u suvremenom svijetu i dalje vrlo široka. Današnju primjenu kamen, kao materijal, najčešće pronalazi kroz razne kamene površine odnosno predmete poput umivaonika i drugih kupaonskih elemenata, obloge za zidove i podove, kuhinjske radne ploče, površine stolova te u razne dekorativne svrhe.

Jedan od čestih materijala od kojih se izrađuju kamene površine su karbonatne stijene koje pripadaju vrsti sedimentnih stijena. Karbonati su soli ugljične kiseline, H_2CO_3, u kojima su najčešći kationi Ca, Mg, Sr, Ba, Fe, Cu, Zn, Mn i Pb. Zbog različitih dimenzija iona koji tvore karbonate, razlikuju se tri glavne skupine jednostavnih bezvodnih karbonata. Jedna je skupina kalcita, čiji pripadnici su karbonati s kationima manjih ionskih radijusa od kalcija. Druga je skupina dolomita koju čine dvosoli. Treću čine karbonati s kationima većih ionskih radijusa od kalcija. Od jednostavnih bezvodnih karbonata se razlikuje skupina karbonata koji sadrže hidroksidne ione ili kristalnu vodu.

Posebice atraktivna i često korištena karbonatna kamena površina je mramor, stijena čije podrijetlo nastanka je metamorfno i pripada skupini kalcita, tj. stijena koja sadrži krupnija zrna kalcita nastala prekristalizacijom vapnenca u uvjetima visoke temperature i tlaka.[4]

Kako je već spomenuto, razne formacije biofilma mikroorganizama na samim kamenim površinama poput npr. mramornih, dovode do degradacije samog materijala [5] stoga je od izuzetne važnosti obratiti pozornost rješavanju ovog problema. Kao jedno od mogućih jednostavnih i lako primjenjivih rješenja je nanošenje ranije spomenutih suspenzija nanočestica srebra u obliku baktericidnih premaza (slojeva).

2.2 Djelovanje nanočestica srebra

Pored zlata i bakra, srebro je treći metal koji je bio poznat i korišten u ranim razdobljima razvoja civilizacije.

Metalno srebro bilo je poznato Kaldejcima 4000 godina prije Krista. Srebro se tijekom povijesti primjenjivalo u raznim područjima ljudskog djelovanja. Tako se, npr. upotrebljavalo u antičkoj Grčkoj za izradu srebrnog posuđa kako bi voda i tekućine ostale svježe. U Rimskom carstvu vino su pohranjivali u srebrnom posuđu. Kroz stoljeća, prije razvoja antibiotika, srebro je korišteno u razne medicinske svrhe uglavnom empirijski, prije nego što su otkriveni mikroorganizmi kao osnovni uzrok infekcija. Tako su za vrijeme trajanja srednjeg vijeka bogati staleži koristili srebro kako bi se zaštitili od kuge, itd. [6]

S obzirom na vrlo široku primjenu, srebro je korišteno u raznim formama, kao materijal za izradu posuda, za kovanice, folije, suspenzije te koloidne suspenzije.[7] 1881. godine Carl S. F. Crede je izliječio bakterijski konjuktivitis koristeći kapi srebrovog nitrata za oči, dok je Credeov sin pripravio srebrom impregnirane obloge za kožu. Koloidno srebro je u prvoj polovici 20. stoljeća tako postalo glavno sredstvo antibakterijskih terapija. Nakon otkrića antibiotika 1940.-ih godina, uporaba srebra u ovu svrhu je naglo pala.

Srebro ponovno dolazi u medicinsku upotrebu 1960.-ih Moyerovom primjenom 0.5% otopine srebrovog nitrata u liječenju rana nastalih opeklinama. Dodatkom srebrova nitratra sulfonamidu, 1968. godine je dobivena sulfodiazin-srebrova krema širokog spektra antibakterijskog, antigljivičnog i antivirusnog djelovanja s najčešćom primjenom u liječenju i saniranju opeklina. Njezino djelovanje pokazalo se vrlo učinkovitim u borbi protiv bakterija poput Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella, Pseudomonas, kao i različitim vrsta virusa i gljivica.[8]

Antibakterijsko djelovanje Ag nanočestica može biti iskorištena za dezinfekciju voda u raznim postrojenjima, sprječavanje stvaranja kolonije bakterija na raznim površinama te eliminaciju mikroorganizama na medicinskoj opremi, tekstilnim tkaninama i raznim drugim

predmetima, ukoliko se nanočestice ispravno primjene.

Mehanizam djelovanja srebrovih nanočestica nije posve razjašnjen. Postoje znanstvena priopćenja koja ukazuju na to da su elektrostatska privlačenja između negativno nabijenih stanica bakterija i pozitivno nabijenih nanočestica ključna u baktericidnom djelovanju nanočestica. Također je predloženo nekoliko mogućih mehanizama koji uključuju interakciju srebra s biološkim makromolekulama kao što su enzimi i DNK kroz mehanizme otpuštanja elektrona. Pri tome se pretpostavlja da DNK gubi mogućnost replikacije uslijed čega se u kontaktu s Ag+ deaktiviraju stanični proteini. Uz to je također primijećeno da vezanje Ag+ za funkcionalne skupine proteina dovodi do denaturacije proteina.[9] Jedan od predloženih mehanizama antibakterijskog djelovanja je stvaranje slobodnih radikala, koji zatim oštećuju membranu stanice bakterije.[10]

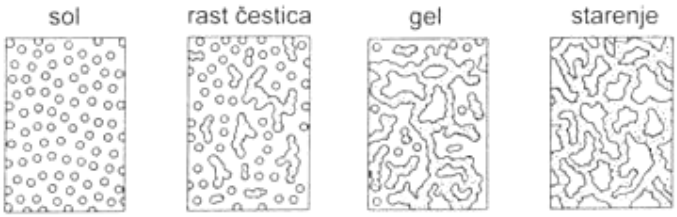
Međutim, dugoročno učinkovito baktericidno djelovanje nanočestica srebra ovisi o postupnom otpuštanju iona srebra kroz duži period vremena. Jedno od mogućih rješenja za postizanje vremenskog otpuštanja nanočestica srebra su sol-gel prevlake baktericidnog srebra.

2.3. Sol-gel postupak

Sol predstavlja stabilnu koloidnu suspenziju čvrstih čestica u otopini. Koloidna suspenzija podrazumijeva postojanje malih čestica (~ 1-1000nm) dispergiranih u tekućoj fazi u kojoj gravitacijske sile postaju zanemarive, pri čemu dominiraju interakcije sila kratkog dometa poput van der Waalsovih sila. Inercija dispergirane faze je dovoljno malena da pokazuje svojstva Brownovog gibanja čestica, kaotičnog kretanja čestica.

Gel je kontinuirana porozna, trodimenzionalna, isprepletena mreža krute faze koja je ispunjena kontinuiranom tekućom fazom koloidnih veličina. Gel se formira kada disperzija iz početnog sola polimerizira povezivanjem molekula prekursora (koji su obično metalni alkoksidi) u stabilnu trodimenzionalnu mrežu, a proces se naziva geliranje. Geliranje onemogućava nastajanje nehomogenosti unutar materijala. Proces geliranja započinje formacijom sitnih agregata u solu koji se s vremenom počinju sudarati i povezivati u sve veću

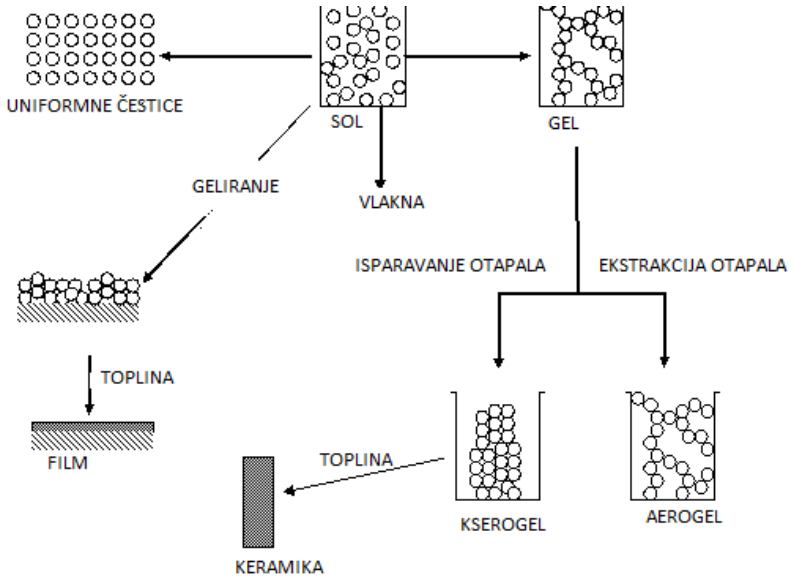
mrežu nakupina koje se postepeno transformiraju u kolodini (ili polimerni) gel (Slika 2.3.1.).



Slika 2.3.1. Shematski prikaz faza sol-gel procesa.

Ako se kapljevita faza uglavnom sastoji od vode, tada se govori o hidrogelu. Ukoliko se ukloni otapalo, ovisno o metodi sušenja, govori se o kserogelu ili aerogelu. Sušenjem gela dolazi do uklanjanja otapala, a gel se transformira u poroznu čvrstu fazu te obrađuje pri povišenim temperaturama uslijed čega dolazi do kristalizacije iz amorfnog stanja.[11],[12]

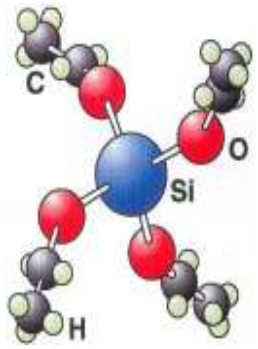
Mnoge su potencijalne primjene materijala dobivenih sol-gel procesom. Ovom metodom moguće je pripraviti tanke filmove, vlakna, keramičke monolite, praške, kompozite te porozne materijale. Međutim, najuspješnije su one primjene koje iskoriste prednosti sol-gel procesa poput čistoće, homogenosti i kontrolirane poroznosti dobivenog materijala te mogućnost formiranja strukture materijala pri niskim temperaturama i ekonomičnost postupka (Slika 2.3.2.).



Slika 2.3.2. Primjene sol-gel procesa.

2.4. Prekursori

Prije provođenja sol-gel procesa potrebno je, ovisno o željenom produktu, odabrati odgovarajuć prekursor. Prekursori se sastoje od atoma metala ili prijelaznog metala okruženog različitim ligandima najčešće organskog podrijetla. Najčešći prekursori za sol-gel procese su anorganske metalne soli ili metalni alkoksidi na čiji atom metala ili prijelaznog metala su vezane alkoksidne grupe. Podložnost hidrolizi čini ih poželjnima za reakcije stvaranja gela. Tetraetoksisilan, TEOS, predstavlja jedan od učestalo primjenjivanih i istraživanih prekursora. S obzirom na poznati kemizam reakcija TEOS-a u vodenom okruženju te hidrofoban karakter, TEOS je odabran kao prekursor za apliciranje na kamenu površinu u ovome radu (Slika 2.4.1.).



Slika 2.4.1. Struktura molekule tetraetilortosilikata, TEOS-a.

Silikatni gelovi se najčešće sintetiziraju hidrolizom monomernih, tetrafunkcionalnih alkoksidnih prekursora koristeći mineralne kiseline (npr. HCl) ili baze (npr. NH_4OH) kao katalizatore. Na razini funkcionalnih grupa u sol-gelu se odvijaju tri reakcije: hidroliza, vodena kondenzacija te alkoholna kondenzacija.

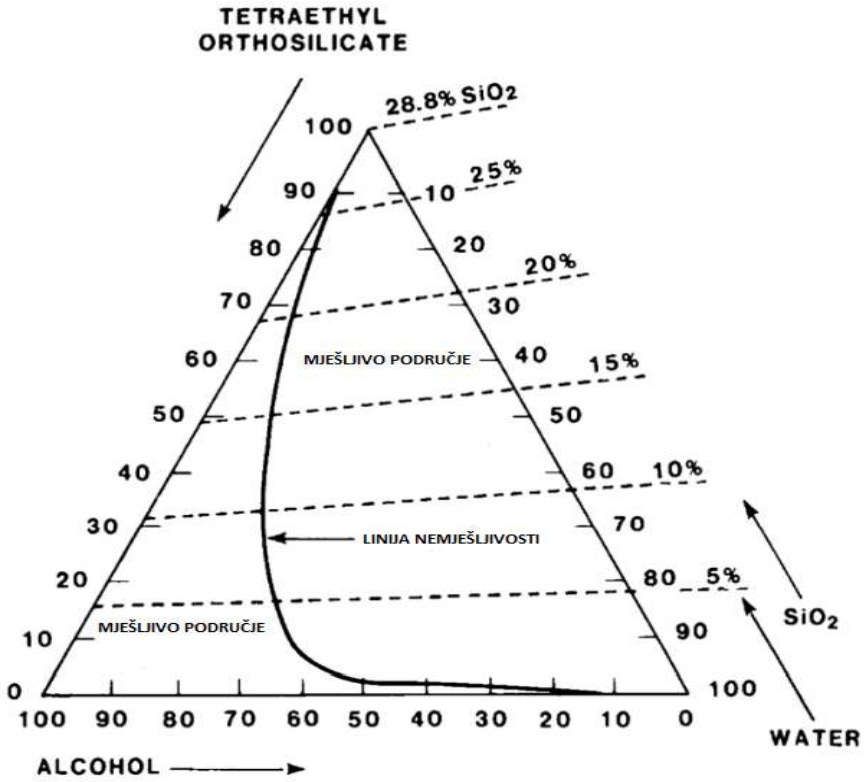
$$Si(OR)_4 + H_20 \underset{\text{esterifikacija}}{\overset{\text{hidroliza}}{\rightleftharpoons}} HO\text{-}Si(OR)_3 + ROH$$

$$Si(OR)_4 + 4H_20 \underset{\text{esterifikacija}}{\overset{\text{hidroliza}}{\rightleftharpoons}} Si(OH)_4 + 4ROH$$

$$(OR)_3Si\text{-}OH + HO\text{-}Si(OR)_3 \underset{\text{alkoholiza}}{\overset{\text{vodena kondenzacija}}{\rightleftharpoons}} (OR)_3Si\text{-}O\text{-}Si(OR)_3 + H_20$$

$$(OR)_3Si\text{-}OR + HO\text{-}Si(OR)_3 \underset{\text{hidroliza}}{\overset{\text{alkoholna kondenzacija}}{\rightleftharpoons}} (OR)_3Si\text{-}O\text{-}Si(OR)_3 + ROH$$

Reakcijom hidrolize dolazi do zamjene alkoksidne (-OR) skupine hidroksilnom, (-OH) pri čemu nastaju silanolne grupe, Si-OH**,** a ovisno o udjelu vode i katalizatora prekursor može izreagirati djelomično ili do kraja, čime su -OR skupine zamijenjene djelomično ili potpuno -OH skupinom. Nakon početne hidrolize sve tri reakcije teku usporedno. Potom se kondenzacijskim reakcijama, koje uključuju silanolne grupe, stvaraju siloksanske veze (Si-O-Si), čime se oslobađaju molekule vode i alkohola (ovisno o vrsti kondenzacije).



Slika 2.4.2. Trokutni dijagram sustava TEOS, H_20 i 95% etanola, *w*=95% pri 25°C.

Procesom kondenzacije stvara se sol. Veće čestice sola dalje rastu na račun manjih, budući da se manje, lakše topljive čestice, ponovo otapaju i talože na krupnijim, teže topljivim česticama. Rast čestica prestaje kad razlika u veličini, odnosno topljivosti čestica postane zanemariva. Naposljetku se čestice povezuju u kontinuiranu trodimenzionalnu mrežu, odnosno gel.

Budući da su voda i alkoksisilani nemješljivi (Slika 2.4.2.), često se koristi zajedničko otapalo kao što je alkohol.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

U radu su korištene slijedeće kemikalije:

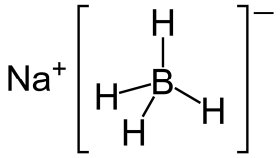
- **Natrijev borhidrid, $NaBH_4$**

  -Proizvođač : Kemika

  -čistoća: p.a.

  -Mr: 37,83 $gmol^{-1}$

  -Strukturna formula:



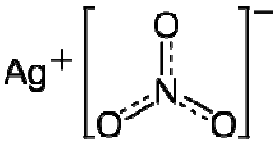
- **Srebrov nitrat, $AgNO_3$**

  -Proizvođač : Kemika

  -čistoća 99,9%

  -Mr: 169,7 $gmol^{-1}$

  -Strukturna formula:



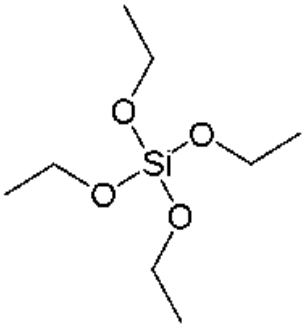
- **Tetraetilortosilikat (TEOS), $Si(OC_2H_5)_4$**

  -Proizvođač : Merck

  -čistoća: 98%

  -Mr: 208,33 $gmol^{-1}$

  -Strukturna formula:



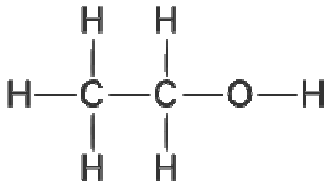
- **Etanol, CH_3CH_2OH**

-Proizvođač : Kemika

-čistoća: 96%

-Mr: 46,068 $gmol^{-1}$

-Strukturna formula:



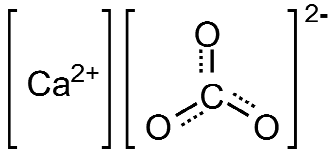
- **Kalcijev karbonat, $CaCO_3$**

-Proizvođač : Alkaloid

-čistoća: p.a.

-Mr: 100,09 $gmol^{-1}$

-Strukturna formula:



3.2. Sinteza i priprava uzoraka

Priprava $CaCO_3$ tableta (sintetskog kamena)

Pripravljeno je 10 tableta na ručnoj preši Paul-Otto Weber u čeličnom cilindru promjera 2,2 cm pri uvjetima odgovarajućeg tlaka od ~ 413 MPa. Računski je dobivena potrebna odvaga kalcijeva karbonata za tabletu debljine ~5 mm:

$m = r^2 \times \pi \times d \times \rho = (1{,}1\ cm)^2 \times 3{,}14 \times 0{,}5\ cm \times 2{,}7\ gcm^{-3} = 5{,}129\ g \sim 5{,}13\ g$

Izračun tlaka za masu od 16 tona iznosi:

$P = F / A = m \times g / (r^2 \times \pi) = 16000\ kg \times 9{,}81\ ms^2 / (0.011^2\ m^2 \times 3{,}14) = 413117860\ Pa \sim 413\ MPa$

Uzorci su termički obrađeni pri 500 °C brzinom zagrijavanja od 10 °C/min, te zadržavani na 500 °C u trajanju od 30 minuta.

Priprava smjese nanočestica srebra i TEOS-a

Nanočestice srebra pripravljene su redukcijom srebrovog nitrata, $AgNO_3$, s natrijevim borhidridom, $NaBH_4$. Volumen od 20 mL otopine srebrovog nitrata koncentracije 0,001M kapajući (otprilike jedna kap po sekundi) je dodan u 180 mL otopine $NaBH_4$ koncentracije 0,003M, prethodno rashlađenoj u ledenoj kupelji. Reakcijska smjesa je miješana na magnetskoj miješalici (240 okr/min) oko 5 min nakon čega je miješanje zaustavljeno.

Pripravljena je otopina TEOS-a u etanolu u omjeru 1:7, nakon čega je smjesa stavljena na predhidrolizu na magnetskoj miješalici (270okr/min) u trajanju od 24h.

Nanošenje smjese nanočestica srebra i TEOS-a na $CaCO_3$ tablete

1. dan

Uz pomoć kapaljke na tablete je nanošen sloj suspenzije nanosrebra, kapajući kap po kap na gornju površinu tableta, pazeći da sloj kapane suspenzije ne prijeđe rub tablete. Nakapano je devet tableta (broj 2-10) suspenzijom mase oko 1,0000 g, dok je prva tableta bez suspenzije korištena kao referentni uzorak (broj 1). Tablete sa suspenzijom stavljene su na sušenje u sušionik pri temperaturi od 50 °C.

Tablica 3.2.1. Prikaz količine kapane suspenzije nanosrebra na tablete $CaCO_3$.

Tabletica	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
masa Ag suspenzije /g	--	1,0081	1,0167	1,0085	1,0017	1,0136	1,0201	1,0100	1,0360	1,0232

2. dan

Kapaljkom je nanešena smjesa TEOS-a na 5 tabletica (uzorci 2-6) oko 0,5000 g. Potom su tablete stavljene u sušionik pri temperaturi od 50 °C do potpunog sušenja.

3. dan

Nanešen je drugi sloj smjese TEOS-a na uzorke 2-6 (oko 0,5000 g) i tabletice su vraćene u sušionik na sušenje sljedeća 24h.

4. KARAKTERIZACIJA

4.1. Raspodjela veličina čestica

Raspodjela veličina čestica je brojčani pokazatelj koja veličina čestica je prisutna i u kojim udjelima (relativna količina čestica je prikazana kao postotak, gdje je ukupna količina čestica izražena iznosom 100%) u uzorku koji se mjeri. Način na koji se pojedini udio veličina čestica izražava označava se brojevima od 0 do 3 (0 - broj, 1-duljina, 2 - površina, 3 - volumen ili masa).

Mjerenja su provedena na uređaju Shimadzu SALD-3101 metodom laserske difrakcije u suhim uvjetima. Čestica u sudaru sa svjetlosnom zrakom formira određeni obrazac raspršenja svjetlosti koji se sustavom leća fokusira na detektor. Obrazac raspršenja karakteristika je svake jedinke budući da znatno ovisi o njezinu promjeru. Raspodjela veličina čestica za dani uzorak iskazana je diferencijalnom funkcijom raspodjele s karakterističnim promjerima populacije jedinki: medijanom raspodjele, Sauterovim srednjim promjerom i najučestalijom veličinom u populaciji. Funkcija gustoće raspodjele (diferencijalna funckija raspodjele) prikazuje udio čestica u pojedinim intervalima veličina čestica. Pored toga, kumulativna funkcija raspodjele izražava kumulativni udio čestica manjih od definirane veličine čestica.[13],[14]

4.2. FT-IR

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) daje informacije o kemijskom sastavu, strukturi i konformacijama molekula. Svaka molekula ima različit infracrveni spektar te se stoga koristi kao identifikacijska metoda. Podaci koji se dobiju obrade se primjenom matematičkog postupka Fourierove transformacije, podaci se pretvaraju u spektar u frekvencijskoj domeni.[15]

FTIR analiza provedena je pomoću ATR (eng. attenuated total reflectance) spektroskopije na

kristalu dijamanta uređaja ATR-FTIR Bruker VERTEX 70. Radi se o površinskoj analitičkoj metodi koja omogućava analizu uzorka do dubine~ 2μm. Uzorci su pritisnuti na dijamant i snimljeni u apsorbancijskom režimu rada unutar područja od 4000-400 cm^{-1} 16 puta, rezolucijom od 4 cm^{-1}.

4.3. XRD

Difrakcijom rendgenskih zraka se identificiraju kristalne strukture s obzirom da atomi u kristalu uzrokuju difrakciju upadne zrake s kristalom. Mjereći kutove difrakcije i intenzitete tih zraka ovom metodom moguće je dobiti trodimenzionalnu sliku gustoće elektrona u kristalu. Iz ove gustoće elektrona moguće je utvrditi razmještaj atoma u kristalu kao i njihove kemijske veze te neposredno dobiti razne kvalitativne i kvantitativne informacije.[16]
Kalcinirani uzorci karakterizirani su rendgenskom difrakcijskom analizom (XRD) na uređaju Shimadzu, XRD–6000 uz CuKα zračenje, u rasponu između 5 i 90° 2θ u različitim režimima snimanja.

4.4. Kontaktni kut

Mjerenja statičnih kontaktnih kutova izvedena su kapajućom tehnikom na nepokretnom optičkom kontaktnom goniometru Dataphysics OCA 20. Mjerenja su izvršena pri sobnoj temperaturi. U svakom mjerenju je nanesena kap dviju kapljevina (voda i formamid) različitih polarnosti i disperzivnih svojstava na uzorak, te su kontaktni kutovi određeni,za svaku kapljevinu zasebno neposredno pomoću goniometra.

4.5. UV-Vis spektroskopija i difuzna refleksijska spektrometrija (DRS)

Uzorci solova i gelova analizirani su na UV-Vis spektrofotometru Varian Cary 50 u refleksijskom načinu rada. Prešani uzorci na koje su nanešeni slojevi TEOS-a i srebra, zajedno s uzorkom čistog $CaCO_3$ analizirani su spetroskopijom u području UV-Vis zračenja u režimu potpune refleksije na integriranoj sferi uređaja Perkin-Elmer Lambda I, koristeći

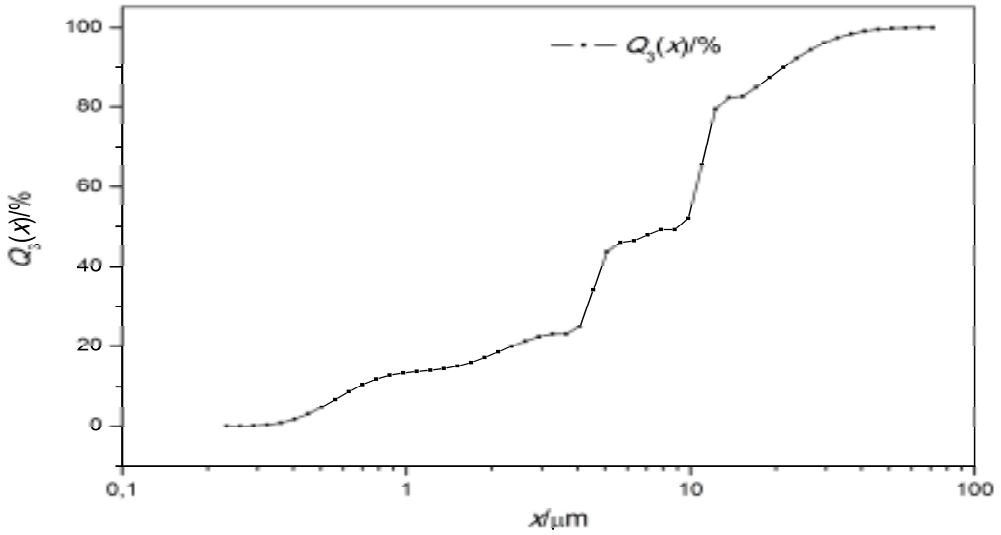
$BaSO_4$ kao standard.

4.6. Disk difuzijska metoda

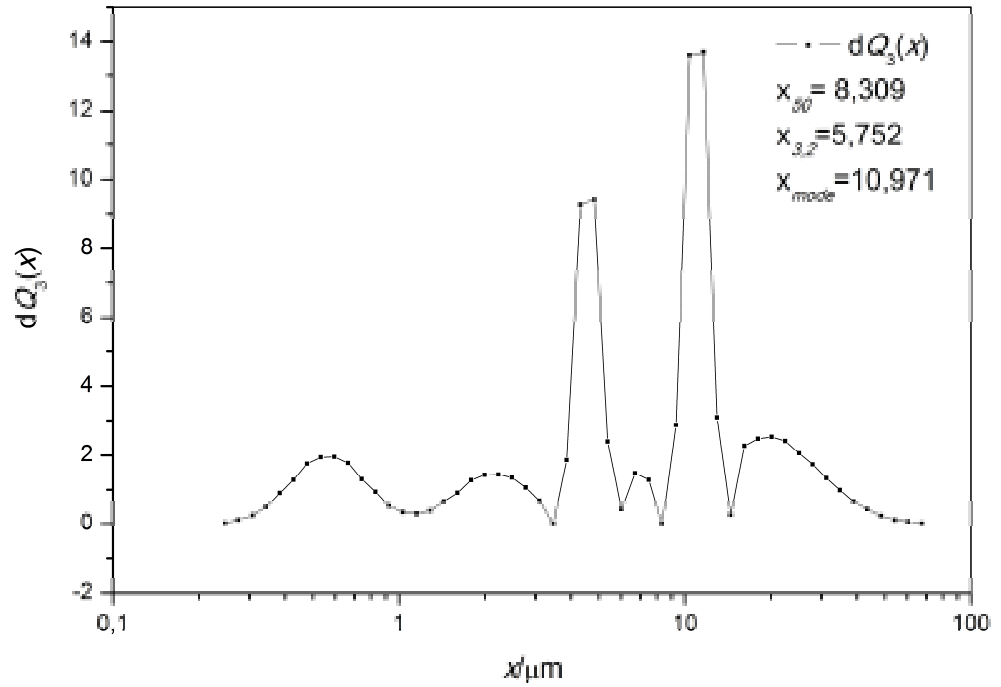
Disk difuzijska metoda se zbog jednostavnosti rutinski koristi za određivanje osjetljivosti bakterija na antibiotike. Difuzijski se postupak izvodi u Petrijevoj zdjelici na čvrstoj hranjivoj podlozi. Diskovi natopljeni antibiotikom stavljaju se na površinu hranilišta koja je prethodno nacijepljena čistom bakterijskom kulturom. Budući da debljina i sastav hranjive podloge mogu utjecati na rezultate, postupak se izvodi u skladu s načelima koja ujednačuju metodologiju izvođenja. Nakon inkubacije mjeri se promjer zone inhibicije rasta bakterija te se na temelju rezultata procjenjuje osjetljivost bakterijskog soja na pojedine antibiotike.[17] Podloga je inokulirana suspenzijom mikroorganizama *E. coli* volumena 0,1 ml koncentracija korištenog bakterijskog inokuluma bila je 106, 108 i 1010 CFU (jedinica koja formira koloniju; od engl. *colony forming unit*). Zdjelice su inkubirane pri temperaturi od 37 °C u trajanju od 2 dana..

5. REZULTATI

5.1. Raspodjela veličina čestica

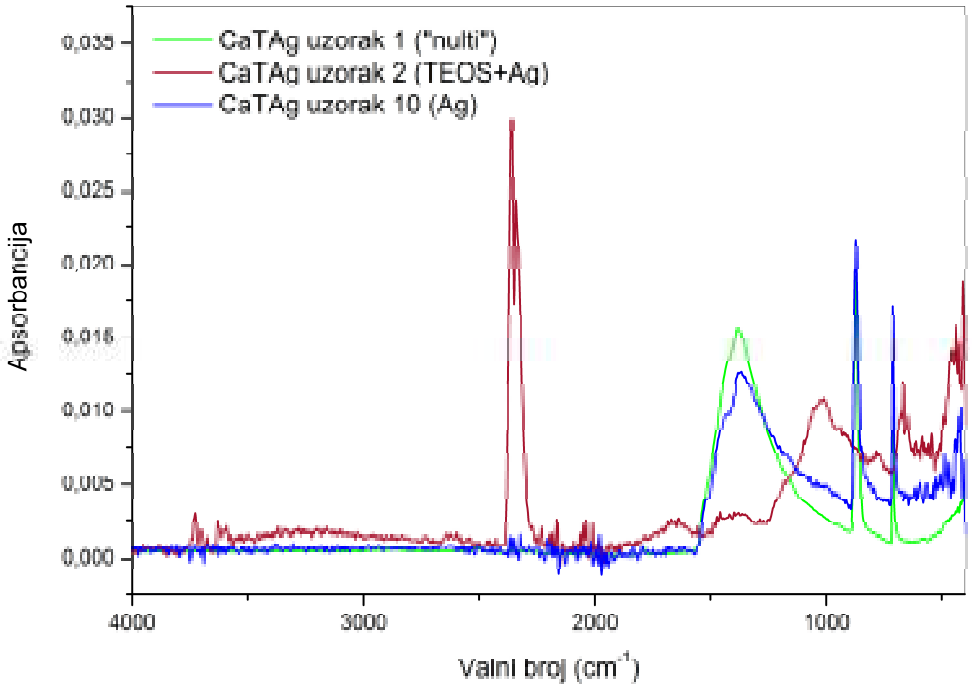


Slika 5.1.1. Kumulativna funkcija raspodjele veličina čestica $CaCO_3$.



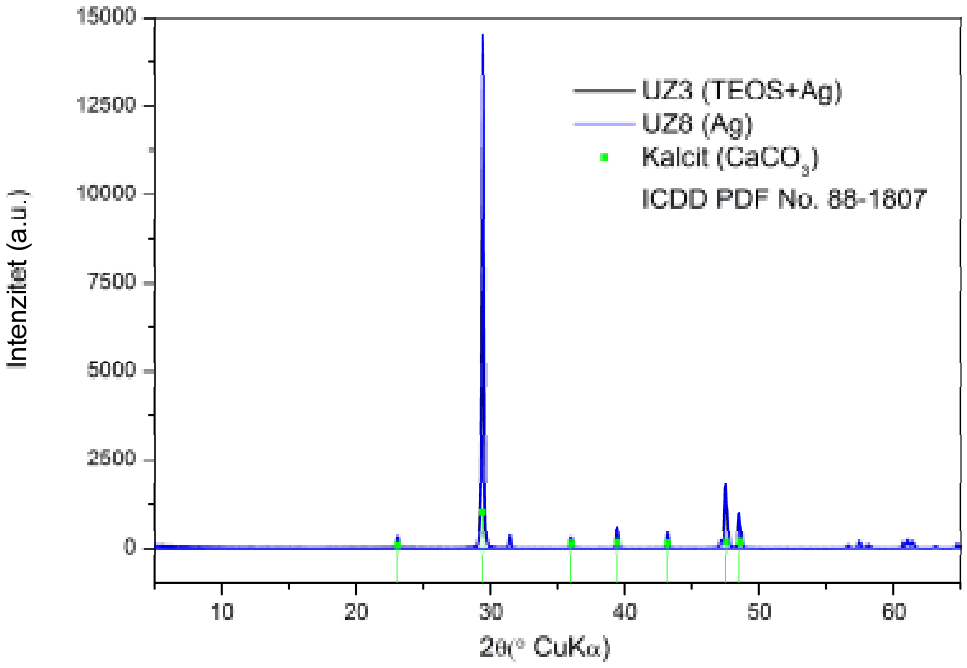
Slika 5.1.2. Grafički prikaz diferencijalna funkcija raspodjele veličina čestica $CaCO_3$.

5.2. FT-IR

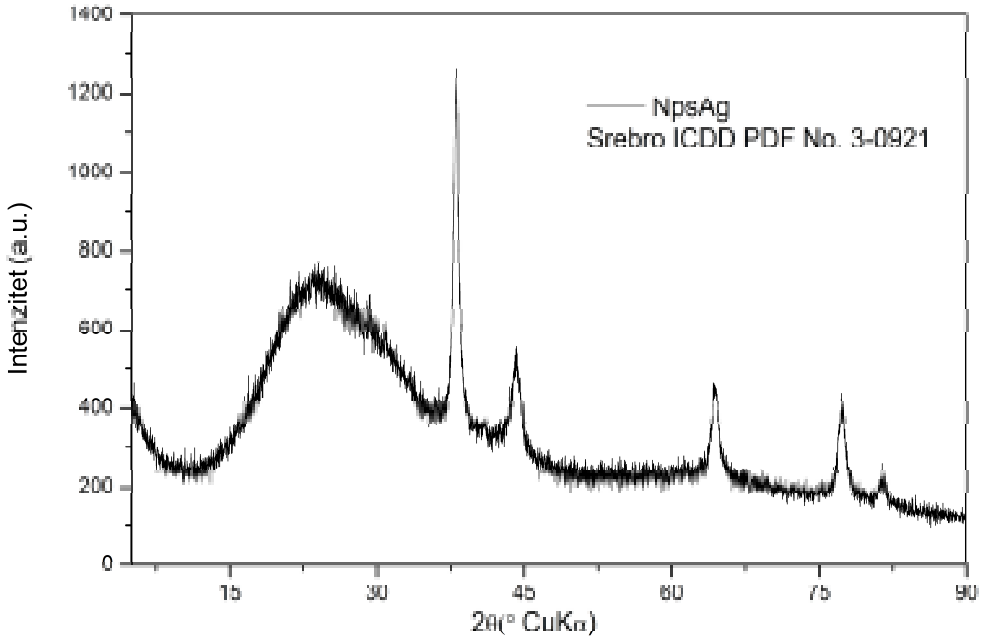


Slika 5.2.1. FTIR spektri referentnog uzorka, uzorka s TEOS-om i srebrom te uzorka sa srebrom.

5.3. XRD

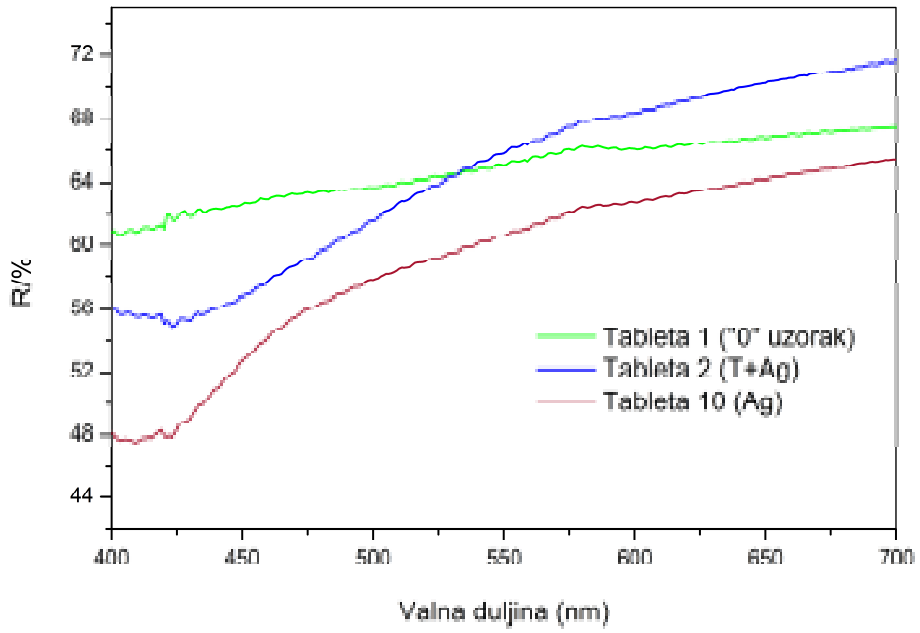


Slika 5.3.1. Difraktogrami uzoraka s TEOS-om i srebrom te uzorka sa srebrom.



Slika 5.3.2. Difraktogram nanočestica srebra.

5.4. DRS



Slika 5.4.1. Spektri dobiveni difuznom refleksijskom spektrometrijom za uzorke 1, 2 i 10.

5.5. KONTAKTNI KUT, UZORAK 3 (TEOS+nanočestice srebra)

Tablica 5.5.1. Izmjerene vrijednosti kontaktnog kuta za uzorak 3 (sa slojem TEOS-a).

Mjerenje	**Kontaktni kut/°**
1	**17,3043633**
2	**17,6257057**
3	**19,6497192**
4	**20,2309532**
5	**15,5869036**
6	**22,9408817**
7	**16,4434624**
8	**18,7949028**
9	**22,3546238**

Srednja vrijednost kontaktnog kuta za mjereni uzorak iznosi 18.992 °.

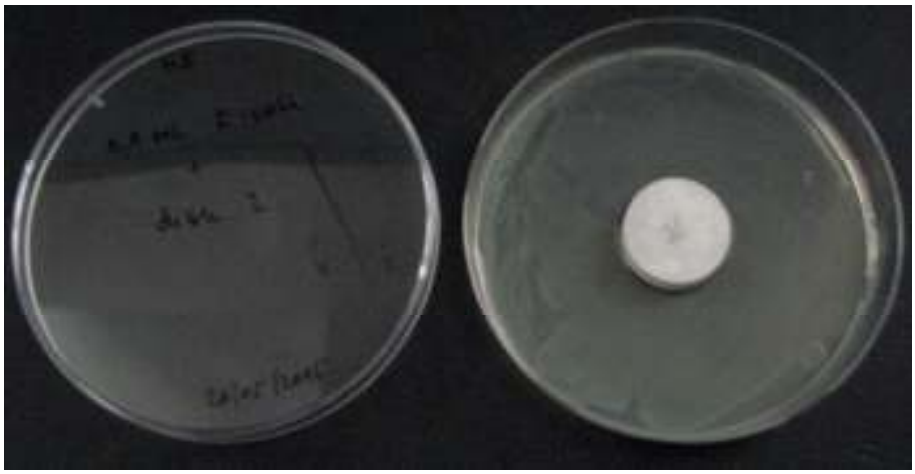
5.6. MIKROBIOLOŠKA ISPITIVANJA



Slika 5.6.1. Fotografija Petrijeve zdjelice s uzorkom 1 (bez Ag i bez TEOS).



Slika 5.6.2. Fotografija Petrijeve zdjelice s uzorkom 10 (s Ag bez TEOS).



Slika 5.6.3. Fotografija Petrijeve zdjelice s uzorkom 2 (s Ag i s TEOS).

6. Rasprava

Na Slici 5.1.1. i 5.1.2. prikazane su kumulativna i diferencijalna funkcija raspodjele veličine čestica $CaCO_3$ namjenjenog pripravi tableta. Prašak pokazuje multimodalnu raspodjelu veličine čestica. Čestice su u rasponu veličina od ~300 nm do 70 μm. Procijenjeno je da je ova veličina čestica posve zadovoljavajuća za postupak prešanja te $CaCO_3$ nije dodatno usitnjavan.

FTIR spektar nultog uzorka sadrži vrpce karakteristične za kalcijev karbonat (Slika 5.2.1.). CO_3^{2-} grupa pokazuje 4 različite vibracijske frekvencije. Vrpca pri 1388 cm^{-1} odgovara asimetričnom istezanju CO_3^{2-}, dok pri 712 cm^{-1} odgovara savijanju CO_3^{2-} i karakteristična je za kristalni $CaCO_3$. Preostale vrpce na 1795 i 869 cm^{-1} odgovaraju simetričnom savijanju izvan ravnine i rastezanju u ravnini simetrije. Vrpce siloksanskih prstenova prisutne su na spektru uzorka s dodanim TEOS-om pri 500–600 i 670–710 cm^{-1}. Široka apsorpcijska vrpca pri ~890 cm^{-1} pripisuje se rasteznim vezama Si-OH (silanol) dok vibracije pri 1000 cm^{-1} odgovaraju vibraciji Si-O veze. Vrpca pri ~2350 cm^{-1} asignirana je kao vibracija asimetričnog stezanja adsorbiranog CO_2 (O=C=O) na površini uzorka. Zbog male dubine prodiranja IR zračenja u uzorak na spektru uzorka s dodanim TEOS-om vrpce $CaCO_3$ se niti ne primjećuju Intenziteti vrpci općenito su neujednačeni budući da zbog karaktera uzorka (tableta) nije bilo moguće kontrolirati pritisak na dijamantnu prizmu. Stoga iz intenziteta vrpci nije moguće izvlačiti bilo kakve zaključke.

Difraktogrami tableta s nanešenim TEOS-om i srebrom ukazuju samo na prisustvo kalcita, $CaCO_3$, (Slika 5.3.1.). Maksimumi karakteristični za kalcijev karbonat asignirani su pomoću ICDD PDF kartice broj 88-1807. Budući da je TEOS prešao u amorfni gel, jedina kristalna faza koja postoji u uzorku je srebro. Međutim, količina srebra na površini uzorka nije bila dovoljna da bi se detektirala. Nakon centrifugiranja suspenzije srebra te sušenja samih čestica, dobiven je karakterističan difraktogram nanočestica srebra (NpsAg), ICDD PDF No. 3-0921, čime je dokazana uspješnost provedene sinteze (Slika 5.3.2.). Širina difrakcijskih maksimuma srebra jasno ukazuje da su pripravljene čestice veličinom u nano području.

Na Slici 5.4.1. prikazani su UV-Vis spektri uzoraka 1, 2 i 10 u rasponu valnih duljina od 400 do 700 nm dobiveni u režimu difuzne refleksije. Primjetan je rast reflektancije za sve uzorke pri prijelazu iz UV u vidljivo područje. Pojava je nešto izraženija kod uzoraka sa srebrom (i Ag i TEOS+Ag) dok je u slučaju čistog $CaCO_3$ promjena manje jasna.

Mjerenje kontaktnog kuta (Tablica 5.5.1.) ukazalo je da je formiranjem sloja gela došlo do određenog hidrofobiranja površine.

Rezultati ispitivanja baktericidnog djelovanja pripravljenih uzoraka prikazani su na Slikama 5.6.1., 5.6.2. i 5.6.3. Kako je vidljivo na slikama, svi uzorci ponašali su se posve jednako. Niti u jednom slučaju nije došlo do inhibicije rasta bakterija *E. coli*.

7. ZAKLJUČCI

U radu je pripravljena koloidna suspenzija nanočestica srebra koja je nanešena na uzorke prešanih, a potom sinteriranih tableta kalcita, $CaCO_3$. Cilj je bio postići antibakterijski učinak zaštitnog premaza na kamenim površinama uz kontrolirano otpuštanje srebra Kako bi se postiglo vremenski kontrolirano otpuštanje nanočestica srebra te osigurala hidrofobnost površina, budući da prisutnost vode pogoduje razvoju bakterija, na površinu je nanešen i TEOS iz kojeg je sol-gel postupkom nastao gel. Trodimenzionalna mreža koja nastaje reakcijama geliranja u svojoj poroznoj strukturi trebala je osigurati dubinsko "skladištenje" srebra koje bi tijekom duljeg razdoblja kontinuirano penetriralo na površinu, gdje bi aktivno reakcijskim mehanizmima onemogućavalo razvoj kolonija.

Uspješno su pripravljene tablete sinteriranog kalcita i koloidna otopina nanosrebra. Nano karakter čestica srebra dokazan je rendgenskom difrakcijskom analizom. Čestice nanosrebra i TEOS-a nanešene su na površinu kalcita. Došlo je do hidrolize i kondenzacije TEOS-a pri čemu je nastao gel što je pokazano FTIR analizom. DRS analiza ukazala je na blago obojenje tableta na koje je nanešeno nanosrebro.

Hidrofobnost pripremljenih uzoraka s TEOS-om utvrđena je mjerenjem kontaktnog kuta. Međutim, provedeni mikrobiološki testovi pokazali su da je rast bakterije *Escherichia coli* jednak za sve uzorke. Negativni rezultati testa ukazuju na nedovoljnu koncentraciju čestica srebra na površini koje bi aktivno sprječavale rast bakterija.

8. LITERATURA

1. N. Stobie, B. Duffy, D. E. McCormack, J. Colreavy, M. Hidalgo, P. McHale, S. J. Hinder, Prevention of Staphylococcus epidermidis biofilm formation using a low-temperature processed silver-doped phenyltriethoxysilane sol–gel coating, Biomaterials 29 (2008) 963-969

2. M.V. Ljaljević Grbić, J.B. Vukojević, Role of fungi in biodeterioration process of stone in historic buildings, Zbornik matice srpske za prirodne nauke 116 (2009) 245-251

3. N. Stobie, B. Duffy, J. Colreavy, P. McHale, S. J. Hinder , D. E. McCormack, Dual-action hygienic coatings: Benefits of hydrophobicity and silver ion release for protection of environmental and clinical surfaces, Journal of Colloid and Interface Science 345 (2010) 286–292

4. M. Vrkljan, V. Babić, J. Takšić, Minerologija, Školska knjiga, Zagreb, 1998., str. 247 - 250

5. M. Marvasi, F. Donnarumma, A. Frandi, G. Mastromei, K. Sterflinger, P. Tiano, B. Perito, Black microcolonial fungi as deteriogens of two famous marble statues in Florence, Italy, International Biodeterioration & biodegradation 68 (2012) 36-44

6. http://srebroiobitelj.webs.com/povijestsrebra.htm (11.9.2015.)

7. J. W. Alexander, History of medical use of silver, Surgical infections 10 (2009) 289-292

8. M. Rai, A. Yadav, A. Gade, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, Biotechnology advances 27 (2009) 76-83

9. M. Guzman, J. Dille, S. Godet, Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 8 (2012) 37 – 45

10. S. Kim, E. Kuk, K. Nam Yu, J. Kim, S. J. Park, H. J. Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C. Hwang, Y. Kim, Y. Lee, D. H. Jeong,M. Cho, Antimicrobial effects of silver nanoparticles, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 3 (2007) 95 – 101

11. S. Kurajica, Kristalizacija faza u sustavima dobivenim sol-gel postupkom, doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 1998

12. J. Livage, Sol-gel process, Current Opinion in Solid State and Material Science, **2** (1997) 132-138

13. http://www.shimadzu.com/an/powder/support/practice/p01/lesson02.html (6. 9. 2015.)

14. Karakterizacija disperznih sustava- Gordana Matijašćić, nastavni materijali, http://www.fkit.unizg.hr/

15. Karakterizacija i identifikacija proizvoda, Zlata Hrnjak-Murgić, nastavni materijali, http://www.fkit.unizg.hr/

16. https://en.wikipedia.org/wiki/X-ray_crystallography (7. 9. 2015.)

17. M. Bubonja, M. Mesarić, A. Miše, M. Jakovac, M. Abram, Utjecaj različitih čimbenika na rezultate testiranja osjetljivosti bakterija disk difuzijskom metodom, Medicina 44(No. 3-4) (2008) 280-284

ŽIVOTOPIS

Rođen sam 5. listopada 1993. godine u Zagrebu. Pohađao sam osnovnu školu „Bogumil Toni“ u Samoboru te sam se 2008. godine upisao u opću gimnaziju Antuna Gustava Matoša, također u Samoboru. 2012. godine upisujem Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. Student sam III. godine preddiplomskog studija Kemijsko inženjerstvo. 2015. godine odradio sam stručnu praksu u tvrtki „Noraplast d.o.o.“ u Banja Luci.